

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜMBÜL BİTKİSİNİN (*Hyacinthus orientalis* L.) *IN VITRO*
MİKROÇOĞALTIMI

Uğur SESİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİMDALI

DİYARBAKIR
HAZİRAN 2014

T.C.
DİCLE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Uğur SESİZ tarafından yapılan “SÜMBÜL BİTKİSİNİN (*HYACINTHUS ORIENTALIS* L.) *IN VITRO* MİKROÇOĞALTIMI” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Jüri Üyesinin</u>	<u>Unvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Başkan:	Prof. Dr.	Süleyman KIZIL (Danışman)	
Üye :	Doç. Dr.	Özlem TONÇER	
Üye :	Doç. Dr.	Hakan YILDIRIM	

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 30 / 06 / 2014

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2014

Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

**BU TEZ, TÜBİTAK (110 O 703 NOLU PROJE) VE DİCLE ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNATÖRLÜĞÜ (DÜBAP-13-
ZF-86 NOLU PROJE) TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR**

TEŐEKKÖR

Yüksek Lisans tez konunun belirlenmesi, laboratuvar olanaklarının sağlanması, çalışma materyalinin temini, çalışmanın yürütülmesi ve yazılması aşamasında her türlü katkılarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman KIZIL'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Tez çalışmam esnasında desteklerini gördüğüm Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyelerinden hocam Sayın Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR'a teşekkür ederim.

Ayrıca, hayatımın ve eğitimimin her aşamasında desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Uğur SESİZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VII
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
KISALTMA VE SİMGELER.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dünya Çiçek Soğanı Üretimi.....	3
1.2. Hollanda'da Sümbül Üretiminin Tarihçesi.....	5
1.3. Soğanlı Bitkilerin Üretim Yöntemleri	7
1.3.1. Generatif Üretim.....	7
1.3.2. Vejetatif Üretim.....	7
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
3. MATERYAL ve METOT.....	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. <i>Hyacinthus orientalis</i> Bitkisinin Taksonomideki yeri.....	15
3.2. Metot.....	17
3.2.1. Eksplantların Ön Hazırlığı ve Sterilizasyonu.....	17
3.2.2. Çalışmada Kullanılan Eksplantlar.....	18
3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Ortamlar.....	18
3.2.4. Kültür Koşulları.....	20
3.2.5. <i>In vitro</i> Çalışmalar.....	20
3.2.5.1 Bitki Rejenerasyonu.....	20
3.2.5.2. Köklendirme Ortamı.....	22
3.3. İstatistik Değerlendirme.....	22
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	23
4.1. Bulgular.....	23
4.2. Tartışma.....	32
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	35
6. KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	39

ÖZET

SÜMBÜL BİTKİSİNİN (*HYACINTHUS ORIENTALIS* L.) *IN VITRO* MİKROÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Uğur SESİZ

DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

2014

Hyacinthus bitkisi oldukça önemli bir süs bitkisi olup, beyaz, sarı, pembe, kırmızı ve mor, değişik renklere sahip yaklaşık 2000 türü ticari olarak yetiştirilmektedir. Türkiye’de doğal yayılış gösteren bitkinin açık alanda tarımı yapılmamaktadır. Bu çalışma ile Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Adıyaman ve Malatya il sınırları arasında bulunan *Hyacinthus orientalis* bitkisi toplanarak Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesinde kültüre alınmıştır. Çalışmada bitkiye ait olgunlaşmamış embriyolar çiçeklenmeden yaklaşık 8-11 gün sonra alınmış ve farklı konsantrasyonlarda TDZ, TDZ + NAA, KIN ve KIN + NAA içeren MS ortamlarında kültüre alınmışlardır. Buradan çimlenen embriyolardan alınan basal yapraklar farklı konsantrasyonlarda benzylaminopurine (BAP) ve 0.1 mg/L naphtaleneacetic asit (NAA) 30 g/L şeker içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır. Sümbül basal (adaksial) yapraklarından kallus ve soğancık oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen soğancıklarda yaprak uzunluğu ve çap artışı sağlamak için önce modifiye MS ortamına, daha sonra 20 mg/L GA₃ ve 50 g/L şeker içeren MS ortamına alınmışlardır. *Hyacinthus orientalis* bitkisi soğanlarında soğan çap artışı sağlanmış ve köklendirme ortamına alınmışlardır.

Anahtar Kelimeler: *Hyacinthus orientalis* L., mikro çoğaltım, olgunlaşmamış embriyo, yaprak, soğancık

ABSTRACT

IN VITRO MICROPROPAGATION OF *HYACINTHUS ORIENTALIS* L.

MSc THESIS

Uğur SESİZ

DEPARTMENT OF FIELD CROPS
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DICLE UNIVERSITY

2014

Hyacinthus plant is an important ornamental plant, that bear white, yellow, pink, red and purple colored flowers and has about 2000 species around the world that are grown commercially. Although, plant occurs naturally in Turkey yet its open field cultivation is not performed. This study reports culture of *Hyacinthus orientalis* collected from the provinces of Adiyaman and Malatya in Southeastern Anatolia Region at Ornamental Garden Collection of Faculty of Agriculture, Dicle University, Diyarbakır. Besides this immature embryos were collected 8-11 days after anthesis and cultured on MS medium containing different concentrations of TDZ, TDZ + NAA, KIN, KIN + NAA. The leaves were obtained from the germinating embryos and cultured on MS medium containing different concentrations of Benzylaminopurine (BAP) + 0.1 mg/L naphthaleneacetic acid (NAA) supplemented with 30 g/L sucrose. Callus induction followed by bulb formation was noted on basal leaves of Hyacinthus. The bulblets were cultured on modified MS medium containing 20 mg/L GA₃ and MS + 50 g/L sucrose to increase bulb diameter. A significant increase in bulb diameter was noted on *Hyacinthus orientalis* bulbs, they were taken to incubator for rooting.

Key words: *Hyacinthus orientalis* L., micro-propagation, un-matured embryo, leaf, bulblet

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	Dünya çiçek soğanı üretiminin ülkelere göre dağılımı.....	4
Çizelge 1.2.	Hollanda’da üretimi yapılan soğanlı bitkiler ve üretim alanları.....	5
Çizelge 1.3.	Hollanda’da üretimi yapılarak diğer ülkelere ihraç edilen çiçek soğanlarının parasal değeri.....	5
Çizelge 3.1.	MS (Murashige ve Skoog 1962) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları.....	19
Çizelge 3.2.	Kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve stok çözelti konsantrasyonları.....	19
Çizelge 3.3.	Sümbül bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarının 20 ve 40 g/L şeker içeren MS besin ortamında farklı oranlarda TDZ ve NAA içeren deneme.....	20
Çizelge 3.4.	Sümbül bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarının 20 ve 40 g/L şeker içeren MS besin ortamında farklı oranlarda BAP ve NAA içeren deneme	20
Çizelge 3.5.	Sümbül bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarının 20 ve 40 g/L şeker içeren MS besin ortamında farklı oranlarda TDZ ve NAA içeren deneme.....	21
Çizelge 3.6.	Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.10 mg/L NAA içeren MS ortamında <i>Hyacinthus orientalis in vitro</i> yaprakları ile kurulan denemede kullanılan BBD’ler.....	21
Çizelge 4.1.	20 g/L Şeker konsantrasyonu ve TDZ ile 0.20 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında <i>Hyacinthus orientalis</i> olgunlaşmamış embriyolarının çimlenme oranlarına ait varyans analiz sonuçları.....	24
Çizelge 4.2.	40 g/L Şeker konsantrasyonu ve TDZ ile 0.20 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında <i>Hyacinthus orientalis</i> olgunlaşmamış embriyolarının çimlenme oranlarına ait varyans analiz sonuçları.....	24
Çizelge 4.3.	Farklı Şeker konsantrasyonları ve TDZ ve 0.20 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında <i>H. orientalis</i> olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen çimlenme oranı ve çimlenen embriyo sayısı ortalama değerleri.....	24
Çizelge 4.4.	Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.10 mg/L NAA içeren MS ortamında <i>Hyacinthus orientalis in vitro</i> yapraklarından elde edilen yaprak sayısı, yavru soğan sayısı ve kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	25
Çizelge 4.5.	Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.1 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında <i>H. orientalis</i> olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen kallus oranı, eksplant başına yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı ortalama değerleri.....	26
Çizelge 4.6.	<i>In vitro</i> ’da geliştirilen soğancıklarda çap artışı sağlamak amacıyla soğanların modifiye MS + 2 mg/L aktif kömür ve amoklavlin içeren	

	ortamda soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	27
Çizelge 4.7.	<i>In vitro</i> 'da geliştirilen soğancıkların modifiye MS + 2 mg/L aktif kömür ve amoklavın içeren ortamdan elde edilen soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısına ait ortalama değerler.....	28
Çizelge 4.8.	<i>Hyacinthus orientalis</i> soğancıklarının farklı BAP ve 0.1 NAA içeren MS ortamından 20 mg/L GA ₃ ortamına aktarılmadan önce soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları	28
Çizelge 4.9.	<i>Hyacinthus orientalis</i> soğancıklarının farklı BAP ve 0.1 NAA içeren MS ortamından 20 mg/L GA ₃ ortamına aktarıldıktan 15 gün sonra soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları	28
Çizelge 4.10.	<i>Hyacinthus orientalis</i> soğancıklarının farklı BAP ve 0.1 NAA içeren MS ortamından 20 mg/L GA ₃ ortamına aktarılmadan önce ve 15 gün sonra ölçülen soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait ortalama değerler	29
Çizelge 4.11.	<i>Hyacinthus orientalis</i> soğancıklarının çap artışı sağlamak için MS + 50 şeker içeren ortama alınmadan önce soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları	30
Çizelge 1.12.	<i>Hyacinthus orientalis</i> soğancıklarının çap artışı sağlamak için MS + 50 şeker içeren ortamda 15 gün bekletildikten sonra soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları	30
Çizelge 1.13.	<i>Hyacinthus orientalis</i> soğancıklarının çap artışı sağlamak için MS + 50 şeker içeren ortama aktarılmadan önce ve 15 gün sonra soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait ortalama değerler.....	30

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1. Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesi'nde yetiştirilen <i>Hyacinthus orientalis</i> bitkisinin çiçeklenme başlangıcı ve tam çiçeklenme döneminden görünümü.....	16
Şekil 3.2. Sümbül bitkisinin Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yayılış gösterdiği alanlar.....	16
Şekil 3.3 Sümbül bitkisinin yayılış gösterdiği Adıyaman-Malatya il sınırları arasında kalan Ulubaba Dağından bir görünüm.....	17
Şekil 3.4 <i>In vitro</i> çalışmaların yapıldığı steril kabin, bitki büyütme dolabı ve hazırlık odasının görünümü.....	18
Şekil 3.5 <i>Hyacinthus orientalis</i> bitkisinin çiçeklenmeden 25 gün sonra alınmış meyve örnekleri.....	18
Şekil 3.6. <i>H. orientalis</i> olgunlaşmamış embriyolarında kültür ortamında meydana gelen kronik bulaşıklık.....	21
Şekil 4.1. <i>H. orientalis</i> olgunlaşmamış embriyolarında çimlenme, soğancık ve kallus oluşumu.....	23
Şekil 4.2. <i>H. orientalis</i> 'in <i>in vitro</i> 'da geliştirilen yapraklarından rejenerasyon.....	26
Şekil 4.3. <i>H. orientalis</i> 'in <i>in vitro</i> 'da geliştirilen yaprakların adaksial kısımlarından alınan eksplantlardan soğancık oluşumu.....	27
Şekil 4.4. <i>In vitro</i> 'da geliştirilen yaprak eksplantlarından oluşan soğanların IBA içeren ortamda antosiyanin oluşumu ve köklenmelerinden bir görünüm.....	31
Şekil 4.5. <i>In vitro</i> 'da geliştirilen soğanların köklenmeleri ve saksılara aktarılmalarından bir görünüm	31

KISALTMA VE SİMGELER

2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksi asetik asit
ABA	: Absisik Asit
BAP	: 6-Benzilaminopurin
BBD	: Bitki büyüme düzenleyicileri
cm	: Santimetre
g/L	: Gram/litre
IAA	: İndolasetik Asit
IBA	: İndolbütirik Asit
MS	: Murashige and Skoog temel besin ortamı
NO ₃	: Nitrat
NH ₄	: Amonyum
NAA	: α-Naftalen asetik asit
mg/L	: miligram/litre
mm	: Milimetre
PGR	: Plant Growth Regulators
TDZ	: Thidiazuron
°C	: Santigrat derece (Celcius)
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromol

1. GİRİŞ

Türkiye gerek farklı iklimlere sahip olması ve gerekse üç floristik bölgenin kesişme noktasında bulunması sebebiyle bitki türlerinin çokluğu bakımından dünyanın zengin ülkelerinden biridir.

Çiçek soğanı; besin maddelerini depolayan etli pullara sahip toprakaltı depo organıdır. Soğanlı bitkilere en iyi örnek lale, sümbül, süsen, zambak ve nergis dir. Diğer geofit olarak bilinen bitkiler farklı depolama organlarına sahiptirler. *Glayöl*, *Crocus* (kormus), *Dahlia* (yumru) ve *Iris*'ler (rizom) bu gruba örnek olarak verilebilir (Kızıl 2005).

Geofitlerin birçoğu 23° Kuzey ve 45°Güney enlemleri arasında yer almaktadır. Dünyadaki toplam geofit sayısı yaklaşık4300 civarındadır. Yayılış zenginliği bakımından Afrika kıtası, Akdeniz iklimine sahip ülkeler, ABD kıtası ve Avustralya önemli potansiyele sahiptir. Türkiye fitocoğrafyası da geofitler yönünden oldukça zengindir (Özhatay ve ark. 1997, Dallman 1998).

Soğanlı bitkiler esas olarak kesme çiçek, saksı bitkisi ve peyzaj düzenleme amacıyla yetiştirilmektedir. Bu bitkilerden birçoğu kolaylıkla yetiştirilmekte, çok yıllık karakterler göstermekte ve tüketiciler tarafından beğenilmektedir. Dünya çiçek soğanı üretiminin analizi yapıldığında 6 cinsin (*Gladiolus*, *Hyacinthus*, *Iris*, *Lilium*, *Narcissus* ve *Tulipa*) üretimin % 90'ını karşıladığı görülmektedir (Çizelge 1.1). Önemli soğanlı bitki türlerinden *Hyacinthus*, *Narcissus* ve *Iris* türleri parfümeri ve kozmetik sanayisinde, *Crosus* türleri ise doğal boyadan ilaç, gıda ve birçok alanda kullanılmaktadırlar (De Hertogh ve Le Nard 1993, Gümüşsuyu 2002).

Türkiye'den süs bitkisi olarak yurtdışına gönderilen soğan ve yumruların % 90'lık kısmı doğadan sökülme, geriye kalan % 10'luk kısmı ise kültürü yapılan türlerden oluşmaktadır. Aşırı toplamalar sonucunda da ülkemiz geofitleri yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmaktadır (Ekim ve ark.1991, Ildır 1993).

Türkiye'de üretimi yapılan soğanlı bitkiler ihracatı büyük çoğunlukla Hollanda başta olmak üzere Almanya, İngiltere ve diğer gelişmiş Avrupa ülkelerine yapılmaktadır. Bu ticaretten yaklaşık 2.5 milyon dolar döviz elde edilmektedir. Ülkemiz çiçek soğanı ihracatı yapan ülkeler arasında ilk sırada yer almaktadır. Ancak ekonomiye sağlanan bu katkı üretim yerine daha çok doğadan sökümüyle gerçekleştirilmektedir.

1. GİRİŞ

Bu da doğanın ve biyolojik zenginliğimizin geleceği açısından büyük bir risk oluşturmaktadır (Karagüzel ve ark. 2007).

Çiçek soğanları kesme çiçek endüstrisinde önemli bir paya sahiptir. Üretimin piyasanın isteklerine göre belirli dönemlerde yapılması dikim öncesi soğanların belli işlemlerden (forcing) geçmesine bağlıdır. Forcing, bitkinin doğal yetiştirme koşullarının yapay olarak bitkilere sağlanması olayıdır. Forcing çalışmasının ticari ölçekte uygulandığı soğanlı bitkilere örnek olarak *Tulipa* (lale), *Lilium* (zambak), *Gladiolus* (glayöl), *Fressia* (arpa zambağı), *Hyacinthus* (sümbül), *Narcissus* (nergis), *Iris* (süsen) ve *Anemone* (Manisa lalesi) verilebilir (Karagüzel ve Baktır 2001). Forcing uygulamalarının gelişmesi ile birlikte ülkemizde soğanlı bitki üretimi ve buna bağlı olarak kesme çiçek üretiminin yaygınlaşacağı öngörülmektedir.

Sümbül bitkisi *Hyacinthaceae* familyasının *Hyacinthus* cinsine ait olup baharda çiçek açan soğanlı bir süs bitkisidir. Bitki, Batı ve Orta Asya'da, Doğu Akdeniz, Anadolu, Suriye, İran ve Irak'ta doğal yayılış göstermektedir (Addai 2011).

Antik Yunanda ölümlü gençleri takip eden, onları izlemekten zevk alan muhtemelen Kral Amyclas ve Diomedede'nin oğlu olan Apollo çok güzel bir Spartalı prenses olan Hyacinthus'a âşık olur. Zephros veya Boreas, rüzgâr tanrılarının biri, Apollo ve Hyacinthus disk oynarken onları kıskanır, Apollo diski fırlatırken kıskanç rüzgar tanrısı diskin Hyacinthus'un başına değmesine neden olur. Hyacinthus ölür, ancak onun kanının aktığı yerden bir çiçek çıkar ve onun adına atfen çiçeğe "Hyacinthus" adı verilir (<http://ancienthistory.about.com/od/apollomyth/ig/Apollo/Apollo-by-Raphael.htm>).

Sümbül bitkisinin diploid formları 16 kromozomlu olup, triploid ve büyük çoğunluğu heteroploid olan türleri mevcuttur. Çiçekler hermafrodit yapıda ve güçlü kendine özgü bir kokuya sahiptir. Çiçekler genellikle arılar tarafından tozlanır. Sümbül bitkisi soğanlı bir süs bitkisi olup estetik amaçlarla kullanılır, bununla birlikte uçucu yağı parfüm endüstrisinde kullanılır. Bitkinin 6000 çiçeğinden 1 kg uçucu yağ elde edilmektedir. Bitkiden ayrıca mavi boya üretilmektedir (Addai 2011). Bitkinin soğan ve yeşil aksamı zehirlidir. Zehirli etkisi "lycorine" alkaloidinden kaynaklanmaktadır (<http://www.pfaf.org/database/plants.php?Hyacinthus+orientalis>).

Soğanlı bitkilerin üretiminde Hollanda önemli bir yere sahiptir. Aşağıda dünya ve model üretici ülke olan Hollanda çiçek soğanlarının genel durumu ve sümbül bitkisinin tarihsel gelişimi hakkında kısa bir tarihçe verilmiştir.

1.1. Dünya Çiçek Soğanı Üretimi

Toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi organları bulunan ve bunlarda çeşitli maddeleri depo eden, aynı zamanda güzel ve gösterişli çiçekleri olan otsu bitkiler olarak tanımlanabilecek geofitler; gerek içerdikleri kimyasal bileşikler, gerekse gösterişli çiçekleri nedeniyle yüzyıllardan beri doğada yetiştikleri yerlerden sökülerek iç ve dış piyasaya sunulmaktadır. Özellikle ihracat yoluyla yıllar içerisinde artan talebi karşılama için yapılan sökümler, bu değerli bitki türlerinin doğadaki stoklarını azaltmış ve birçoğunda neslinin tehlike altına girmesine neden olmuştur. Doğal çiçek soğanlarının sökümü, bu nedenle yasalarla kontrol altına alınmış, birçok türde ihracat yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır. Dünya genelinde soğanlı bitki ticaretinin parasal karşılığı yaklaşık 1 milyar dolar'dır. Dünya soğanlı bitkilerinin önemli üreticilerinden olan Hollanda'da hektar başına üretim maliyeti 29.491 milyon iken ihracat geliri 34.048 milyon dolar'dır. Toplamda Hollanda'nın ihracattan elde ettiği gelir 756 milyon dolar'dır. *Tulipa* türleri soğanlı bitki üretiminin yapıldığı 15 ülkede üretilmekle birlikte Hollanda'da 10.800 ha'lık alanda toplam *Tulipa* üretiminin %88'i yapılmaktadır. Toplamda üretilen 4.3 milyar adet *Tulipa* soğanının 2.3 milyar adedi kesme çiçekçilikte kullanılmaktadır. *Tulipa* soğanı üretimi Japonya, Fransa, Polonya, Almanya ve Yeni Zelanda'da gerçekleştirilmektedir (Benschop ve ark. 2010).

Zambak üretimi dünya genelinde yaklaşık 10 ülkede yapılmakta olup, en önemli üreticileri Hollanda (4280 ha), üretimin % 77'sini, onu Fransa (401 ha), Şili (205 ha), ABD (200 ha), Japonya (189 ha) ve Yeniz Zelanda (110 ha) izlemektedir (Benschop ve ark. 2010).

Çizelge 1.1'de görüldüğü gibi yaklaşık 43 bin hektar olan toplam üretim alanının % 50'den fazlası Hollanda'ya aittir. Genel olarak Dünya soğanlı bitki üretimi belirli türler ile sınırlıdır. Bu türlerin en önemlileri *Tulipa*, *Lilium*, *Narcissus*, *Iris*, *Hyacinthus* ve *Gladiolus* olup bunlar dışında *Fresya*, *Begonya*, *Crocus*, *Hippeastrum* ve *Ranunculus* gibi türlerde çiçek soğanı piyasası içinde önemli bir yere sahiptir (Benschop ve ark. 2010).

1. GİRİŞ

Çizelge 1.1. Dünya çiçek soğanı üretiminin ülkelere göre dağılımı

Ülke	Üretim alanı (Ha)	Soğanlar
Hollanda	22.987	Lale, Liliium, Diğer Birçok Çeşit
Birleşik Krallık	4.700	Nergis, Lale, Glayöl
ABD	3.600	Nergis, Lale, Glayöl, Liliium, Iris
Çin	2.000	Liliium, Nergis, Lale
Fransa	1.370	Liliium, Lale, Iris, Glayöl, Dahlia, Nergis
Japonya	1.80	Liliium, Lale, Glayöl
Polonya	800	Lale, Liliium, Nergis, Glayöl, Dahlia
Tayvan	600	Liliium, Glayöl
İsrail	450	Nergis, Ranunculus
Şili	375	Liliium, Lale
Yeni Zelanda	350	Lale, Liliium, Zantecheschia (Kala), Iris, Fresya
Avustralya	300	Lale, Liliium
Brezilya	200	Glayöl, Hippeastrum
Güney Afrika	200	Hippeastrum, Nerine, Liliium, Lale
Belçika	200	Begonya, Liliium
Almanya	190	Lale, Glayöl, Nergis, Crocus
Diğer Ülkeler	3.598	
TOPLAM	43.000	

Kaynak: (Benschop ve ark. 2010)

Çizelge 2’de görüldüğü gibi Hollanda’da üretim daha ziyade dünya çiçek soğanı talebine bağlı olarak değişmektedir. Bazı türlere olan talep artışı beraberinde üretim alanının artmasını, aksi durum azalmasına neden olmaktadır. Hollanda dünyanın en önemli lale soğanı üreticisi olup yaklaşık 10 bin hektarlık bir alana sahiptir. Çiçek soğanlarının tüketiminde gelişmiş ülkeler önemli bir yere sahiptir. Hollanda’da üretilen soğanların önemli bir kısmı ABD, Japonya, Almanya, İngiltere, İtalya ve Fransa gibi ülkelere ihraç edilmektedir. İhraç edilen ürünler içerisinde forcing (ön işlemlere tabi tutulmuş) materyal oranı yaklaşık %50’lik bir paya sahiptir (Çizelge 1.3).

Çizelge1.2. Hollanda’da üretimi yapılan soğanlı bitkiler ve üretim alanları (Benschop ve ark.2010)

Tür	Hektar		
	2003–2004	2004–2005	2007–2008
Lale	10.982	10.034	9.885
Zambak	3.212	3.275	3.699
Nergis	1.796	1.721	1.687
Glayöl	1.151	1.060	1.019
Sümbül	1.121	1.140	854
Safran	668	566	463
Iris	481	464	463
Toplam	19.411	18.260	17.967

Çizelge1.3. Hollanda’da üretimi yapılarak diğer ülkelere ihraç edilen çiçek soğanlarının parasal değeri (Benschop ve ark. 2010)

Ülke	(milyon USD)			Oran (peyzaj:forcing)
	1996–1997	1999–2000	2005–2006	
Amerika	115	147	179	2:1
Japonya	114	102	102	1:3
Almanya	95	90	104	2:1
İngiltere	51	65	97	3:1
İtalya	53	61	56	1:4
Fransa	55	56	65	2:1
İsveç	24	24	28	1:2
Kanada	15	20	29	1:1

1.2. Hollanda’da Sümbül Üretiminin Tarihçesi

Hollanda, 19 ve 20. yüzyıllar boyunca dünya soğan ticaretini domine etmiştir. Yirminci yüzyılın sonunda dünya ticaretinin % 92’sini kontrol etmekte iken günümüzde, bu durum çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmiştir. Bunlar; (1) soğan üretiminin nüfus ve konut alanlarının artışına bağlı olarak azalması, (2) yeni üretim alanlara ihtiyaç duyulması, (3) üretim maliyetlerinin yüksek olması, işçilik, üretici ve ihracatçıların işbirliği, (4)diğer ülkelerde yüksek kaliteli üretim yapılması (Benschop ve ark. 2010).

Hyacinthus bitkisi ticari çeşitlerinin sadece bir türü köken almasından dolayı diğer önemli soğanlı bitkilerden farklılık göstermektedir. Bitki ilk kez 1562 yılında L’Obel tarafından tanımlanmış, 1581 yılında da“Roman Hyacinth” olarak adlandırılan (*Hyacinthus orientalis* var. *albulus*) başka bir tür kayıt edilmiştir. Daha sonra bitkinin

1. GİRİŞ

mavi, beyaz ve pembe çiçekli yeni çeşitleri tanımlanmış, 1612 yılında da katmerli çiçeklere sahip yeni tipler geliştirilmiş ve bu tipler 19. yy'ın ortalarında popüler olmuştur (Benschop ve ark. 2010).

Bitkinin ıslahı 18. yy başlarında varlıklı amatör ıslahçılar tarafından başlatılmıştır. Pembe ve kırmızı çiçekli tipler 1709, sarıçiçekli tipler 1760 yılında geliştirilmiştir. Bununla birlikte, ıslahçılar çok sayıda çeşit geliştirmişlerdir. Üretimin zirvede olduğu bu dönemde 2000'in üzerinde çeşit geliştirilmiştir.

19. yy'ın ikinci yarısında çeşit sayısında azalma olmakla birlikte, Hollanda'da ıslah çalışmaları devam etmiştir. Örneğin 'L'Innocence' (1863), 'City of Harlem' (1893) ve 'Pink Peal' (1922) çeşitleri Hollanda'da ticari olarak üretilmiştir.

1920 yılından sonra, Nicolaas Dames Hollanda'da soğanların forcing yöntemi ile Aralık ayında çıkış yapabileceğini gösterince, ıslah amaçları ve sümbül kullanımı önemli ölçüde değişmiştir. Bu nedenle forcing yöntemi üzerinde odaklanıldı. Islah için sadece bir tür kullanılabilmesine karşın, birçok türde hala yeni tipler ıslah edilmektedir. Bu durum, sitolojik çalışmalar *Hyacinthus*'a özgü bazı ayrıcalıklar ortaya koymakta ve bu tiplerin birçoğu heteroploiddir. "Roman Sümbül Tipleri" kullanarak üretilen birkaç çiçek saplı soğanlar elde edilmiştir.

Sümbül ıslahı günümüzde, sitolojik çalışmalar ve sarı hastalığına dayanıklılık (*Xanthomonas hyacinthi*) dışında, büyük ölçüde özel şirketler tarafından yapılmaktadır. *Hyacinthus* ıslahında çiçek rengi, özellikle sarı, önemli bir ıslah amacıdır. Sarı renkli çeşitler düşük canlılık ve hastalıklara karşı hassas olmakla birlikte yüksek soğan üretimden dolayı tercih edilmektedir (Benschop ve ark. 2010).

1.3. Soğanlı Bitkilerin Üretim Yöntemleri

Geofitler, generatif ve vejetatif yöntemle üretilmektedirler. Geniş çapta üretim için daha çok vejetatif üretim teknikleri kullanılmaktadır.

1.3.1. Generatif Üretim

Tohum ile üretim tekniğidir. Tohumla üretimde tohumların olgunlaşma zamanları, çimlenme süreleri, çimlenme oranları, çimlenme için gereken sıcaklıklar iyi bilinmelidir. *Allium*, *Begonia*, *Chionodoxa*, *Cyclamen*, *Eranthis*, *Freesia*, *Fritillaria*, *Liatriis*, *Muscari*, *Sparaxis*, *Tigrida* ve *Ranunculus*'lar tohumla üretimi yaygın olan cinslerdir. Çimlenme için gereken optimum sıcaklıklar cinslere göre değişmektedir (Seyidoğlu 2009).

Tohumla üretimde çok sayıda bitki elde edilebilmektedir, fakat elde edilen bitkilerin açılma göstermesi, bazı türlerin yeterince tohum oluşturamaması ve tohum ekiminden çiçek oluşturacak büyüklükte bir soğan elde etmek için geçen sürenin uzun olması (5-7 yıl) gibi olumsuzluklar meydana gelmektedir.

Tohum ekiminden çiçek açma büyüklüğünde soğan elde edilmesi için geçen süre türlere göre değişmektedir. Yapılan bazı araştırmalara göre optimum koşullarda bu süre, *Allium*'lar için 2, *Eranthis*'ler için 4, *Fritillaria*'lar için 4-5, *Galanthus*'lar için 4-5, *Lilium*'lar için 2-4, *Ornithogalum*'lar için 3 ve *Leucojum*'lar için 2-4 yıl olduğu tespit bildirilmektedir (Seyidoğlu 2009).

1.3.2. Vejetatif Üretim

Geofitler çoğunlukla vejetatif olarak üretilmektedirler. Generatif üretimde, bazı türlerin tohum oluşturma kapasitelerinin az olması, tohum ekiminden çiçek oluşturacak büyüklükte bir soğan elde etmek için geçen sürenin uzun olması gibi nedenlerden dolayı vejetatif üretim yöntemleri daha çok tercih edilmektedir. Vejetatif üretim yöntemlerini yedi grup altında toplanmaktadır.

Bunlar;

- Yavru soğanlar ile üretim
- Yumru, rizom ve soğanımsı yumruların bölünmesiyle üretim,
- Koltukaltı yavru soğanlar ile üretim
- Soğan pulları ile üretim
- Parçacık ve ikiz pul ile üretim

1. GİRİŞ

- Soğan tabanın kesilmesi ile üretim ve
- Doku kültürü ile üretim teknikleridir.

Vejetatif üretim yöntemleri içinde doku kültürü yöntemleri ile kısa sürede fazla sayıda materyal üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Bitki doku kültürü kısaca; kontrol edilebilen ışık ve sıcaklık koşulları altında kültür kapları içerisinde, yapay besin ortamında bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları=eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesi olarak tanımlanabilmektedir (Babaoğlu ve ark. 2002, Seyidoğlu 2009). Bununla birlikte, her bir tür için standart protokollerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sümbül bitkisi Güneydoğu Anadolu Bölgesinde doğal yayılış göstermektedir. Yayılış gösterdiği yerlerde yapılan sörvey çalışmalarında doğadan bilinçsizce (!) toplandığı ve yayılış alanının gittikçe daraldığı gözlenmiştir. Doğal yayılış alanında bitkinin çoğalması için uzun bir süreye ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle doku kültürü gibi alternatif üretim yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu tez çalışması ile sümbül olgunlaşmamış embriyolarından rejenerasyon yolu ile soğan/soğancık üretimi planlanmıştır. Bu amaçla;

- Olgunlaşmamış embriyoların rejenerasyon yeteneğinin belirlenmesi,
- *In vitro*'da geliştirilen yaprak eksplantlarından rejenerasyon,
- *In vitro*'da geliştirilen yapraklardan rejenerasyon ile soğancık elde edilmesi,
- Elde edilen soğancıkların büyütülmesi,
- Soğanların köklendirilmesi ve dış ortama aktarılması hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Soğanlı bitkiler günümüzde oldukça popüler bir tarımsal üretim alanıdır. Bu bitkilerin tohumdan çiçekli bir bitki soğanı oluşturması için yaklaşık 5-6 yıllık bir süreye gereksinim duyulmaktadır. Çok yönlü kullanım alanına sahip bu bitkiler ile ilgili olarak *in vitro* çoğaltım teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Sümbül bitkisi de günümüzde uluslar arası ticarete önemli bir yere sahiptir. Sümbül ile ilgili yapılmış *in vitro* ve agronomik çalışmalar ile ilgili güncel ve tez konusu ile ilgili olanlar kronolojik olarak aşağıda verilmiştir.

Pierik ve Woets (1971), Sümbül soğan pul yapraklarının rejenerasyon yeteneği standart büyüme koşullarında belirlenmiştir. Soğancık rejenerasyonu besin ortamına eksplantların baş aşağı yerleştirilmesi ile teşvik edilmiş ve eksplant uzunluğunda artış görülmüştür. Soğancık rejenerasyonu makro-element ve glikoz oranından önemli ölçüde etkilenmiştir. En uygun sıcaklık 13-17 °C olarak belirlenmiş, karanlıkla kıyaslandığında sürekli ışıklı ortamın rejenerasyonu olumsuz etkilediği belirlenmiştir. IAA soğancık rejenerasyonunu teşvik ederken kinetin az da olsa düşmesine neden olmaktadır. GA₃'in rejenerasyonu düşürdüğünü bildirmektedirler.

Hussey (1975) *In vitro* çoğaltım ile geleneksel üretim yöntemini tartıştığı çalışmada; sümbül bitkisinin steril birçok kısmından alınan dokulardan *in vitro* rejenerasyon yapılabildiğini bildirmektedir. Soğan pul yaprakları ve basal dokular için besin ortamına herhangi bir BBD ilavesi olmadan, ancak yaprak, gövde ve yumurtalık gibi dokuların düşük konsantrasyonlarda oksin (Indole-3-acetic acid-IAA) ve naphtaleneacetic acid (NAA) gibi BBD'lerine olumlu cevap verdiğini belirlemiştir. Araştırmacı, yüksek NAA konsantrasyonunda rejenere olan bitkilerin kallus oluşturduğunu, *in vitro* elde edilen bitkiciklerin ikiye ayrılabilirdiği ve her birinin alt kültürlerde yeni bir bitki oluşturduğunu ve bu işlemin 8-12 haftalık aralıklarla tekrarlanabildiğini bildirmiştir.

Pierik and Post (1975), *Hyacinthus* bitkisinde soğancık üretimi için basit bir *in vitro* yöntem geliştirmişlerdir. *Hyacinthus* bitkisinin soğan pul yapraklarını kullanarak yaptıkları rejenerasyonda; 12 hafta içinde 17-18 cm soğan çevre genişliğine sahip bir adet soğandan taban (basal) kısmı içeren 3-4 cm uzunluğunda ve 0.5 cm genişliğinde pul yapraklarından 240-300 adet soğancık elde ettiklerini bildirmektedirler.

Bach (1990), Sümbül bitkisinin “Delft Blue” ve “Carnegie” çeşitleri ile yaptığı denemelerde kültür ortamı, eksplant tipi, büyüme düzenleyicileri, sıcaklık, fotoperiyot ve besin elementlerinin büyüme ve gelişme üzerine etkisini incelemiştir. En yüksek çoğalma oranı sırası ile yaprak tabanından alınan eksplantlardan, adventif sürgünler ve soğancıklar elde edilmiştir. Araştırmacılar GA₃'in sürgün ve yaprak oluşumunu engellediğini, ancak genç yaprakların uzamasını olumlu bir şekilde uyardığını belirtmektedirler. GA₃ ve değişik konsantrasyonlarda oksin ve sitokinlerin soğan oluşumu üzerine etkisinin olmadığını, paclobutrazol'un soğan oluşumunu teşvik ettiğini bildirmektedir. Soğan oluşumu 4°C'de 8 hafta geliştikten sonra 23°C'lik ortama transfer edilmişlerdir. Soğan büyüklüğü ve olgunlaşma düşük sıcaklık ve %6 şeker oranı ile pozitif bir şekilde uyumlu olduğu gözlenmiş, gün uzunluğunun soğan gelişimi üzerine etkisi olmazken 16/8 fotoperiyotun eksplant morfogenezini hızlandırdığı belirtilmektedir. Besin elementlerinin ortamdaki alınması NH₄ ve NO₃ alınmasına bağlı olarak büyümede oransal olarak artmakta, pH değişimi N alınmasına bağlı olarak değişmekte, eksplantın mineral içeriği farklı sıcaklıklarda değişmektedir. P, K, Ca ve Mg değerleri sümbül fidelerindeki oranlara yakın, ancak Mn ve Zn miktarları *in vitro* ortamda artmaktadır.

Gude (1992), *Hyacinthus* türünün çoğaltılmasındaki ana problemin genç soğanların dikimden sonra dormant durumda kalmasından kaynaklandığını, araştırmacı dikimden sonra ışık kalitesi ve düşük sıcaklığın dormant olmayan soğanların sayısında bir artış olup olmadığını araştırdığı çalışmada; ışık uygulamasının yeni oluşan soğan sayısını etkilemediğini ancak yeni soğancıkların oluşmasını etkilediğini belirlemiştir. Ayrıca, ışık uygulamasının dormant olan genç soğanların yaprak sayılarını olumsuz etkilediğini, yaprak sayısı üzerine ışık uygulamasının doğal üretim ortamında pozitif etkisinin gözlemlendiğini belirlemiştir. Bununla birlikte, soğan büyüklüğünde % 30-45'lik artışın ışık uygulanmasından kaynaklandığını bildirmiştir.

De Hertogh ve Le Nard (1993), *Hyacinthus*'da çoğaltmada soğan çevre genişliğinin 15 cm'den büyük olması gerektiğini, ticari olarak sümbül bitkisinin merkez çıkarma ve çapraz kesim yöntemleriyle çoğaltıldığını, ayrıca bitkinin yaprak çeliği ve soğan pulları ile de çoğaltılabildiğini bildirmektedir. Araştırmacılar, bitkide ıslah çalışmalarında *Xanthomanas hyacinthi*'ye dayanıklılığın dikkate alınması ve erken

çiçeklenen türlerin hastalıklara toleransının geç çiçeklenenlere göre daha az olduğunu bildirmektedirler.

Karagüzel ve Baktır (2001), Sümbüllerden daha çok saksı ve bahçe bitkisi olarak faydalandığını, arzu edilirse çiçekler kesilerek buketlerde de kullanıldığını ve forcing uygulamaları ile özel günlere yönelik üretim yapılabileceğini bildirmektedirler. Araştırmacılar erken (yılbaşı) ve geç dönemlerde (sevgililer günü) özel günlere uygun olacak şekilde forcing uygulamaları ile üretim yapıldığını bildirmektedirler. Sümbül bitkisine uygulanan forcing işlemlerinin lalelerinkine benzediği, sadece sera sıcaklıklarının daha yüksek tutulduğu ve soğuklama sürelerinin daha kısa olduğunu bildirmektedir.

Çığ (2005), ticari sümbül çeşitleri ile yaptığı çalışmada farklı gübre dozu uygulamalarının hasat zamanı ve çiçek kalitesi üzerine etkili olmadığını, kesme çiçek üretimi için sera koşullarının çiçek boyutlarının daha büyük olması nedeniyle tarla koşullarına göre daha uygun olduğunu bildirmektedir.

Naik ve Nayak (2005), *Ornithogalum virens*'te rejenerasyon için soğan pullarını kullanarak sürgün tomurcukları ve kallus yolu ile indirekt organogenesis gerçekleştirmişlerdir. Soğan çap artışı MS ortamı tuz konsantrasyonunun ½ oranında azaltılmasıyla sağlanmış ve elde edilen soğanlar başarılı bir şekilde dış ortama aktarılmıştır.

Chung et al. (2006), *Hyacinthus orientalis* bitkisinin "Anna Marie" çeşidine ait soğan pul yapraklarının şeker ve ön-üşütme/soğuklama uygulamasının büyüme ve gelişme üzerine etkisini inceledikleri çalışmada; ön soğuklama işleminin (4 °C'de 4 ay) yapıldığı pul yapraklar şeker içermeyen besi ortamında 20 °C'de bekletilenlerden daha iyi büyüme kapasitesi ve soğan oluşturma yeteneğine sahip olduklarını gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar, bütün kültürlerin ilk iki haftasında soğan parçalarının nişasta içeriğinde hızlı bir azalma olduğunu ve daha sonra tekrar artış gösterdiğini bildirmektedirler.

Ziv and Naor (2006), *Hyacinthus orientalis* bitkisinde çiçek ve çiçek organlarının rejenerasyonu çiçek örtüsünden mümkün olduğunu ve çiçek gelişimini kontrol eden faktörler direkt organogenesis yoluyla 50-200 gün içinde belirlenebileceğini bildirmektedir. Araştırmacılar, *Hyacinthus*'da BA düzeyinin ve oksinlerin *in vitro*'da çiçek aksamının gelişmesini teşvik ettiğini ve yüksek BA ve

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

düşük oksin düzeyinin erkek organ ve meyve yaprağı oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (2007), *Hyacinthus* bitkisinin oldukça önemli bir süs bitkisi olduğunu, beyaz, sarı, pembe, kırmızı ve mor gibi değişik renklere sahip yaklaşık 2000 türünün ticari olarak yetiştirildiğini bildirmektedir. *Hyacinthus* cinsinin yetiştiricilik bakımından değişik ekolojik koşullara adapte olduğunu ancak, yavru soğan üretim oranının düşük ve yavru soğanların küçük olduğunu bildirmektedir. Araştırmacılar, *Hyacinthus* bitkisinde çoğalma kapasitesini geliştirmek için *in vitro* teknikler kullanılmakta ve bu amaçla değişik *in vitro* kültür sistemleri geliştirilmiştir. *Hyacinthus* soğanlarının *in vitro* çoğaltılmasında bitki büyüme düzenleyicileri, explant kaynağı, bitkinin genotipi, sıcaklık, şeker içeriği vb. faktörlere bağlı olarak değiştiğini ve bitkinin, soğan pullarının *in vitro* çoğaltımında en fazla kullanılan explant olduğunu belirtilmektedirler.

Kızıl ve ark. (2009), Diyarbakır koşullarında yürüttükleri adaptasyon çalışmasında; *Fritillaria* türleri gibi *Hyacinthus* türünün ticarete işlem görmesi için belirli bir ihracat olgunluğuna gelmesi gerektiğini bildirmektedir. Sümbül bitkisinde, dikim öncesi ortalama soğan çevre uzunluğu 15.57 cm, hasatta ise ortalama soğan çevre uzunluğu 16.00 cm olup ortalama soğan çevre artış oranı % 3.0 olarak belirlenmiştir. Ortalama yavru soğan sayısı bitki başına 3.2 olmuştur. *Hyacinthus orientalis*'de ortalama bitki boyu 19.62 cm, yaprak sayısı 15.0 adet/bitki, yaprak eni ve yaprak boyu sırasıyla, 2.16 ve 11.73 cm, ortalama çiçek sayısı, çiçek eni ve çiçek uzunluğu değerlerini ise sırasıyla 14.70 adet/bitki, 0.94 ve 3.86 cm olarak bildirmişlerdir.

Sun ve ark. (2010), *Hyacinthus orientalis* bitkisinden adventif sürgünleri genç yapraklar (gevrek) ve pul yapraklarından elde edilmiştir. Tekli ve çiftli pul yaprakları için uygun besin ortamı belirlemeye yönelik çalışmada; MS + 5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA ortamını kullanarak yaptıkları çalışma sonucunda ikili pul yaprakların tekli pul yapraklara göre daha iyi sonuç verdiğini belirlemişlerdir. Genç yapraklar için en uygun ortam 3 mg/L MS + 6-BA + 0.2 mg/L NAA ortamı olup pul yapraklardan daha iyi bulunmuştur. Köklenme için en uygun ortam olarak % 93.3 oranı ile 0.2 mg/L NAA + ½ MS ortamı belirlenmiştir.

Uranbey (2010), Nadir bulunan ve endemik bir bitki olan *Muscari azureum* bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarından yüksek oranda soğancık rejenerasyonu

gerçekleştirdikleri çalışmada; *M. azureum* olgunlaşmamış embriyoları N6 mineral tuzu ve vitamin, 400 mg/L casein + 40 g/L sukroz+ 2 g/l L-proline, 2 mg/L 2,4-D ve 2 g/L gelrite içeren ortamda kültüre alınmışlardır. Daha sonra oluşan kalluslar MS vitamin ve tuzlarını içeren soğan oluşturma ortamında (N6-benzylamino-purine (BAP), kinetin (KIN), thidiazuron (TDZ), zeatin, indole-3-acetic acid (IAA), α -naphthaleneacetic acid (NAA), 30 g/L sucrose ve 7 g/L agar) kültüre alınmışlardır. Kültür başlangıcından 5-6 ay sonra olgunlaşmamış embriyolardan çok sayıda (>13 soğancık/embriyo) soğancık oluşumu gerçekleştirilmiştir. Buradan iyi gelişen soğancıklar ½ MS ve 1 mg/L IBA, 0.5 g/L aktif kömür, 20 g/L şeker ve 6 g/L agar içeren ortamda köklendirilmiş ve dış ortama alınmışlardır.

Addai (2011), Sümbül bitkisinin karbonhidrat metabolizması üzerine yaptığı bir çalışmada; rezerve karbonhidrat, esas olarak nişasta oranının soğan pullarında dikimden bir ay sonra başlangıç değerine göre % 50 azaldığını bildirmektedir. Araştırmacı, nişasta miktarındaki bu azalışın soğanların çıkış zamanına denk geldiği, soğanlı bitkilerde büyüme ve gelişmenin soğanlardaki depolanan rezerv maddelere bağlı olduğu ve depo rezerv maddelerinin azalması çıkış, sürgün gelişimini ve dolayısı ile büyüme ve gelişme üzerine önemli etkileri bulunduğu bildirilmiştir.

Türkoğlu ve ark. (2011), Bitki büyümesinin birçok çevresel faktör tarafından kısıtlandığını, bununla birlikte toprak tuzluluğu dünyanın kurak ve yarı kurak iklim koşullarında önemli bir tarımsal sorun olarak karşımıza çıktığını belirtmektedir. Araştırmacılar, tuzluluğun bitkilerde besin maddesi ve su alımını kısıtlayan önemli bir stres faktörü olduğunu rapor etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada farklı tuz konsantrasyonlarına (0, 50, 100, 200, 400 mM) karşı *Hyacinthus* bitkisinin tepkisi araştırılmıştır. Tuza maruz bırakılan bitkilerde stoma durumu, osmotik potansiyel, proline içeriği, klorofil II, keratenoid ve protein içeriğinde oluşan varyasyonlar incelenmiştir. Çalışmada, stoma büyüklüğü ile birlikte klorofil II ve keratenoid içeriği tuz konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak arttığı bildirilmiştir.

Smigielska and Jerzy (2013), Sümbül bitkisinde yaprak çeliklerinin *in vivo* gelişiminde farklı renklerde floresan lambalar kullanarak yaptıkları çalışmada; serada yetiştirdikleri üç sümbül çeşidinin yapraklarından aldıkları çelikleri, torflu ortamda büyütme odasında farklı renklerde ışık (beyaz, mavi, yeşil, sarı ve kırmızı) yayan floresan lambalar altında köklendirmişlerdir. Beyaz, mavi ve kırmızı renkli lambaların

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

bulunduğu ortamda yaprak çelikleri fazla sayıda ve uzun adventif kök oluşturmuşlardır. Kök ağırlıkları bakımından en yüksek değerler beyaz lambalı ışık ortamında elde edilmiştir. “Anna Marie” ve “Blue Star” çeşitlerinde yaprak çelikleri üzerinde oluşan adventif soğan oluşumu üzerine ışık renginin etkisi önemsiz bulunmuştur. “White Pearl” çeşidinde beyaz ışık altında en fazla soğan oluşumu gözleendiği, bunu mavi ve yeşil renkler izlemiştir. En büyük soğanlar beyaz ve mavi renk ışık altında elde edildiği bildirilmektedir.

3. MATERYAL ve METOT

Çalışma 2013-2014 yılları arasında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak kullanılan *Hyacinthus orientalis* L. Bitkisinin olgunlaşmamış meyveleri (Şekil 3.5), Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesi'nden temin edilmiştir. Tarla Bitkileri Bölümü Soğanlı Bitkiler Koleksiyon bahçesinin bulunduğu deneme alanı 37°53° Kuzey enlemleri ve 40° 16°" Doğu boylamları ile sınırlı olup denizden yüksekliği 680 m'dir.

3.1.1. *Hyacinthus orientalis* Bitkisinin Taksonomideki Yeri

Takım: Liliales

Familiya: Liliaceae (Amaryllidaceae)

Cins: *Hyacinthus*

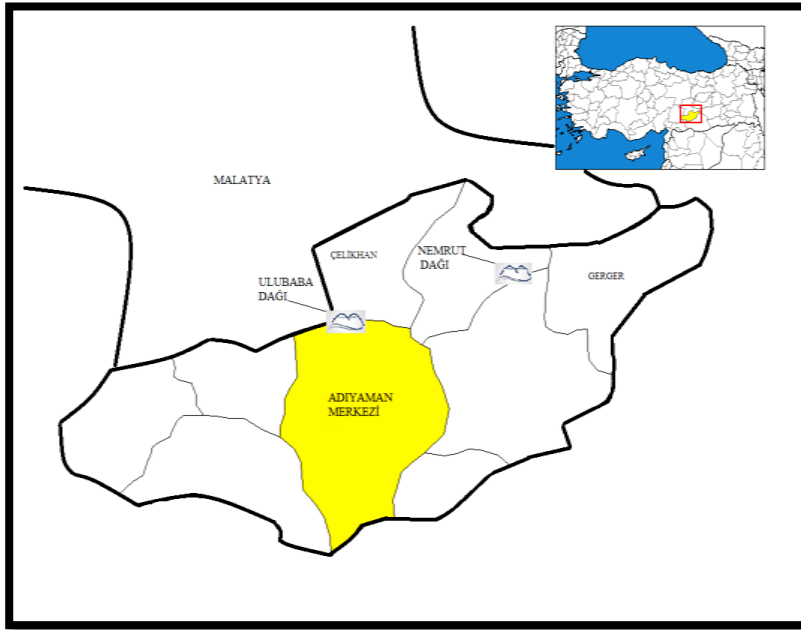
Tür: *Hyacinthus orientalis* L.

Hyacinthus orientalis L.; bir Akdeniz bitkisi olup, Türkiye'nin Güney kesimleri, Kuzeydoğu Suriye ve Lübnan'da doğal olarak yetişmektedir. Sümbül bitkisinin en önemli üreticilerinden olan Hollanda dünya üretiminin % 95'ini karşılamaktadır. Bitkinin tarımı yüzyıllardan beri yapılmaktadır. Doğu Avrupa'ya Türkiye'den gittiği belirtilmektedir (Nowak ve Rudnicki, 1993)

H. orientalis, Liliaceae familyasına mensup, 35 cm'e kadar boylanan, tabandan çıkan yaprakları mızraksı, ana gövde üzerinde uç kısımda çiçeklenen, çiçekler 2-3 cm uzunluğunda, tüp şeklinde her biri 6 parçalı, değişik renkte oldukça güzel görünüme sahiptir. Sümbül bitkisi, ilkbaharda (Mart sonu-Nisan) çiçeklenmektedir. Günümüzde oldukça farklı çiçek renklerine sahip çeşitleri bulunmaktadır.



Şekil 3.1. Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesi'nde yetiştirilen *Hyacinthus orientalis* bitkisinin çiçeklenme başlangıcı ve tam çiçeklenme döneminden görünümü



Şekil 3.2. Sümbül bitkisinin Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yayılış gösterdiği alanlar

Adıyaman ili Nemrut Dağı florasında daha önce yapılan arazi tarama çalışmalarında sümbül bitkisinin bulunduğu ve doğal yetişme ortamında toplandığı belirlenmiştir (Şekil 3.3).



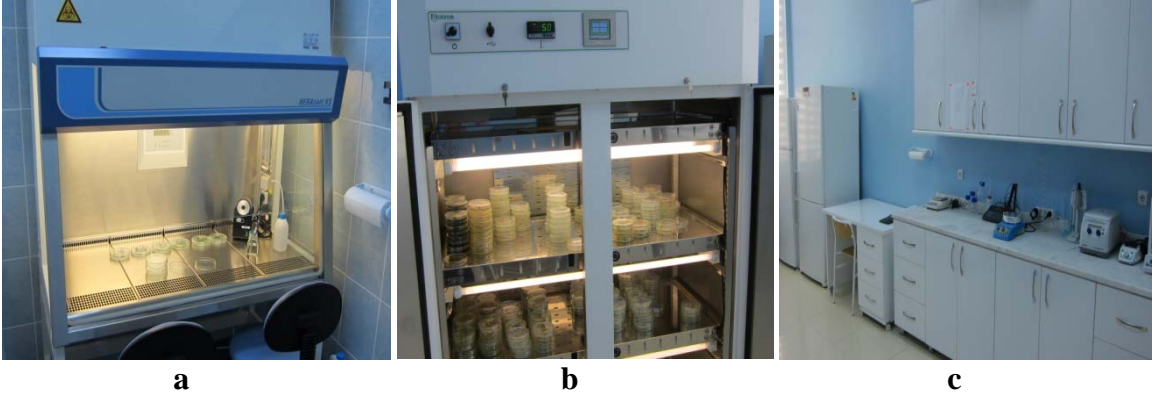
Şekil 3.3. Sümbül bitkisinin yayılış gösterdiği Adıyaman-Malatya il sınırları arasında kalan Ulubaba Dağından bir görünüm (Haziran 2012)

3.2. Metot

3.2.1 Eksplantların Ön Hazırlığı ve Sterilizasyonu

Hyacinthus orientalis bitkisinin olgunlaşmamış meyveleri içinden hastaliksız ve üzerinde herhangi bir yara izi olmayan meyveler seçilmiştir (Şekil 3.5). Daha sonra seçilen bu meyveler yaralamalara yol açmadan dikkatli bir şekilde kağıt keseler içine konularak belli bir müddet buzdolabında 4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

Buzdolabında 4 °C'de 20 gün muhafaza edilen materyalin yüzey sterilizasyonları için meyveler 30 dak çeşme suyunda deterjan ile yıkandıktan sonra %66 hidrojen peroksit ile 10 dk steril edilmiş ve 3 x 3 dakika steril saf su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyon çalışmaları steril kabin (Şekil 3.3; Şekil 3.4) içerisinde yapılmıştır. Yüzey sterilizasyondan sonra meyveler steril kabin içinde, steril bistüri ve pens ile olgunlaşmamış embriyolar meyve kabuğundan ayrılacak şekilde kesilerek 24 ± 1 °C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık foto periyodunda, içerisinde % 3 sukroz ve % 0.62 agar (Duchefa) ile katılaştırılan ve farklı oranlarda oksin ve sitokinin içeren MS besi ortamlarında kültüre alınmıştır.



Şekil 3.4. *In vitro* çalışmaların yapıldığı steril kabin (a), bitki büyütme dolabı (b) ve hazırlık odasının (c) görünümü

3.2.2. Çalışmada Kullanılan Eksplantlar

Bu çalışma için *Hyacinthus orientalis* bitkisinin olgunlaşmamış meyvelerinden alınan olgunlaşmamış embriyolar kullanılmıştır. Bununla birlikte, farklı BBD ile yapılan denemelerden elde edilen *in vitro* yaprakların adaksial kısmından eksplant örnekleri alınmıştır.



Şekil 3.5. *Hyacinthus orientalis* bitkisinin çiçeklenmeden 25 gün sonra alınmış meyve örnekleri

3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri Ve Ortamları

Denemelerde, MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog 1962), %3 oranında şeker (sukroz) ile katılaştırma amacıyla agar (Duchefa) içeren besi ortamları kullanılmıştır. Ortam hazırlığında çift distile su kullanılmış olup, besin ortamına, farklı kombinasyonlarda sitokin ve oksin ilave edilmiştir.

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, Sigma Aldrich Chemical Co.'dan temin edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri uygun çözücülerde Çizelge 3.2'de verildiği gibi çözüldükten sonra istenilen miktarda ve oranda stok solüsyonları hazırlanmıştır. Isı muamelesi ile bozulmayan bitki büyüme düzenleyicileri otoklavlanmadan önce besin ortamına ilave edilmiştir. Hazırlanan bitki büyüme düzenleyicileri stok solüsyonları iki ay süreyle +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. MS (Murashige ve Skoog 1962) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

Ortamda bulunan maddeler	Konsantrasyonu (mg/L)	
Makro besin elementleri	NH ₄ NO ₃	1650
	KNO ₃	1900
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	KH ₂ PO ₄	170
Mikro besin elementleri	KI	0.83
	H ₃ BO ₃	6.2
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3
Vitaminler	Inisitol	100
	Nicotinic Acid	0.5
	Pyridoxine-HCl	0.5
	Thiamine-HCl	0.1
	Glycine	2

Çizelge 3.2. Kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve stok çözelti konsantrasyonları

Bitki Hormonları	Çözücü	Saklama Sıcaklığı	Stok Çözelti Konsantrasyonu (mg/ml)
Sitokinin			
BAP	1 N NaOH/Etanol	4°C	1/1
KIN	1 N NaOH	4°C	1/1
TDZ	1 N NaOH	4°C	1/1
Oksin			
IBA	1 N NaOH	4°C	1/1
NAA	1 N NaOH/Etanol	4°C	1/1
GA ₃	Etanol (EtOH)	4°C	1/1

3.2.4.Kültür Koşulları

Besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da HCl kullanılarak 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra otoklavda 1.2 kg/cm² basınç altında 121°C'de 20 dk sterilizasyon sağlanmıştır. Tüm kültürler iklim dolaplarında (Fitotron UK) beyaz floresans ışığı altında 16 saat ışık 8 saat karanlık periyodunda 24 °C bekletilmiştir (Babaoğlu ve ark. 2002).

3.2.5. *In vitro* Çalışmalar

3.2.5.1. Bitki Rejenerasyonu

Bitki rejenerasyonu için, tüm eksplantlar Çizelge 3.2, 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6'da verilen bitki büyüme düzenleyicileri ve belirtilen dozları kullanılarak, her bir Petri ya da Magenta'da 5 ve/veya 8 eksplant ve 3 tekerrür olacak şekilde kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.3. Sümbül bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarının 20 ve 40 g/L şeker içeren MS besin ortamında farklı oranlarda TDZ ve NAA içeren deneme

Deneme 1	Deneme 2	
TDZ mg/L	TDZ mg/L	NAA mg/L
0.05	0.05	0.2
0.10	0.10	0.2
0.15	0.15	0.2
0.20	0.20	0.2
0.25	0.25	0.2
0.30	0.30	0.2

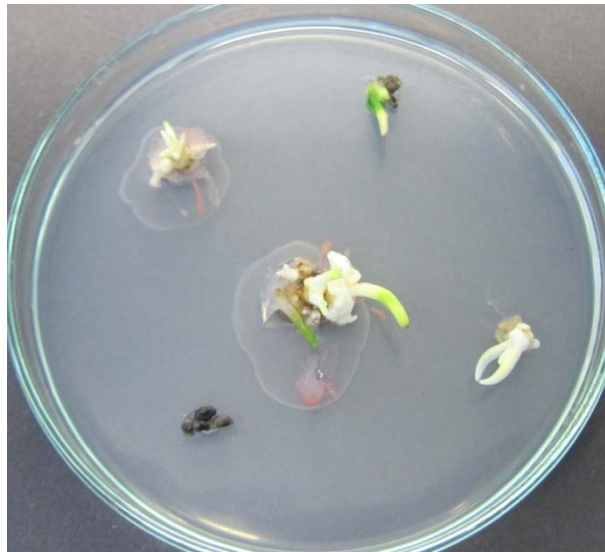
Çizelge 3.4. Sümbül bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarının 20 ve 40 g/L şeker içeren MS besin ortamında farklı oranlarda BAP ve NAA içeren deneme

Deneme 3	Deneme 4	
BAP mg/L	BAP mg/L	NAA mg/L
0.3	0.3	0.2
0.6	0.6	0.2
0.9	0.9	0.2
1.2	1.2	0.2
1.5	1.5	0.2
1.8	1.8	0.2

Çizelge 3.5. Sümbül bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarının 20 ve 40 g/L şeker içeren MS besin ortamında farklı oranlarda TDZ ve NAA içeren deneme

Deneme 5	Deneme 6	
KIN mg/L	KIN mg/L	NAA mg/L
0.5	0.5	0.1
1.0	1.0	0.1
1.5	1.5	0.1
2.0	2.0	0.1
2.5	2.5	0.1
3.0	3.0	0.1

Kültür ortamında meydana gelen kronik bulaşıklığı önleme amacıyla eksplantlar taze amoklavın içeren modifiye MS (Modifiye MS olarak temel MS ortamına 170 mg/L potasyum fosfat, 1900 mg/L potasyum nitrat, 100 mg/L inositol, 0.5 mg/L nikotinik asit, 0.5 mg/L pyridoxin, 0.1 mg/L tiamin ve 2.0 mg/L glisin ilave edilmiştir) ortamına aktarılmıştır (Çizelge 3.6).Yukarıda tablo halinde verilen 3, 4, 5 ve 6 numaralı denemeler bulaşıklık çıkması nedeni ile değerlendirmeye alınmamışlardır.



Şekil 3.6. *H. orientalis* olgunlaşmamış embriyolarında kültür ortamında meydana gelen kronik bulaşıklık

Çizelge 3.6. Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.10 mg/L NAA içeren MS ortamında *Hyacinthus orientalis in vitro* yaprakları ile kurulan denemede kullanılan BBD'ler.

Deneme 7	
BAP	NAA
0.5	0.1
1.0	0.1
1.5	0.1

Farklı konsantrasyonda BAP ve 0.1 mg/L NAA içeren ortamda gelişen soğancıklar yaprak oluşumunu teşvik etmek amacı ile 20 mg/L GA₃ içeren MS ortamına alınmışlardır.

Giberellik asit içeren ortamdan alınan soğancıklar daha sonra çap artışı sağlamak amacı ile 50 g/L şeker içeren ortama aktarılmışlardır.

Soğan çapları 0.5-1.0 cm çapına gelen soğancıklar köklendirme amacıyla 1.0 mg/L IBA içeren MS ortamına alınmışlardır. Soğancıklar 22 gün sonra ½ MS ve 30 g/L şeker içeren ortama alınmışlardır.

3.2.5.2. Köklendirme Ortamı

Soğanlarda yeterli gövde oluşumu sağlandıktan sonra 1 mg/L IBA içeren ortama alınmışlardır. Bu ortamda yeterli kök oluşumu sağlanamayınca, soğanlar ½ MS + 30 g/L şeker, 2 g/L aktif kömür içeren ortamda köklendirmeye alınmışlardır.

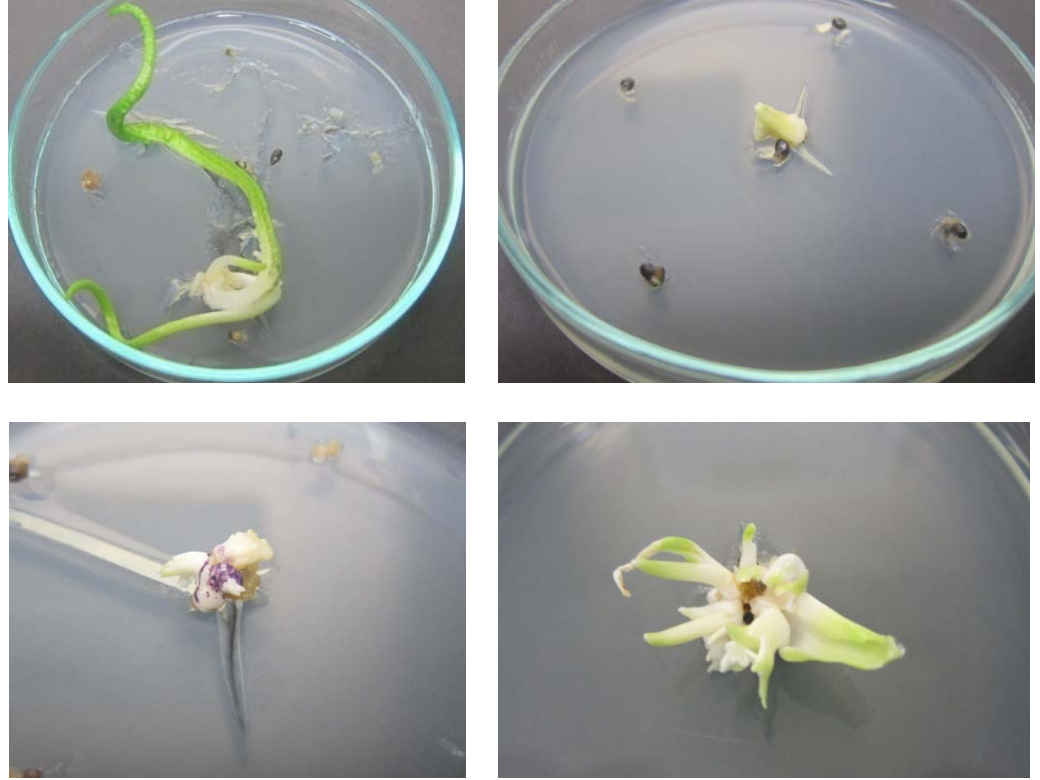
3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler

Denemeler, tek faktörlü, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve 3 tekerrürlüdür. Her tekerrür içinde 5 adet eksplantın bulunduğu 100 x 10 mm'lik Petri kutularından oluşmuştur. Elde edilen veriler "IBM SPSS 20 for Windows" paket programında Univariate analizine tabi tutulmuş, muamele ortamlarını karşılaştırmak amacıyla Duncan ve LSD testleri uygulanmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran 1967).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Sümbül (*Hyacinthus orientalis*) bitkisinde kültür koşullarında soğan üretimi oldukça yavaştır. *In vitro* koşullarda olgunlaşmamış embriyolardan yapılan çalışmalarda çimlenme sonrası soğan oluşumu ve tohumdan çimlenme görülmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *H. orientalis* olgunlaşmamış embriyolarında çimlenme, soğancık ve kallus oluşumu

Çizelge 4.1 ve 4.2’de görüldüğü gibi çimlenme oranları bakımından 20 ve 40 g/L şeker konsantrasyonlarında farklı TDZ ve 0.2 mg/L NAA uygulamaları arasında ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunurken, çimlenen embriyo sayısı bakımından aralarındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

20 g/L ve 40 g/L şeker içeren TDZ ve TDZ - 0.20 mg/L NAA ortamlarında çimlenme oranı % 0.00 ile % 40.00 arasında değişmiştir. En yüksek çimlenme oranı değerleri 20 g/L şeker uygulamasında 0.25 mg/L TDZ uygulamasından elde edilirken, 40 g/L şeker uygulamasında ise 0.10 mg/L TDZ - 0.20 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir. Çimlenen embriyo sayısı bakımından 20 g/L şeker uygulamasında ortalama değerler 0.00 adet ile 2.33 adet, 40 g/L şeker uygulamasında ise 0.00 adet ile 1.83 adet

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

arasında değişmiştir. En yüksek değerler sırası ile 20 g/L şeker uygulamasında 0.10 mg/L TDZ ve 0.10 mg/L TDZ - 0.20 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.1. 20 g/L Şeker konsantrasyonu ve TDZ ile 0.20 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında *Hyacinthus orientalis* olgunlaşmamış embriyolarının çimlenme oranlarına ait varyans analiz sonuçları

VK	sd	Çimlenme oranı (%)		Çimlenen embriyo sayısı	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	11	233.081	4.936**	0.926	1.778
Hata	24	47.222		0.521	
Genel toplam	35				

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; * P < 0.05; ** P < 0.01

Çizelge 4.2. 40 g/L Şeker konsantrasyonu ve TDZ ile 0.20 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında *Hyacinthus orientalis* olgunlaşmamış embriyolarının çimlenme oranlarına ait varyans analiz sonuçları

VK	sd	Çimlenme oranı (%)		Çimlenen embriyo sayısı	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	11	548.232	4.590**	0.553	0.711
Hata	24	119.444		0.778	
Genel toplam	35				

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; *P< 0.05; **P<0.01

Çizelge 4.3. Farklı Şeker konsantrasyonları ve TDZ ve 0.20 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında *H. orientalis* olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen çimlenme oranı ve çimlenen embriyo sayısı ortalama değerleri

Ortamlar		Çimlenme oranı (%)**		Çimlenen embriyo sayısı (adet/petri)	
TDZ (mg/L)	NAA (mg/L)	20 g/L Şeker	40 g/L Şeker	20 g/L Şeker	40 g/L Şeker
0.05	0.00	0.00 b	0.00 b	0.00	0.00
0.10	0.00	16.67 ab	26.67 ab	2.33	1.00
0.15	0.00	20.00 ab	20.00 ab	1.00	0.33
0.20	0.00	20.00 ab	20.00 ab	1.00	0.33
0.25	0.00	40.00 a	30.00 a	1.83	1.00
0.30	0.00	26.67 ab	33.33 a	1.33	1.00
0.05 TDZ	0.20	20.00 ab	20.00 ab	1.00	0.67
0.10 TDZ	0.20	20.00 ab	40.00 a	1.00	1.83
0.15 TDZ	0.20	0.00 b	26.67 a	0.00	0.67
0.20 TDZ	0.20	20.00 ab	0.00 b	1.00	0.00
0.25 TDZ	0.20	20.00 ab	0.00 b	1.00	0.00
0.30 TDZ	0.20	20.00 ab	26.67 a	1.00	1.00

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde farklılık görülmüştür.

Salehzadeh ve ark. (2008) *Hyacinthus orientalis* bitkisinde kallus oluşumu için soğan pulcuklarının uygun eksplant olduğunu ve kallus oluşumunun farklı oksin tiplerinden etkilendiğini bildirmektedir. Araştırmacılar, 1.0 mg/L NAA içeren ortamın 6 hafta sonra en ağır kallus oluşumunu sağladığı, 3 mg/L BAP - 0.3 mg/L IBA uygulamasının ise 6 hafta sonunda en yüksek soğan oluşumunu (3.06 soğancık) sağladığını bildirmektedir. Elde edilen sonuçlara paralel olarak, yaprak primordiyumları ve soğan pulcuklarının olgunlaşmamış çiçeklerden, sitokininlerin oksinlerle birlikte kullanılmasının tek başına kullanılmasından daha etkili olduğunu belirtmektedirler.

Yanbo ve ark. (1998), *H. orientalis* bitkisinin ovaryum eksplantlarından doku kültürü ile tam bir bitkinin elde edilebileceğini, 5.0 mg/L BAP ve 1.0 mg/L NAA içeren MS ortamının kallus ve sürgün oluşumu için uygun olduğunu, bununla birlikte sürgün gelişimi için de 2.0 mg/L BA – 2.0 mg/L NAA içeren MS ortamının en iyi sonuçları verdiğini bildirmektedirler. Araştırmacılar, dışarıdan herhangi bir BBD uygulamaksızın MS ortamının köklendirme için yeterli olduğunu belirtmektedirler. Bu çalışmada uygulanan büyüme düzenleyicilerinin kallus oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1, 4.2)

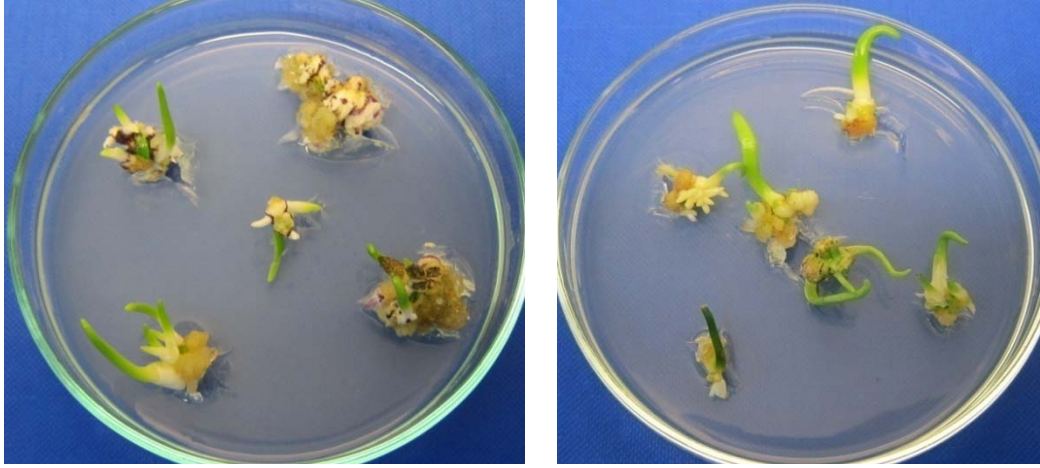
H. orientalis olgunlaşmamış embriyolarından çimlenen ve kallus oluşturan eksplantlar 50 g/L şeker içeren MS ortamına alınmıştır. Yüksek oranda şeker soğancıklarda karbonhidrat birikimini ve dolayısıyla çap artmasına yardımcı olmaktadır.

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.10 mg/L NAA içeren MS ortamında *Hyacinthus orientalis*in *in vitro* yapraklarından elde edilen yaprak sayısı, yavru soğan sayısı ve kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

VK	sd	Kallus oranı (%)		Yaprak sayısı (adet/eksplant)		Yavru soğan sayısı (adet/eksplant)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortamlar	2	533.33	1.500 ^{OD}	7.684	21.346**	1.243	5.768*
Hata	6	355.55		0.360		0.216	
Genel toplam	8						

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; *P< 0.05; **P<0.01

Çizelge 4.4'te sümbül bitkisinden farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.1 mg/L NAA içeren ortamlardan elde edilen kallus oranları arasında oluşan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmazken, yaprak sayısı bakımından 0.01, yavru soğan sayısı bakımından ise 0.05 düzeyinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. *H. orientalis*'in *in vitro*'da geliştirilen yapraklarından rejenerasyon

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 0.1 mg/L NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamında *H. orientalis* olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen kallus oranı, eksplant başına yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı ortalama değerleri

Ortamlar		Kallus oranı (%) ^{ÖD}	Yaprak sayısı (adet/eksplant)**	Yavru soğan sayısı (adet/eksplant)*
BAP (mg/L)	NAA (mg/L)			
0.5	0.1	66.67	2.93 a	2.53 ab
1.0	0.1	80.00	3.13 a	1.70 b
1.5	0.1	93.33	0.27 b	2.97 a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde farklılık görülmüştür.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde farklılık görülmüştür.

Çizelge 4.5'in incelenmesinden BAP oranının artması ile yavru soğan sayısı ve kallus oluşum oranını artmıştır. Maksimum yaprak sayısı 3.13 adet ile 1.0 mg/L BAP - 0.1 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir. Yavru soğan sayısı değerleri 1.70 ile 2.97 adet/eksplant arasında değişmiştir. En düşük kallus oranı ise 0.5 mg/L BAP - 0.1 mg/LNAA uygulamalarından % 66.7 olarak belirlenirken, en yüksek oran 1.5 mg/L BAP - 0.1 mg/L NAA uygulamasından % 93.3 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.3. *H. orientalis*'in *in vitro*'da geliştirilen yaprakların adaksial (merkeze/soğana yakın) kısımlarından gelişen soğancıkların görünümü

Çizelge 4.6. *In vitro*'da geliştirilen soğancıklarda çap artışı sağlamak amacıyla soğanların modifiye MS + 2 mg/L aktif kömür ve amoklavın içeren ortamda soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısına ait varyans analiz sonuçları

VK	Sd	Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet/eksplant)		Yavru soğan sayısı (adet/eksplant)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortamlar	2	0.009	2.512	1.991	2.748	0.484	0.673
Hata	6	0.004		0.724		0.720	
Genel toplam	8						

Modifiye MS ortamına alınan soğancıklarda soğan çapı 0.2 ile 0.5 cm arasında değişmektedir. Bu ortamda bekletilen ve 68 gün sonra alınan gözlemlerde soğan çapında belirgin bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte soğanlarda mor renkte antosiyanin oluşumu meydana gelmiştir (Şekil 4.3). Soğan çapı, yaprak sayısı, yavru soğan sayısı bakımından ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi, soğan çapı değerleri eksplantların geldikleri ortamlar dikkate alındığında 0.55 cm ile 0.65 cm arasında, yaprak sayısı 1.60 ile 3.20 adet, yavru soğan sayısı ise 1.07 ile 1.87 adet arasında değişmiştir.

Soğanlı bitkilerin gerek *in vitro* veya gerekse *ex vitro* koşullarda üretiminde soğan çapı önemli bir özelliktir. *In vitro* koşullarda belli bir olgunluğa gelmeyen soğanlarda köklenme ve çiçeklenme gözlenmemektedir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Çizelge 4.7. *In vitro*'da geliştirilen soğancıkların modifiye MS + 2 mg/L aktif kömür ve amoklavlin içeren ortamdan elde edilen soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısına ait ortalama değerler

Ortamlar	Soğan çapı (cm)	Yaprak sayısı (adet)	Yavru soğan sayısı (adet)
1	0.62	2.67	1.87
2	0.65	1.60	1.07
3	0.55	3.20	1.53

Modifiye MS ortamından alınan soğanlar daha sonra 20 mg/L GA₃ ortamına alınarak 15 gün bu ortamda bekletilmiştir.

Çizelge 4.8. *Hyacinthus orientalis* soğancıklarının farklı BAP ve 0.1 NAA içeren MS ortamından 20 mg/L GA₃ ortamına aktarılmadan önce soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

VK	Sd	Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet)		Yavru soğan sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortamlar	2	0.016	27.529**	4.013	13.279**	0.298	11.167**
Hata	6	0.001		0.302		0.027	
Genel Toplam							

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 8 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; *P< 0.05; **P<0.01

Çizelge 4.9. *Hyacinthus orientalis* soğancıklarının farklı BAP ve 0.1 NAA içeren MS ortamından 20 mg/L GA₃ ortamına aktarıldıktan 15 gün sonra soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

VK	Sd	Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet)		Yavru soğan sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortamlar	2	0.010	14.778**	3.391	11.563**	1.684	6.534*
Hata	6	0.001		0.293		0.258	
Genel Toplam	8						

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 8 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; *P< 0.05; **P<0.01

Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi GA₃ ortamına alınmadan önce eksplantlarda soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı bakımından oluşan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Benzer şekilde GA₃ ortamında 15 gün beklettikten sonra alınan gözlemlerde ortalamalar arasında oluşan farklılıklar 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Uygulanan farklı BAP konsantrasyonları bakımından 0.5 mg/L uygulaması ile 1.0 mg/L uygulamaları aynı değerlendirme grubu içinde yer alırken, 1.5 mg/L BAP

uygulamasından düşük soğan çapı değeri elde edilmiştir. En yüksek soğan çapı değeri 0.66 cm ile 1.0 mg/L BAP uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.10).

Giberellik asit ortamında 15 gün bekletildikten sonra alınan gözlemlerde soğan çapında belirleyici bir değişiklik gözlenmemiştir. Yaprak sayısı bakımından GA₃ sonrasında artış olduğu gözlenmekle birlikte, en yüksek değer 4.67 adet ile 0.5 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA uygulamasından, en düşük değer ise 2.73 adet/eksplant ile 1.0 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir.

Yavru soğan sayısı bakımından GA₃ sonrası alınan gözlemlerin önemli derecede farklılık gösterdiği, en yüksek ortalama değer 3.20 adet/eksplant ile 1.5 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA uygulamasından, en düşük değer ise 1.73 adet/eksplant ile 0.5 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir. BAP konsantrasyonunun artması ile birlikte yavru soğan sayısında artış meydana gelmiştir.

Çizelge 4.10. *Hyacinthus orientalis* soğancıklarının farklı BAP ve 0.1 NAA içeren MS ortamından 20 mg/L GA₃ ortamına aktarılmadan önce ve 15 gün sonra ölçülen soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait ortalama değerler

Ortamlar (mg/L)		Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet)		Yavru soğan sayısı (adet)	
BAP	NAA	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra
0.5	0.1	0.62 a	0.65 a	3.33 a	4.67 a	1.53 a	1.73 b
1.0	0.1	0.66 a	0.62 a	1.27 b	2.73 b	1.07 b	2.20 ab
1.5	0.1	0.52 b	0.53 b	3.20 a	2.93 b	1.67 a	3.20 a
Ortalama		0.60	0.60	2.60	3.44	1.42	2.38

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde farklılık görülmüştür.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde farklılık görülmüştür.

Çizelge 4.11 ve 4.12'de görüldüğü gibi GA₃ ortamında 15 gün bekletilen eksplantlar daha sonra çap artışı sağlamak amacı ile 50 g/L şeker içeren MS ortamına alınmışlardır. GA₃ ortamından alınan soğanlarda soğan çapı ve yaprak sayısı bakımından oluşan farklılıklar 0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunurken, yavru soğan sayısı bakımından oluşan farklılıklar önemsiz bulunmuştur. Benzer şekilde 50 g/L şekerli ortamda 15 gün bekletilen eksplantlarda soğan çapı ve yaprak sayısı bakımından oluşan farklılıklar önemsiz bulunurken, yavru soğan sayısı bakımından oluşan farklılıklar 0.01 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Çizelge 4.13’de soğan çapı bakımından MS + 50 g/L şeker ortamında herhangi bir değişiklik oluşmadığı görülmektedir. Yaprak sayısı bakımından farklı ortamlar arasında 50 g/L şeker uygulamasının bir etkisi görülmemekle birlikte tüm ortamlarda yaprak sayısı bakımından benzerlik görülmüştür. Yaprak sayısı ortalama değerleri bakımından 50 g/L şeker uygulamasından sonra sayıca bir artış meydana gelmiştir. Yavru soğan sayısı bakımından en yüksek ortalama değer 0.5 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA uygulamasından elde edilirken 1.0 ve 1.5 mg/L BAP uygulamaları aynı grup içinde yer almışlardır.

Çizelge 4.11. *Hyacinthus orientalis* soğancıklarının çap artışı sağlamak için MS + 50 g/L şeker içeren ortama alınmadan önce soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

VK	Sd	Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet)		Yavru soğan sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortamlar	2	0.011	11.762**	3.391	11.561**	0.840	1.750 ^{OD}
Hata	6	0.001		0.293		0.480	
Genel Toplam	8						

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 8 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; *P< 0.05; **P<0.01

Çizelge 4.12. *Hyacinthus orientalis* soğancıklarının çap artışı sağlamak için MS + 50 g/L şeker içeren ortamda 15 gün bekletildikten sonra soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

VK	Sd	Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet)		Yavru soğan sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortamlar	2	0.000	0.160 ^{OD}	2.354	3.149 ^{OD}	3.301	34.149**
Hata	6	0.001		0.748		0.097	
Genel Toplam	8						

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 8 eksplant kullanılarak yapılmıştır. KO= Kareler Ortalaması, F= F değeri; *P< 0.05; **P<0.01

Çizelge 4.13. *Hyacinthus orientalis* soğancıklarının çap artışı sağlamak için MS + 50 g/L şeker içeren ortama aktarılmadan önce ve 15 gün sonra soğan çapı, yaprak sayısı ve yavru soğan sayısı özelliklerine ait ortalama değerler

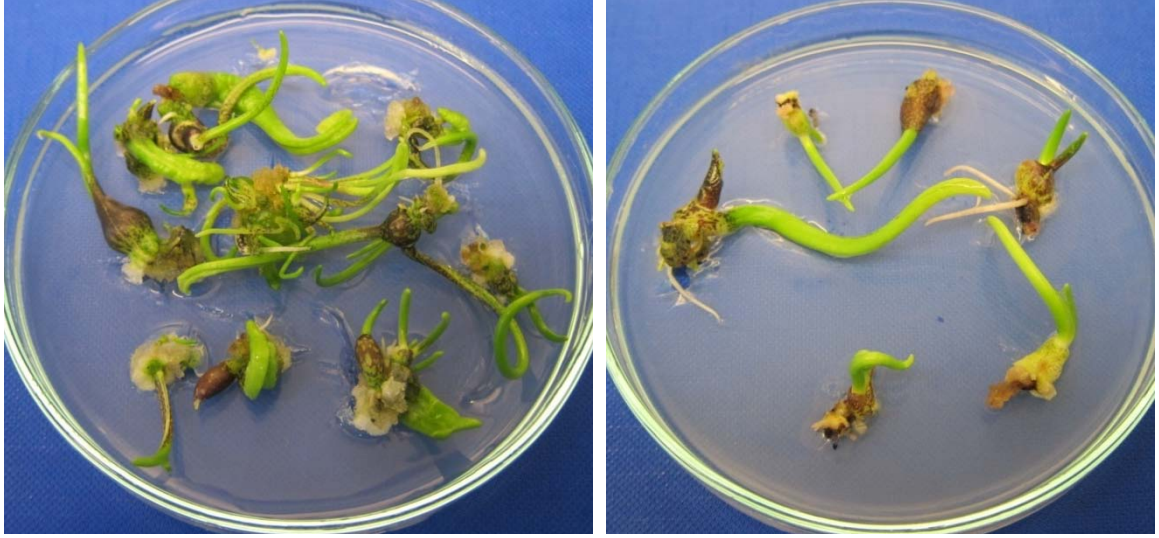
Ortamlar (mg/L)		Soğan çapı (cm)		Yaprak sayısı (adet)		Yavru soğan sayısı (adet)	
BAP	NAA	Önce	Sonra	Önce	Sonra	Önce	Sonra
0.5	0.1	0.65 a	0.61	4.67 a	5.33	3.20	4.27 a
1.0	0.1	0.63 a	0.62	2.73 b	3.40	2.20	2.43 b
1.5	0.1	0.53 b	0.62	2.93 b	4.90	2.40	2.47 b
Ortalama		0.60	0.62	3.44	4.54	2.60	3.06

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde farklılık görülmüştür.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde farklılık görülmüştür.

Köklendirme Çalışmaları

Hyacinthus orientalis bitkisinde *in vitro*'da geliştirilen yapraklardan rejenere olan soğancıkların çap artışı ile birlikte düzensiz köklenme meydana gelmiştir. Soğanlarda köklenme ile soğan çapı arasında pozitif bir ilişkiden söz edilmektedir (De Herogh ve Le Nard 1993). Soğanlardan 0.5 – 1.0 cm çapında olanlar 1 mg/L IBA içeren MS ortamında köklendirilmişlerdir (Şekil 4.4, 4.5).



Şekil 4.4. *In vitro*'da geliştirilen yaprak eksplantlarından oluşan soğanların IBA içeren ortamda antosiyanin oluşumu ve köklenmelerinden bir görünüm



Şekil 4.5. *In vitro*'da geliştirilen soğanların köklenmeleri ve saksılara aktarılma durumlarından bir görünüm

4.2. Tartışma

Doku kültüründe soğancık rejenerasyonu farklı organlarla yapılabilmektedir. Eksplant olarak yapraklar, soğan pulları, çiçekli dallar, yumurtalık ve çiçek yaprakları kullanılmaktadır (De Hertogh ve Le Nard 1993). *Hyacinthus* bitkisinin olgunlaşmamış embriyoları farklı konsantrasyonlarda BAP - NAA ve TDZ - NAA içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır. Bu ortamlarda embriyoda çimlenme, kallus ve direkt soğan oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, kallustan yaprak gelişimi de gözlenmiştir. Soğan oluşumundan sonra ana soğanlar üzerinde çok sayıda soğancık oluşmuş, bu soğancıklar +4 °C'de 50 g/L şeker içeren MS ortamında çap/ağırlık artışı sağlamak amacıyla bekletilmişlerdir. Bununla birlikte çimlenen bitkilerde çimlenme yaprak tabanından (base plant) alınan eksplantlar 0.50 - 1.50 mg/L BAP ve 0.10 mg/L NAA içeren MS ortamında 16 saat ışık 8 saat karanlık fotoperiyotta 24°C'de kültüre alınmışlardır. Kültür başlangıcından yaklaşık 4 hafta sonra kesit yapılan kısımlarda yavru soğancıklar oluşmaya başlamış, 1 hafta sonra antosiyanin içeren belirgin soğancıklar oluşmuşlardır. BAP oranının artması ile birlikte kallus oluşum oranında da artış meydana gelmiş, yavru soğan sayısında önce bir azalma daha sonra artış meydana gelmiştir. Maksimum yaprak sayısı 3.13 adet ile 1.0 mg/L BAP - 0.1 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir. Yavru soğan sayısı değerleri 1.70 ile 2.97 adet/eksplant arasında değişmiştir. Kallus oranı ise 0.5 ve 1.0 mg/L BAP - 0.1 mg/LNAA uygulamalarından sırası ile % 66.7 ve % 80.0 olarak belirlenirken, 1.5 mg/L BAP - 0.1 mg/L NAA uygulamasından % 93.3 olarak belirlenmiştir.

Hyacinthus orientalis bitkisinin yaprak eksplantlarından soğan oluşumu gerçekleştirilmektedir. Kültür ortamında da yaprak çeliklerinden soğan elde edilmektedir. Elde edilen sonuçlar olgunlaşmamış embriyoların *Hyacinthus orientalis* için iyi bir eksplant kaynağı olduğunu ve *in vitro* ortamda çok sayıda soğancık elde edilebileceğini göstermektedir.

Salehzadeh ve ark. (2008) Yaptıkları çalışmada *Hyacinthus orientalis* L.'in pul yaprak, yaprak primordiyası ve olgunlaşmamış çiçek eksplantlarını kullanarak indirekt organogenesis sağlamaya çalışmışlardır. Araştırmacılar 0.5 ve/ya da 1.0 mg/L NAA içeren ve 0.5 ve/ya da 1.0 mg/L IBA içeren MS besin ortamları kullanılmış, en fazla kallus ağırlığını 1.0 mg/L NAA içeren kallus oluşum ortamı olan MS besin ortamında 6 hafta

sonunda 1.9 g olarak elde etmişlerdir. Bu ortamda kök oluşumunun başlamasından dolayı kalluslar 0.5 ya da 1.0 mg/L IBA içeren indirekt organogenesis ortamına alınmıştır. En iyi sonuçlar 6 hafta sonunda 3.06 adet soğancık oluşumu ile 3.0 mg/L BAP - 0.3 mg/L IBA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir.

Lu ve ark. (1988), Farklı gelişme dönemlerinde *Hyacinthus orientalis*'in periant eksplantlarından izole edilen yumurtalık, stamen ve tepal eksplantlarının rejenerasyonunun eksojen hormonlar tarafından kontrol edildiğini bildirilmiştir. Yumurtalık eksplantları kültürün erken aşamalarında besin ortamına 2 mg/L BAP'ın tek başına kullanılmasına göre 0.1 mg/L 2,4-D eklendiğinde daha iyi sonuçlar almıştır. Netice olarak *Hyacinthus*'un periant eksplantlarından izole edilen floral organların rejenerasyonunda kültür ortamına ilave edilen hormon konsantrasyonları ve eksplantların alındığı farklı gelişme dönemlerinin her ikisinin de önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Naik ve Nayak (2005), *Ornithogalum virens*'te rejenerasyon için soğan pullarını kullanarak sürgün tomurcukları ve kallus yolu ile indirekt organogenesis gerçekleştirmişlerdir. Sürgün geliştirmek için 1.0 mg/L NAA ve 2 mg/L BAP, kallus oluşumu için de 2.0 mg/L 2,4-D içeren MS ortamının oldukça etkili olduğunu bildirmektedirler. Kallustan sürgün oluşumu için 2.0 mg/L NAA ve 0.5 mg/L BA içeren ortamın uygun olduğu, sürgünlerin PGR's içermeyen basal MS ortamında köklendikleri rapor edilmiştir. Rejenere edilen bitkiler sıvı MS ortamında büyütülmüş ve dış ortama akklimatize edilmişlerdir. Soğanlar temel MS ortamında çap artışı sağlamak için 45 - 90 g/L şeker ilave edilmiş ortama alınmışlardır. Soğan pul yaprakları üzerinde direkt soğan oluşumu 1.0 mg/L NAA ve 2.0 mg/L BA ve 60 g/L şeker içeren ortamda oluşmuş, soğan çap artışı MS ortamı tuz konsantrasyonunun ½ oranında azaltılmasıyla sağlanmış ve elde edilen soğanlar başarılı bir şekilde dış ortama aktarılmıştır.

Malgorzata ve Marek (2013), Farklı renkte ışıkta sümbülde yaprak çelikleri kullanarak in vivo çoğaltma yapmışlardır. Araştırmacılar, farklı renk ışığın "Anna Marie" ve Blue Star" çeşitlerinde adventif soğan oluşumuna etkisinin olmadığını, ancak beyaz, mavi ve yeşil ışıkta "White Pearly" çeşidinde çok sayıda adventif soğancık elde edildiğini, en ağır ve en büyük soğanların beyaz ve mavi ışıkta oluştuğunu bildirmişlerdir.

Ault (1995), *Eucomis (Asparagaceae)* türlerinde yaptığı çalışmada uygun BA ve NAA dozları kullanarak altı ay içinde bir soğandan yüzlerce bitki üretilebileceğini, köklendirilen ve dış ortama aktarılan soğanların altı ay içinde 2-3 cm çapına ulaştıklarını bildirmektedir.

Yukarıda verilen literatür bilgileri *Hyacinthus orientalis* bitkisinin *in vitro* çoğaltılmasında eksplant kaynağı, kullanılan BBD ve konsantrasyonları ve yetiştirme ortamının soğancık oluşumu üzerine önemli düzeyde etkili olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sümbül bitkisinde soğan ve tohumdan çiçekli soğan üretimi için uzun zamana ihtiyaç duyulmaktadır. Bu durum bitkinin üretimini kısıtlayan en önemli husustur. Bu nedenle, alternatif üretim yöntemlerinden biri olan *in vitro* teknikler ile soğan üretimi yapılabilmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Olgunlaşmamış sümbül embriyolarından çimlendirme yapılabilmekte, uygun BBD ile kallus oluşumu gerçekleşmektedir. *Hyacinthus orientalis* bitkisinde olgunlaşmamış embriyolardan soğan üretimi kolay ve hızlı bir şekilde yapılabilmektedir.
- *In vitro* ortamda çimlendirilen olgunlaşmamış embriyolarda çimlenme yanında doğrudan soğan oluşumu ve kallus oluşumu gözlenmiştir.
- Kallustan yaprak oluşumu gerçekleştirilmiştir.
- En yüksek kallus oluşum oranı 1.5 mg/L BAP - 0.1 mg/L NAA uygulamasından % 93.3 olarak belirlenmiştir.
- Kallus dokusundan çok sayıda soğancık elde edilmiştir.
- Başlangıç materyalleri atılmamış ve 24 °C sıcaklıkta bekletilmiş, buradan (eksplant artıklarında) yavru soğancık oluşumu devam etmiştir.
- Sürgün oluşturan soğancıkların basal ekseninden (adaksial) alınan eksplantlar iyi bir başlangıç materyalidir.
- Basal yapraklardan çok sayıda soğancık üretilmiştir.
- Üretilen soğancıklar MS + 50 g/L şeker ortamında büyötmeye alınmışlardır.
- Soğancıkların GA₃ ortamında yaprak oluşturmaları teşvik edilmiştir.
- Soğanlar etrafında sümbül bitkisine özgü antosiyanin rengi oluşmuştur.
- Çap artışı sağlanan soğanlarda köklendirme gerçekleşmiştir.

Bundan sonra bitki ile yapılacak çalışmalarda *in vitro* ortamda soğan çap artışı, köklendirme ve çiçeklendirmeye yönelik protokoller geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Addai, I.K. 2011. Influence of cultivar or nutrients application on growth, flower production and bulb yield of the common hyacinth. American Journal of Scientific and Industrial Research, 2(2), 229-245.
- Ault, R.J. 1995. *In vitro* propagation of *Eucomis autumnalis*, *E. comosa* and *E. zambesiaca* by twin scaling. HortScience, 30(7), 1441-1442.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, E.2002. Bitki Biyoteknolojisi I: Doku Kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s.
- Bach, A. 1990. Shoot multiplication and bulblet production of hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.) *in vitro*. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kołłataja w Krakowie, Rozprawa Habilitacyjna, 82 pp.
- Benschop, M., Kamenetsky, R., Le Nard, M., Okubo, H., De Hertogh, A. 2010. The Global Flower Bulb Industry: Production, Utilization, Research. Horticultural Reviews, Volume 36 Edited by Jules Janick, Wiley-Blackwell.
- Chung, C.H., Chung, Y.M., Yang, S.J., Ko, E.K., Jeong, S.J., Nam, J.S., Kim, G.T and Yi, Y.B. 2006. Effects of storage temperature and sucrose on bulblet growth, starch and protein contents in *in vitro* cultures of *Hyacinthus orientalis*. Biologia Plantarum 50 (3): 346-351.
- Çığ, A. 2005. Van Yöresinde Farklı Doğu Sümbülü (*Hyacinthus orientalis* L.) Kültür Soğanlarının Kesme Çiçek Yetiştiriciliği ve Peyzaj Düzenlemede Kullanılabilirliği, (Yüksek Lisans Tezi), Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 48 s.
- Dallman P. 1998. Plant life in the world's Mediterranean climates. Oxford University Press, Oxford.
- De Hertogh, A. and M. Le Nard, 1993.The physiology of flower bulbs . Elsevier Science Publ., Amsterdam .
- Ekim, T. ve Koyuncu, M., Güner, A., Erik, S., Yıldız, B., Vural, M. 1991. Türkiye'nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerine Taksonomik ve Ekonomik Araştırmalar, Orman Genel Müdürlüğü Pazarlama Dairesi Başkanlığı Yayınları No:669, Ankara.
- Gude, H. 1992. The Effect of Light Quality and Cold Treatment on the Propagation of Hyacinth Bulbs. Sixth International Symposium on Flower Bulbs (Sanlewski, M.,Beijersbergen, J.C.M., Bogatko, W. Editörler), Skierniewice, Poland, Vol. I, 157-164.
- Gümüşsuyu, İ. 2002. Dünyanın En Pahalı Baharatı "Safran". Safranbolu Hizmet Birliği Kültür Yayını No:12, Ankara,48s.
- Hussey, G. 1975. Propagation of hyacinths by tissue culture. Scientia Horticulturae, 3 (1), 21-28.

- Ildır, S. 1993. VI. 5 Yıllık Kalkınma Planı. Bitkisel Ürünler (Doğal Çiçek Soğanları Süs Bitkileri Grubu) Özel İhtisas Komisyonu, Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova.
- Karagüzel, Ö. ve Baktır, İ. 2001. Bazı Önemli Çiçek Soğanlarında Forcing Uygulamaları. *Derim*, 17 (4), 185-195.
- Karagüzel, Ö., Kaya, A.S., Aydınşakir, K. 2007. Doğal Çiçek Soğanları (Geofitler). *Tarımın Sesi Dergisi*, Sayı:13, s.13-16.
- Kızıl, S., 2005. Soğanlı Bitkiler, Ders Notları, (yayınlanmamış), Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Diyarbakır.
- Kızıl, S., Pala, F. Özgüven, M., Khawar, K.M. 2009. Cultural possibilities of economically important some geophytes under semi-arid ecological conditions of the Southeast Anatolia, Turkey. *Research on Crops*, 10(2), 366-373.
- Lee, S.K., Chung, C.H., Chung, Y.M., Kim, D.H., Jeong, S.J., Nam, J.S., Kim, G.T. and Yi, Y.B. 2007. Efficient Bulblet Regeneration and Growth from Bulb Scale of *Hyacinthus orientalis* L. cv. Pink Pearl Cultured *in vitro*, *Journal of Life Science*, 17, 1336-1340.
- Lu, W., Enomoto, K., Fukunaga, Y., Kuo, C. 1988. Regeneration of tepals, stamens and ovules in explants from perianth of *Hyacinthus orientalis* L. importance of explant age and exogenous hormones. *Planta*, 175(4),478-484.
- Malgorzata, S., Marek, J. 2013. Adventitious Roots and Bulbs Formation on *Hyacinthus orientalis* Leaf Cuttings Under Different Colours of Artificial Light. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 12(1), 157-164.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- Naik, P.K. and Nayak, S. 2005. Different modes of plant regeneration and factors affecting *in vitro* bulblet production in *Ornithogalum virens*. *Science Asia* 31; 409-414.
- Nowak, J., Rudnicki, R.M. 1993. Hyacinthus, In: A. De Hertogh and M. Le Nard (eds.). *The physiology of flower bulbs*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, p. 335-347.
- Özhatay, N., Koyuncu, M., Atay, S., Byfield, A. 1997. Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma. Wwfuk/Staley Smith Horticultural Trust. Doğal Hayatı Koruma Derneği, İstanbul, Türkiye I.S.B.N. 975-96081-9-7.
- Pierik, R.L.M. and Woets, J. 1971. Regeneration of isolated bulb scale segments of hyacinth. *Acta Hort.* (ISHS) 23, 423-428. http://www.actahort.org/books/23/23_71.htm

- Pierik, R.L.M., Post, A.J.M. 1975. Rapid vegetative propagation of *Hyacinthus orientalis* L. in vitro. *Scientia Horticulturae*, 3, 293–297.
- Salehzadeh, Sh. Daneshvar, M.H., Moallemi, N. 2008. Indirect Organogenesis from Scale, Leaf Primordia and Immature Floret Explant of Hyacinth (*Hyacinthus orientalis* L.). *American- Eurasian j. Agric. Environ. Sci.*,4(5), 640-645.
- Seyidoğlu, N. 2009. Bazı Doğal Geofitlerin Peyzaj Dzenlemelerinde Kullanımı ve Üretimi Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniv. Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 367s.
- Smigielska, M. And Jerzy, M. 2013. Adventitious roots and bulbs formation on *Hyacinthus orientalis* leaf cuttings under different colours of artificial light. *Acta Scientiarum Poloniarum, Hortorum Cultus*, 12(1), 157-164.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G. 1967. Statistical methods”. *The Iowa State Univ. Press, Iowa. USA* 327-329.
- Sun, X., Li, Z., Yang, H., Cui, W., Wang, Y. 2010. Rapid Micropropagation System Via *In Vitro* Culture in *Hyacinthus orientalis* L. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 1, 33-36.
- Türkoglu, N. Erez, M.E., Battal, P. 2011. Determination of physiological responses on hyacinth (*Hyacinthus orientalis*) plant exposed to different salt Concentrations. *African Journal of Biotechnology*, 10(32): 6045-6051
- Uranbey, S. 2010. *In vitro* bulblet regeneration from immature embryos of *Muscari azureum*. *African Journal of Biotechnology*, 9(32): 5121-5125.
- Yanbo, L., Shanna, C., Yan, L., Zhihao, H. Tianxin, L. 1998. Tissue culture from ovary of *Hyacinthus orientalis* L. *Journal of Yunnan University (Natural Sciences)*, 20(5), 395-396.
- Ziv, M., Naor, V. 2006. Flowering of Geophytes *In Vitro*. *Propagation of Ornamental Plants*, 6(1), 3-16.
- <http://www.pfaf.org/database/plants.php?Hyacinthus+orientalis>. Eriřim Tarihi: 20.06.2014

ÖZGEÇMİŞ

20.03.1988 yılında Mardin iline bağlı Derik ilçesinde doğdu. İlkokulu Böęrek İlköğretim Okulu, Ortaokulu Cumhuriyet İlköğretim Okulu, lise eğitimini Derik Çok Programlı Lisesinde tamamladı. 2011 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden mezun oldu. 2012 yılında burslu olarak çalıştığı TÜBİTAK 110 O 703'nolu proje kapsamında Yüksek Lisans Eęitimini tamamlamış bulunmaktadır.