

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STERNBERGIA FISCHERIANA (HERBERT) RUPR.'NİN *IN VITRO*
MİKROÇOĞALTIMI ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Çiğdem ALTUNTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİMDALI

DİYARBAKIR

ŞUBAT - 2014

T.C.
DİCLE UNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Çiğdem ALTUNTAŞ tarafından yapılan “*STERNBERGIA FİSCHERIANA* (HERBERT) RUPR.’NİN *IN VITRO* MİKROÇOĞALTIMI” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Jüri Üyesinin</u>	<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>
Başkan:	Prof. Dr.	Süleyman KIZIL (Danışman)
Üye :	Prof. Dr.	Tahsin SÖĞÜT
Üye :	Doç. Dr.	Gültekin ÖZDEMİR

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 19/02/2014

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-10-
ZF-134 NOLU PROJE) TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR**

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konumun 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.

Çiğdem ALTUNTAŞ
ŞUBAT 2014

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
KISALTMA VE SİMGELER.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Soğanlı Bitkiler İle İlgili Genel Hususlar.....	4
1.2. Amaryllidaceae Familyasının Genel Özellikleri.....	6
1.2.1. <i>Sternbergia</i> Walds. & Kit. Cinsinin Genel Özellikleri	8
1.2.2. <i>Sternbergia fischeriana</i> (Herbert) Rupr. Türünün Genel Özellikleri.....	9
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
3. MATERYAL ve METOT.....	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. <i>Sternbergia fischeriana</i> Bitkisinin Taksonomideki Yeri	18
3.1.2. <i>Sternbergia fischeriana</i> Bitkisinin Yetiştirildiği Deneme Alanının Toprak Özellikleri	19
3.1.3. Diyarbakır İlinin İklim Verileri	19

3.2.	Metot	20
3.2.1.	Eksplantların Ön Hazırlığı ve Sterilizasyonu	20
3.2.2.	Soğan Pullarının Elde Edilmesi	21
3.2.3.	Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Ortamları.....	22
3.2.4.	Kültür Koşulları	23
3.2.5.	<i>In vitro</i> Çalışmalar	23
3.2.5.1.	Soğan Rejenerasyonu.....	23
3.3.	İstatistiksel Değerlendirmeler.....	24
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA	25
4.1.	Bulgular	25
4.1.1.	<i>S. fischeriana</i> Pul Yapraklarından Soğan Rejenerasyon Çalışmaları	25
4.1.1.1.	<i>S. fischeriana</i> pul yapraklarından 15°C’de soğancık rejenerasyonu	25
4.1.1.2.	<i>S. fischeriana</i> pul yapraklarından 24°C’de soğancık rejenerasyonu.....	28
4.1.1.3	<i>S. fischeriana</i> bitkisinin <i>in vitro</i> koşullarda elde edilen soğanların köklendirilmesi.....	30
4.2.	Tartışma.....	32
5.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	35
5.1.	Sonuçlar	35
5.2	Öneriler	35
6.	KAYNAKLAR	37
	ÖZGEÇMİŞ	43

ÖZET

Sternbergia fischeriana (HERBERT) RUPR.'NİN *IN VITRO* MİKROÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çiğdem ALTUNTAŞ

DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BITKİLERİ ANABİLİM DALI

2014

Sternbergia fischeriana (Herbert) Rupr. bitkisi gösterişli sarı çiçeklere sahip olup süs bitkiciliğinde kesme çiçek olarak kullanılmakta ve ayrıca tıbbi açıdan önemli sekonder metabolitleri içermektedir. Büyük alanlarda üretim soğandan gelişmenin yavaş olması ve çiçeklenme ve tohum bağlayacak olgun bir soğan elde etmek için 5 yıllık bir süre gerektirmesi tarımını sınırlandırmaktadır. Bu çalışma ile farklı büyüklüklerde (0.5, 1 ve 1.5 cm) ve farklı sayıda pul soğanları içeren (2, 3, 4, 5 adet pul yaprak) taban meristematik dokuyu içerecek şekilde 12 adet eksplant kullanarak söz konusu uzun üretim dönemini kısaltmayı amaçlamaktadır. Eksplantlar soğan oluşturmak için 1, 2, 3, 4, 5 mg/L 2,4-D ve/veya 0.5, 2.5, 4.5, 6.5 ve 8.5 mg/L BAP ve köklendirme için 0.2 mg/L NAA içeren ve içermeyen ve 30 g/l şeker ve katılaştırma için 6.2 g/l agar içeren ortamlarda 15 ve 24 derecelik inkübasyon ortamlarında kültüre alınmışlardır. Elde edilen sonuçlar, 2,4-D'nin bütün eksplantlarda ve her iki sıcaklık ortamında soğancık oluşturmadığını göstermektedir. 2, 3, 4 ve 5 pul yaprağı içeren ve 0.5, 2.5, 4.5, 6.5 ve 8.5 mg/L BAP içeren basal MS ortamında 15 ve 24 derece sıcaklıklarda değişik sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek soğancık oluşumu 4.97 adet soğancık ile 0.5 cm uzunluğunda ve 2 adet pul yaprağı içeren eksplantlardan 8.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Köklendirme ½ MS ve 0.2 mg/L NAA içeren ortamında gerçekleştirilmiştir. Köklendirme soğancık büyüklüğüne bağlı olarak değişiklik göstermiştir. En yüksek köklendirme 0.47 cm çapındaki soğancıklardan 4.33 adet eksplant başına kök sayısı olarak belirlenmiştir. Soğancıklar başarılı bir şekilde sera koşullarına aklimatize edilmişlerdir. Sonuçlar *S. fischeriana*'da, soğan çapına bağlı olarak, köklendirmenin uzun sürmediğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Sternbergia fischeriana*, mikro çoğaltım, bitki büyüme düzenleyicileri

ABSTRACT

IN VITRO MICROPROPAGATION OF *Sternbergia fischeriana* (HERBERT) RUPR.

MSc THESIS

Çiğdem ALTUNTAŞ

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

2014

Sternbergia fischeriana (Herbert) Rupr. has attractive golden yellow flowers used in ornamental cut flower industry that also contain many medicinally important secondary metabolites. Their large scale cultivation is inhibited as their bulbs grow very slowly and take about 5 years to mature, flower and set seeds. The study aimed to reduce this period through culture of 12 different types of explants i.e. 0.5, 1 and 1.5 cm long two, three, four and five scale bulb explants attached to a thin segment of basal plate. The explants were cultured for bulblet induction on MS medium containing 1, 2, 3, 4, 5 mg/L 2, 4-D or 0.5, 2.5, 4.5, 6.5 and 8.5 mg/L BAP with or without 0.2 mg/L NAA supplemented with 30 g/l sucrose and solidified with 6.2 g/l agar at 15 and 24°C. The results showed that the 2, 4-D failed to induce bulblet regeneration at both temperatures on any type of explant. Variable results were obtained on twelve type of explants containing 2, 3, 4, and 5 scales attached by basal segment cultured on MS medium containing 0.5, 2.5, 4.5, 6.5 and 8.5 mg/L BAP at 15 and 24°C. Maximum number of 4.97 bulblets per 0.5 cm long two scale bulb explant was obtained on MS medium containing 8.5 mg/L BAP-0.2 mg/L NAA. The rooting was obtained on ½ strength MS medium containing 0.19 mg/L NAA. The rooting was affected by the size of bulblet. The maximum bulblet regeneration was recorded on bulblets having diameter of 0.47 cm inducing mean number of 4.33 roots per explant with mean root length of 3.73 cm. The results showed that rooting of bulbs did not take long time depend on bulb diameter.

Key words: bulblet regeneration, *Sternbergia fischeriana*, bulb scale explants

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Deneme Alanı Toprağının Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	19
Çizelge 3.2	2010 ve 2011 yıllarına ait Diyarbakır ili meteorolojik verileri..	20
Çizelge 3.3.	MS (Murashige ve Skoog) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları.....	22
Çizelge 3.4.	Kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve stok çözelti konsantrasyonları.....	23
Çizelge 3.5.	<i>S. fischeriana</i> soğancık üretimi için kullanılan hormonlar ve dozları	23
Çizelge 4.1..	<i>S. fischeriana</i> bitkisinde 15 °C 16/8 fotoperyotta farklı explant ve BAP ve NAA ortamlarından elde edilen varyans analiz sonuçları.....	26
Çizelge 4.2.	<i>S. fischeriana</i> bitkisinde 15 °C 16/8 fotoperyotta farklı explant ve BAP ve NAA ortamlarından elde edilen soğan oluşum oranı ve explant başına soğan sayısı ortalama değerleri.....	28
Çizelge 4.3.	<i>S. fischeriana</i> bitkisinde 24 °C 16/8 fotoperyotta farklı explant ve BAP ve NAA ortamlarından elde edilen varyans analiz sonuçları.....	29
Çizelge 4.4.	<i>S. fischeriana</i> bitkisinde 24 °C 16/8 fotoperyotta farklı explant ve BAP ve NAA ortamlarından elde edilen soğan oluşum oranı ve explant başına soğan sayısı ortalama değerleri.....	30
Çizelge 4.5.	Farklı ortamlardan geliştirilen <i>S. fischeriana</i> soğanlarının 0.75 NAA içeren MS ortamında yapılan köklendirme çalışmaları sonuçları (ortalama değerler).....	31

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Kormlu geofitlerin şematik görüntüsü.....	4
Şekil 1.2.	Yumru yapısındaki geofitlerin şematik görüntüsü.....	5
Şekil 1.3.	Rizom yapısında geofitlerin şematik görüntüsü.....	5
Şekil 1.4.	Gerçek bir soğanın şematik görünüşü	6
Şekil 1.5.	<i>Stenbergia lutea</i> ve <i>Sternbergia clusiana</i> ait görüntüler.....	7
Şekil 1.6.	<i>Stenbergia fischeriana</i> bitkisinin çiçekli görünümü.....	9
Şekil 3.1.	Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesi'nde yetiştirilen <i>S. fischeriana</i> bitkisinin görünümü	17
Şekil 3.2.	<i>S. fischeriana</i> bitkisinin deneme tarlasından sökülmüş (sol) ve yüzey sterilizasyonundan önce kabukları ayıklanmış, yıkanmış soğanlarının görünümü	20
Şekil 3.3.	<i>In vitro</i> çalışmaların yapıldığı steril kabin, bitki büyütme dolabı ve hazırlık odasının görünümü.....	21
Şekil 3.4.	Steril kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu yapılmış soğanlardan pul yapraklarının alınması çalışmaları.....	21
Şekil 4.1.	<i>S. fischeriana</i> 'da soğan pullarından yavru soğan ve sürgün oluşumu...	26
Şekil 4.2.	<i>S. fischeriana</i> bitkisinde 0.47 cm'lik soğanlardan <i>in vitro</i> koşullarda elde edilen kök oluşumu.....	30

KISALTMA VE SİMGELER

2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksi asetik asit
BAP	: 6-Benzilaminopurin
NAA	: α -Naftalen asetik asit
ABA	: Absisik Asit
IAA	: İndolasetik Asit
IBA	: İndolbütirik Asit
2iP	: 6-dimetilaminopürin
B5	: Gamborg B5 Ortamı
MS	: Murashige and Skoog temel besin ortamı
TDZ	: Thidiazuron
cm	: Santimetre
g/L	: Gram/litre
mm	: Milimetre
mg/L	: miligram/litre
°C	: Santigrat derece (Celcius)
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromol
IUCN	: Doga ve Dogal Kaynakların Korunması için Uluslar arası Birlik
EN	: Endangered (nesli tehlike altında)
CR	: Critically Endangered (nesli tükenme tehlikesi altında)
CITES	: Nesli Tehlikede Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine ilişkin Sözlesme

1. GİRİŞ

Soğan; yeraltında depo organına sahip bitkileri tanımlamak için kullanılan genel bir kavramdır. Soğanlı bitki, yılın büyük bir kısmını toprak altında soğan, yumru korm (cormus) veya rizom şeklinde geçiren, çoğu ilkbaharda, bir kısmı da sonbaharda güzel ve gösterişli çiçekler açan bitkilere denir. Bu bitki grubuna aynı zamanda geofit (yer bitkisi) adı da verilir. Soğanlı bitkilere en iyi örnek lale, sümbül, süsen, zambak ve nergisidir. Diğer geofit olarak bilinen bitkiler farklı depolama organlarına sahiptirler. Glayöl, safran (korm), *Dahlia* (yumru) ve bazı süsenler (rizom) bu gruba örnek olarak verilebilir (De Hertogh ve Le Nard 1993; Kızıllı 2005).

Doğada yetişen soğanlı bitki türlerinin erken ilkbaharda bazen de kar ile birlikte çiçek açmaları, insanlar tarafından baharın müjdecisi olarak yorumlanmış ve yetiştirildiği yerlerden sökülerek park ve bahçelere dikilmeye başlanmıştır. Çiçek soğanları dünyada en çok sevilen çiçekler arasında yer alarak her geçen gün popülariteleri artmaktadır (Atay 1996).

Türkiye’de süs bitkileri üretiminin % 48’ini kesme çiçek, % 47’sini dış mekân bitkileri, %3’ünü iç mekân bitkileri, % 2’sini ise çiçek soğanları oluşturmaktadır. Doğal çiçek soğanları sektörü her ne kadar büyük oranda doğadan toplamaya bağlı olsa da diğer taraftan son yıllarda doğal çiçek soğanlarının kültüre alınıp üretilmeleri önem kazanmaya başlamıştır. Bu konuda *Lilium*, *Leucojum*, *Fritillaria* ve *Stenbergia* gibi türler kültür arazilerinde üretilebilirken, Türkiye’nin önemli ihrac türlerini oluşturan *Galanthus*, *Eranthis*, *Anemone* ve *Cyclamen* doğal ortamlarında üretilebilmektedir (Karagüzel ve ark. 2007).

Türkiye’de kesme çiçek olarak değerlendirilen kültür çiçek soğanlarının üretimi ise yaklaşık 3.476 da’lık bir alanda yapılmakta olup üretim bakımından önem arz eden iller, Antalya, İstanbul, İzmir, Kocaeli ve Yalova’dır. En çok yetiştirilen soğanlı kesme çiçek türleri glayöl (*gladiolus*), nergis (*narcissus*), zambak (*lilium*) ve sümbül (*Hyacinthus*)’dür (Karagüzel ve ark. 2007).

Hem doğanın korunması hem de ekonomik açıdan önem taşıyan bitki türlerimizin geleceği, doğal yaşam alanlarının tahrip edilmesi ve ticari amaçlarla doğadan aşırı toplama gibi nedenlerle tehdit altında bulunmaktadır. Süs bitkisi olarak değerlendirilmek üzere yurtdışına gönderilen soğan ve yumruların % 90’lık kısmı

doğadan sökülmemekte olup, geriye kalan % 10'luk kısmı ise kültürü yapılan türlerden oluşmaktadır. Her yıl doğadan yapılan sökülme, özellikle *Galanthus ssp.*'de doğal popülasyonun hızla azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda da Türkiye geofitleri yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmaktadır (Ekim ve ark. 1991; Ildır 1993).

Türkiye florasında da yaklaşık 700 adet soğanlı bitki türü bulunmaktadır (Koyuncu 2000). Bu tür zenginliği göz önüne alındığında ülkemiz coğrafyası bu bitkilerin yetiştirilmesi bakımından oldukça uygundur. Soğanlı bitkilere ait ihtiyaç duyulan bitkisel materyalin karşılanmasında, doğadan toplama yerine yeterli miktarda üretiminin yapılması doğayı korumanın gerekliliği de gün geçtikçe daha iyi anlaşılmaktadır.

Yeryüzünde yaklaşık 22 cinsi bulunan Amaryllidaceae familyasının bir üyesi olan *Sternbergia Walds. et Kit.* yeryüzünde Batı Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar yayılmış 9 türü bulunan ve Türkiye'de ise 7 türle temsil edilen küçük bir cinstir. Bu cinsin *S. schubertii* Schenk ve *S. candida* Mathew & Baytop türleri Türkiye (Batı Anadolu) için, *S. greuterina* Kamari & Artelari ise Yunanistan (Güney ege adaları) için endemiktir. *S. pulchella* Suriye ve Lübnan'da, *S. clusiana* (Ker-Gawler) Ker-Gawler ex Sprengel. ve *S. fischeriana* (Herbert) Rupr. Anadolu ve Asya'da, *S. colchiciflora* Waldst. & Kit. Güney Avrupa, Balkanlar, Batı Suriye, İran, Kırım ve Kafkasya'da, *S. sicula* Tinea ex Guss. Ege adaları, İtalya, Sicilya, Yunanistan ve Batı Anadolu'da, *S. lutea* (L.) Ker-Gawl. Ex Sprengel ise İspanya'dan Türkiye'ye kadar uzanan alanlarda yayılış göstermektedir (Dane 1999).

Sternbergia fischeriana (Herbert) Rupr., ormanlık alanlar, çalılıklar, maki içi ve açıklıkları ile taşlı yamaçlarda, deniz seviyesi ile 1.800 m. rakımlı bölgeler arasında yayılış gösterir. Kalkerli yataklardan oluşan organik madde bakımından zengin toprakları tercih eder. Ülkemizde Akdeniz, Güney ve Batı Anadolu ile Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştiği bilinen bir türdür (Duman ve ark. 2002). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Şırnak ili Eruh ilçesine bağlı Paris Köyü 850 m rakımda (Kızıl ve ark. 2012) ve Şanlıurfa iline bağlı Bozova ilçesinde 550 m rakımda yayılış göstermektedir (Eker ve ark. 2008).

Amaryllaceae familyasına özgü alkaloid içeren bu familyaya ait bitkiler antimikrobiyal, antiviral, antitumor ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilere sahiptirler. Bu familyaya özgü bir alkaloid olan galanthamin Alzheimer ve diğer nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Mirici ve ark. 2005).

S. fischeriana ayrıca erken ilkbaharda (Şubat) çiçek açan albenili sarı çiçeklerinden dolayı potansiyel bir süs bitkisidir. *S. fischeriana* tohumla çoğaltılabilir, bununla birlikte tohumdan çiçeklenme kapasitesine erişinceye kadar beş veya daha fazla yıl geçmesi gerekmektedir. Soğandan çoğaltma oranı da oldukça düşük olup 3 yıllık periyotta 1–3 soğan oluşmaktadır. Soğan oluşturma kapasitesinin düşük olması geniş alanlarda üretimi sınırlandırmaktadır (De Hertogh ve Le Nard 1993). Diğer taraftan bitki doku kültürü teknikleri tarla üretimi için hızlı ve fazla miktarlarda üniform bitki üretimine olanak sağlamaktadır.

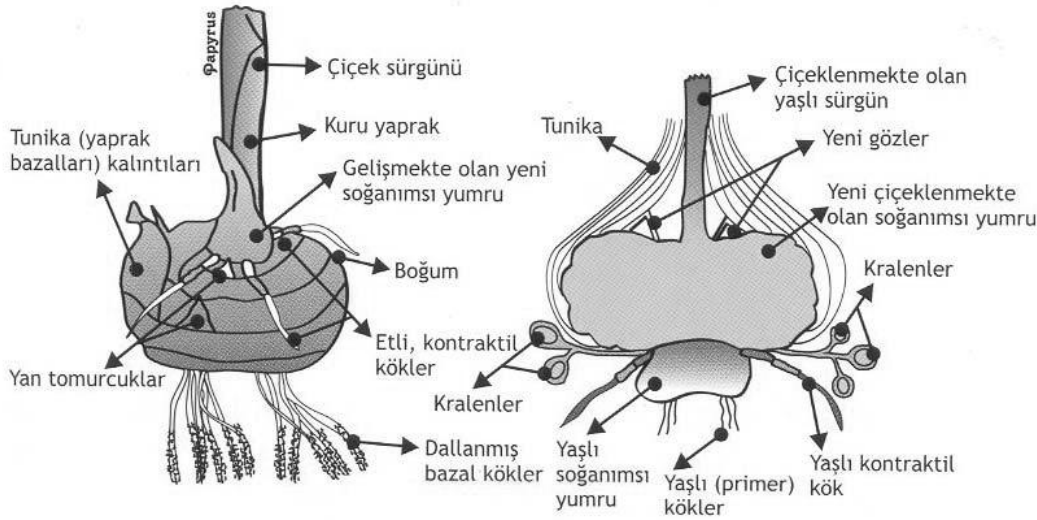
Başlangıç materyali olarak olgunlaşmamış embriyo kullanılması segregasyondan (açılım) dolayı arzu edilmemektedir. *Sternbergia* türlerinde yabancı tozlanma oldukça düşük olup tohumdan çoğalma oranı doğal florada oldukça yüksektir. Buna paralel olarak, *S. fischeriana*'da olgunlaşmamış embriyo gibi yüksek rejenerasyon yeteneğine sahip organlar mikro çoğaltımda alternatif explant kaynağı olarak olmaktadır.

Bu çalışma ile Güneydoğu Anadolu Bölgesinde az da olsa yayılış gösteren ve yüksek ekonomik potansiyele sahip *S. fischeriana* bitkisinin gerek ihracatı, gerekse yurt içindeki süs bitkisi yetiştiriciliği alanında da tanınan bir bitki olarak yaygınlaştırılması esas alınıp, üretimin artırılması gerektiği duyulmuştur. Geleneksel olarak bu bitki hem tohumla hem de soğanlardan vejetatif olarak çoğaltılmaktadır. Ancak tohumla çoğaltımda genetik varyasyon oldukça fazla olduğundan çiçek kalitesi bakımından bir örnek bitki elde edilmesi zor olmaktadır. Ayrıca, şekilde vejetatif yolla soğanlarından üretilmesinde de çoğalma katsayısı ve hızı oldukça yavaş olmaktadır. Dolayısıyla doku kültürüyle çoğaltım, sorunun ortadan kaldırılmasında önemli bir katkı sağlayabilmektedir. Etkin bir doku kültürü tekniği geliştirilmesi halinde, çoğaltılmasında sorun bulunan ve istenen sayıda materyalin kısa sürede elde edilmesi mümkün olmayan türlerde, ticari anlamda önemli kazançlar sağlanabilmektedir. Bu tez çalışmasında, Türkiye ve Güney doğu Anadolu için önemli özgül *S. fischeriana* (Kış nergisi)'nin *in vitro* koşullarda doku kültürü yoluyla çoğaltılabilmesi amaçlanmıştır.

1.1. SOĞANLI BİTKİLER İLE İLGİLİ GENEL HUSUSLAR

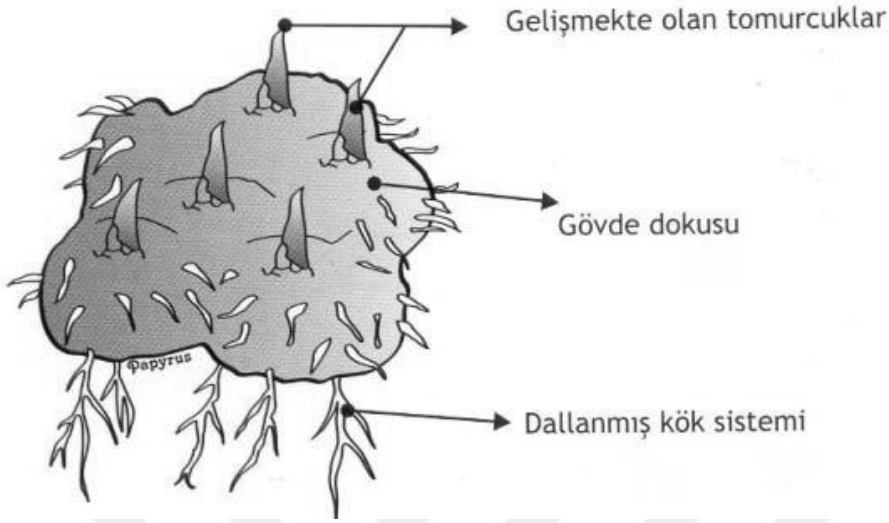
Soğanlı, yumrulu, kormlu ve rizomlu bitkilerin hepsi genel olarak soğanlı bitki olarak adlandırılır. Bu bitkilerin toprak altındaki organlarının öncelikli fonksiyonu; besin maddelerini, gıda kaynaklarını, nemi, mevsimsel gelişme ve büyüme için depolamak ve böylelikle türlerin yaşamasını ve devamını sağlamaktır.

Kormlu bitkilerde; yetiştirme mevsimi süresince, bitki etli gövdedeki depo besinini kullanır ve mevsim sonunda eskisinin üzerinde yeni bir korm oluşturur (Şekil 1). Eski korm büzülür ve ölür. Kökler, korm'un altından oluşur aynı zamanda korm'un dış yüzeyinde ikinci derecede küçük tomurcuklar vardır. Eğer ana gövdedeki sürgün hasar görmezse bunlar dormant kalırlar. Korm'lu bitkilere Crocus, Freesia, Glayöl örnek verilebilir (Kızıl 2005; Seyidoğlu 2009).



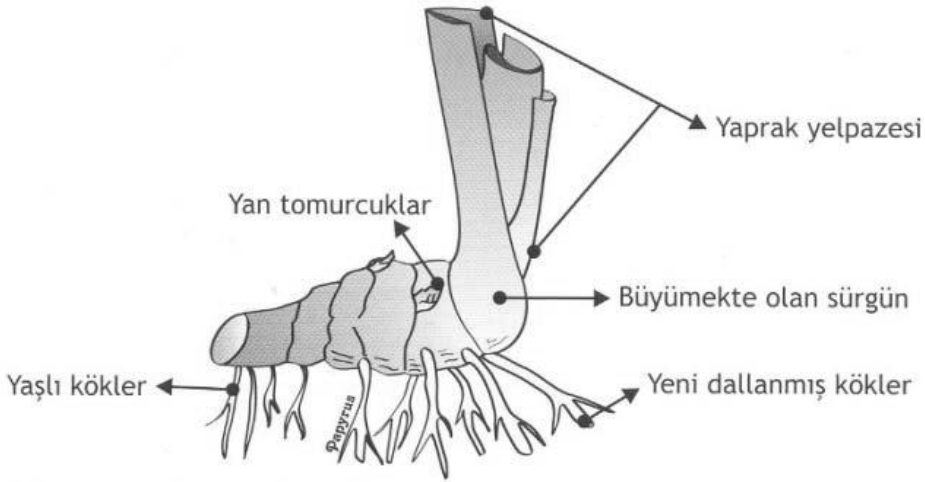
Şekil 1.1. Kormlu geofitlerin şematik görüntüsü (De Hertogh ve Le Nard (1993)'e atfen Seyidoğlu 2009)

Yumru; bir veya daha fazla apikal göze sahip genişlemiş bir gövde dokusundan oluşur. Yumruda, soğanlardaki gövde kısmı yoktur ve kabuk ile çevrilmemiştir. Soğanlarda besin gövde ve yaprak dokusunda bulunurken yumruda kök dokusunda bulunur. Yetişme mevsimi boyunca bitki etli yumrudaki depo besinini kullanır. Mevsim sonunda yeni yumrular oluşur. Caladium örnek olarak verilebilir Yumrunun dip kısımlarında kök tomurcukları gelişmiş durumdadır. Yumrunun kesitinde, soğanlardaki gibi halka halinde tabakalar görülmez. Genellikle her yönden kök sürme yeteneğine sahiptir (De Hertogh ve Le Nard 1993).



Şekil 1.2. Yumru yapısındaki geofitlerin şematik görüntüsü (De Hertogh ve Le Nard (1993)'e atfen Seyidoğlu 2009)

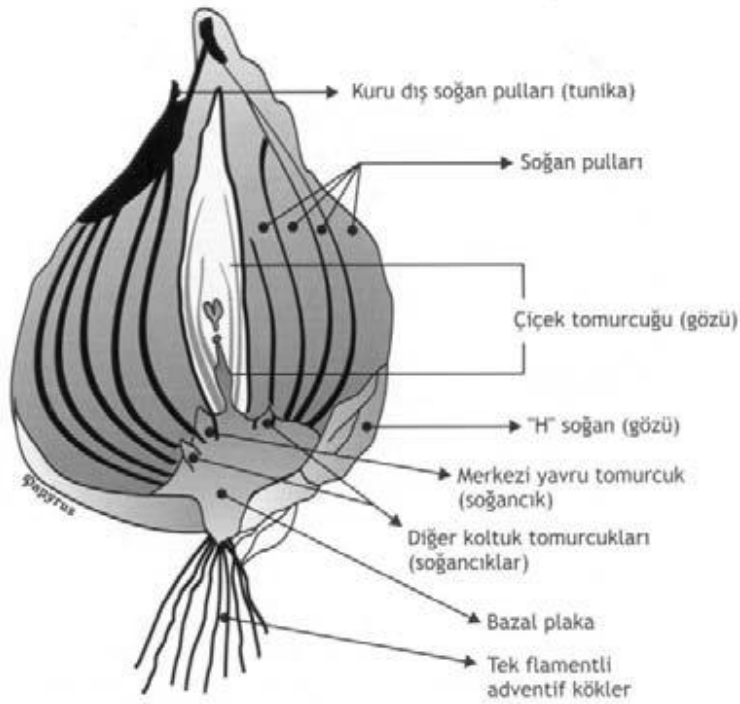
Rizom; üzerinde boğum ve boğum araları bulunan, etli bir yapıya sahip, yatay olarak büyüyen, özelleşmiş bir gövdedir. Calla'da olduğu gibi, genelde sürgün ve köklerin tamamı gövdeye dik olarak gelişir.



Şekil 1.3. Rizom yapısında geofitlerin şematik görüntüsü (De Hertogh ve Le Nard (1993)'e atfen Seyidoğlu 2009)

Gerçek soğanlar, bitki gövdesi ve yapraklardan oluşan toprak altı depo organıdır. Dip kısmı ince, disk şeklinde olup bir veya daha fazla apikal meristemi olan,

birçok pullarla bütünleşmiş kısa bir gövdeye sahiptir. Aynı zamanda bu gövde adventif kökleri de ihtiva eder. Sıkıştırılmış bu kısımdan gövde ve kökler oluşur. Soğanın gövdesi etli yaprak kısımlarından oluşur. Yetiştirme mevsimi boyunca, bitki etli pullarda depoladığı besini kullanır ve mevsim sonunda besin gelecek yıl için yeni yaprak pullarına taşınır. Eski yaprak pulları soğan kabuğunu oluşturarak yeni soğanı çepeçevre sarar. Soğanlar gelişme mevsimini tamamlayıp yaprakları kurduktan sonra toprak altında uyku durumunda bir sonraki gelişme dönemini beklerler.



Şekil 1.4. Gerçek bir soğanın şematik görünüşü (De Hertogh ve Le Nard (1993)'e atfen Seyidoğlu 2009)

1.2. AMARYLLIDACEAE FAMILİYASININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Türkiye dünyanın en zengin floristik merkezlerinden biridir. Bunun nedeni yurdumuzun jeolojik yapısı, iklimsel durumu ve Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz olmak üzere üç farklı fitocoğrafik bölgeye sahip olmasıdır (Güner 1994). Yurdumuz geofit adı altında toplanan soğanlı, rizomlu, tuberli bitki türleri açısından çok zengindir.

Geofitler toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi gıda maddesi depo eden özelleşmiş toprak altı gövdeleri taşıyan otsu bitkilerdir.

Geofitler, bitkiler aleminde Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta) bölümünde Kapalı Tohumlu Bitkiler alt bölümünde yer alır. Bu grup Tek Çenekli Bitkiler (Liliopsida) ve Çift Çenekli Bitkiler (Magnoliopsida) olmak üzere iki sınıfa ayrılır.

Geofitler çoğunlukla ilkbahar ve sonbahar aylarında toprak üzerinde görülmektedir. İlkbahar ve sonbahar aylarında yağmurların başlaması ve sıcaklığın normale dönmesi ile hızlı bir gelişme göstererek yaprak, çiçek ve tohum oluşturmaktadırlar (Koyuncu 1994).

En son düzenlemelere göre yurdumuzdan ihraç ettiğimiz geofitler 14 cinse ait 21 türü kapsamaktadır. Bu 21 türün 6'sı sadece kültürü yapılarak üretilenlerden, 4'ü hem üretim hem de doğadan, 11'i ise yalnızca doğadan toplanarak ihraç edilmektedir. Üretimden ihraç edilen *Lilium candidum* (Liliaceae) ve *Sternbergia lutea* (Amaryllidaceae) türleri hariç, diğer tüm geofitler – üretim veya doğadan yapıldığına bakılmaksızın – kontenjana tabi olarak ihraç edilmektedir. Bu türlerin kontenjanları 1.000–7.000.000 adet arasında, toplam ihracat miktarları da yıllara göre 27 ile 30 milyon adet arasında değişmektedir (Arslan ve ark. 2004).



Sternbergia lutea



Sternbergia clusiana

Şekil 1.5. *Stenbergia lutea* ve *Sternbergia clusiana* bitkilerinin çiçekli görünümü

Sternbergia cinsinin de dâhil olduğu Amaryllidaceae familyasına ait cins ve türlerin büyük çoğunluğu süs bitkisi olarak dış ve iç mekânlarda kullanılmaktadır.

Amaryllidaceae familyası yurdumuzda ithal yoluyla getirilip süs bitkisi olarak çoğaltılanlar hariç 5 cins ve 33 türle temsil edilmektedir. Bunlardan *Galanthus elwesii*, *G. woronowii*, *Leucojum aestivum* ve *Sternbergia lutea* türlerinin soğanları ihraç edilmektedir (Arslan ve ark. 2004).

Liliales ordusuna ait olan Amaryllidaceae (Nergisgiller) familyası, 85 cinse ait yaklaşık 1100 tür içeren bir bitki topluluğudur (Ünver, 1999). Amaryllidaceae familyası bitkileri tek çenekli, tropik ve subtropik bölgelerde yayılma gösteren ve toprakaltı kısımları soğan, kormus veya rizom şeklinde olan çok yıllık otsu bitkilerdir. Yaprakları yassı, linear, bazen etli, sert ve liflidir. Liliaceae' ye benzeyen bu familya, ovar yumun alt durumlu olması, perigonun bazen parakorolla taşınması ve yapraklarının hiçbir zaman kladot şekline dönüşmemiş olması gibi özellikleriyle ondan ayrılır. Çoğu güzel çiçekli olduğu için süs bitkisi olma yönünden önemli bir familyadır (Tanker ve ark. 1998).

Amaryllidaceae bitkilerinin kokuları, esans endüstrisinde oldukça değerlidir. Bu nedenle uçucu bileşenleri oldukça ilgi çekmektedir (Amina ve ark. 2008).

Amaryllidaceae türleri (Nergisgiller) soğanlı bitkiler olup, yıl boyunca yeraltında (toprağın içinde) olmalarına rağmen, bahar aylarında renkli çiçekler açmaktadırlar. *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. bitkisinin taksonomideki yeri aşağıda verilmiştir. (Davis 1984).

1.2.1. *Sternbergia* Walds. & Kit. Cinsinin Genel Özellikleri

Amaryllidaceae familyasının bir üyesi olan *Sternbergia* Walds. & Kit. (*Sternbergia* Waldstein & Kitaibel) cinsi dünyada Batı Avrupa'dan Orta Asya'ya kadar yayılmış 9 türü bulunan ve Türkiye'de ise 7 türle temsil edilen bir cinstir. Bu cinsin *S. schubertii* Schenk ve *S. candida* Mathew & Baytop türleri Türkiye (Batı Anadolu) için, *S. greuterina* Kamari & Artelari ise Yunanistan (Güney Ege adaları) için endemiktir. *S. pulchella* Suriye ve Lübnan'da, *S. clusiana* (Ker-Gawler) Ker-Gawler ex Sprengel. ve *S. fischeriana* (Herbert) Rubr. Anadolu ve Asya'da, *S. colchiciflora* Waldst. & Kit. Güney Avrupa, Balkanlar, Batı Suriye, İran, Kırım ve Kafkasya'da, *S. sicula* Tinea ex Guss.

Ege adaları, İtalya, Sicilya, Yunanistan ve Batı Anadolu'da, *S. lutea* (L.) Ker-Gawl. Ex Sprengel ise İspanya'dan Türkiye'ye kadar uzanan alanlarda yayılış göstermektedir (Dane 1999).

15.11.2008 tarih ve 27055 sayılı T.C. Resmi Gazete’de yayınlanan Doğal Çiçek Soğanlarının 2009 Yılı İhracat Listesi Hakkında Tebliğ (No: 2008/62)’de *Sternbergia lutea* hariç tüm *Sternbergia* türlerinin doğadan toplanarak soğanlarının ihraç edilmesi yasaklanmıştır (T.C. Resmi Gazete, 2008). Bu cinse ait bitkiler çağlardan beri dekoratif amaçlı olarak kullanılmakla beraber, kültüre alınmaları pek yaygın değildir.

1.2.2. *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. Türünün Genel Özellikleri

Sternbergia fischeriana (Herbert) Rupr. soğanı 2.5–3.5 cm. çapındadır. 4 ile 7 adet yaprağa sahip olmakla beraber, yapraklar ve çiçek birlikte gelişim gösterir ve düz, damarsız veya çok az damarlı, 6–12 mm. genişliğinde, gri-yeşil veya parlak yeşil renktedir. Çiçeklenme döneminde, çiçek sapının toprak üstü kısmı yaklaşık 3–15 cm uzunluğundadır. Çiçek rengi genellikle açık sarıdır, çiçekler sessil veya yaklaşık 5 mm uzunluğunda çiçek sapı üzerinde yer almaktadır (Davis 1984; Dostbil ve Ağaoğlu 2003).

Çiçeklenme dönemi yılın 1. ile 3. ayları arasındadır (Duman ve ark., 2002). *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. türü hem kesintili yayılış göstermekte hem de bulunduğu lokasyonlarda oldukça az fertle temsil edilmektedir. Ayrıca gösterişli çiçeklere sahip olması nedeniyle az da olsa soğanları toplanmaktadır. Bu nedenle popülasyonlar gittikçe zayıflamaktadır. Ülkemizdeki nadir bitkilerden biri olarak kış nergisinin doğal yaşam alanlarında korunması önem arz etmektedir.

Türkiye Bitkileri Veri Servisi (TUBİVES) veri tabanlarına göre *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. taksonu Türkiye’de C2, C5 ve C6 karelerinde bulunmaktadır (Anonim 2009).



Şekil 1.6. *Stenbergia fischeriana* bitkisinin çiçekli görünümü

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tymoszuk ve ark. (1979), *Tulipa* ve *Muscari botryoides* soğanları, değişik oranlarda GA₃ ile muamele edilmiştir. Çalışma sonucunda GA₃ ün her iki türde de bitki morfolojisine ve gelişiminde etkisi tespit edilmiştir. *Tulipa* bitkisinde 51 gün soğuk muamelesi sonucunda ekim ayında GA₃ ile aşılınmış soğanlarda çiçeklenmede artış görülmüştür. *Muscari botryoides* 'te ise 51 gün soğuk muamelesi sonucunda ve ekim ayında GA₃ ile muamelesinde aşılınması ile çiçeklenmede artış görülmüş olmasına rağmen, çiçek sapında ve yapraklarda inhibisyon gözlenmiştir

Kukulczanka ve ark., (1989), *F. Meleagris* L. türünün doku kültürü ile çoğaltılması konusunda yaptıkları çalışmalarında pul yaprağı parçalarından veya tüm soğancıklardan *in vitro* koşullarda adventif soğancıklar oluşturmuşlardır. En yüksek soğancık oluşumu, denenen besin ortamı bileşimleri arasında 1.0 mg/L NAA ve 2.0 mg/L BA içeren MS ortamında meydana gelmiştir.

Wendy ve ark. (1991), Nergis bitkisinin sürgünlerinden elde edilen soğancıklar bitki büyüme düzenleyici madde içermeyen ortamlarda soğan elde etmek üzere 20 °C'de aydınlık ve karanlıkta kültüre alınmıştır. Soğan çoğaltım ortamına aktif kömürde ilave edilmiştir. Tüm soğancıklar 5 °C'de soğuk muamele yapılmıştır. Çeşide bağlı olarak % 47,8 – 81,2 oranında şaşırtma da başarı elde edilmiştir. En iyi sonuçlar 0,2 g'dan daha ağır olan soğancıklardan bulunmuştur. Yüksek oranda şeker kullanımı soğan çaplarında artış sebebi olmuştur. Ancak sukroz miktarının yükseltilmesi ile soğanlardan çıkan yapraklarda erken sararma ve fazla dormansi gözlenmiştir. Karanlık ortamda rejenera olan soğancıkların, ağırlık artışı ve tarlada da şaşırtmada olumlu etkisi olmadığı tespit edilmiştir

Kromer ve Kukulczanka (1992) *Muscari botryoides* Mill. bitkisinde, epidermal ve alt epidermal eksplantlar kullanılarak farklı konsantrasyonlarda IBA ve BAP içeren besin ortamlarında morfolojik değişiklikleri incelenmiştir. Çalışmada, sezona bağlı olarak ekplantların rejenerasyon kabiliyetinin değiştiği görülmüştür. Eylül ayında toplanan bitkilerden alınan eksplantlarında rejenerasyon %10 iken, mayıs ayında toplanan bitkilerden alınan ekplantlarda %56 rejenerasyon ve eksplant başına 1-2 soğancık gözlenmiştir. Rejenerasyon ve soğan sayısı bakımından en iyi ortam 0,2-2 mg/L IBA ve 1-2 mg/L BAP kombinasyonlarında elde edilmiştir. Soğan çapları oksin

konsantrasyonuna bağılı olarak değişmiştir. IBA konsantrasyonun yükseltilmesi ile oransal olarak soğan çapı, yaş ve kuru ağırlık artmıştır. Yeni gelişen soğanlardan çıkan yaprakların uzaması, köklenmesi ve kallus oluşumunda oksinin belirgin bir etkisi olduğu görülmüştür. Ortamda BAP ve IBA birlikte bulduklarında soğan rejenerasyonunda etkili olmuştur ancak; bu kombinasyon kök oluşumunu durdurmuştur. Ortamda sadece oksin (2 mg/L IBA) bulunduğu zaman hem soğan rejenerasyonu sağlanmış, hem de kök oluşumunun durdurucu etkisinin önüne geçilmiştir.

Çakırlar ve ark. (1994) tarafından Amaryllidaceae familyasına mensup *Galanthus elwesii* ve *G. ikariae*'nin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılması için en uygun eksplant tipi ve besin ortamını araştırmışlardır. Araştırmacılar, tek veya çift yapraklı soğan pul yapraklı eksplantlarının en iyi soğancık oluşturma yeteneğinde olduklarını belirtmişlerdir. Besin ortamlarının soğancık oluşumu ve gelişimi üzerine etkili olduğu, *Galanthus* doku kültüründe MS ortamının uygun olduğu, Gamborg ortamının da soğancık oluşumunu önemli düzeyde artırdığı bildirilmiştir.

Baktır (1996) Amaryllaceae familyasına mensup *Galanthus elwesii* Hook' un doğal yetiştirme ortamında ihraç boyunun altındaki soğanlar ile yaptığı çalışmada, ana soğan sayısının azaldığını fakat yavru soğan sayısında artış olduğunu ve dikilen soğanların yaklaşık %51'inin ihracat boyuna ulaşabildiğini belirtmiştir.

Bonnier ve Van Tuyl (1997) *Lilium longiflorum* (zambak)'un genetik materyal olarak uzun dönem korunması için *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Rejenere olan 10 zambak genotipinin soğanlarını 28 ay -2 C° ve 25 C° de farklı dört ortamda (1/4 MS veya tam MS, % 9 veya % 6 sukroz) filiz büyümesi ile soğan büyümesine bakılmıştır. Tüm zambak genotiplerinde filizlenme ve soğan büyümesi açısından en iyi sonucun 1/4 MS ve % 9 sukroz içeren ortamda 26 de 28 ay depolanan uygulamadan elde edildiği bildirilmiştir.

Marinangeli ve Curvetto (1997) *Lilium longiflorum* hibritlerinde çalışmada genotip farklılığının soğanların ürettiği biomas ve sayısında geniş bir farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Aynı değişiklik TA (traumatic acid) ile muamele edildikten sonra da tespit edilmiştir. TA uygulaması soğan sayısını % 20'den % 40'a ve soğanların ağırlığını da % 20'den % 60'a çıkarmıştır. Düşük kaliteli soğanların

kullanılması soğanların biomasına ve sayısına olumsuz etki yapmış ve TA kullanımı bu olumsuzluğu ortadan kaldıramamıştır.

Bhagyalakshmi (1999) *Crocus sativus* L.'un ovaryum eksplantından direk adventif sürgün rejenerasyonu yapılarak, besin ortamının etkisi, inkübasyon koşulları ve eksplant yaşının etkisi incelenmiştir. *Crocus sativus* 53,7 µM NAA ve 4,4 µM BAP içeren MS ortamında karanlıkta 20°C 'da kültüre alındığında ovaryum başına 1,5 adet kallus ve sürgün oluşturduğu bildirilmiştir.

Selles (1999), *Narcissus confusus*'un iki hattının olgunlaşmamış tohumlarının alkaloid üretim kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Bu iki hattın, olgunlaşmış embriyo eksplantlarında kallus oluşumu, somatik embriyogenesis ve organogenesis kapasiteleri araştırılmıştır. Alkaloid içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Kallusların az miktarda galanthamin ürettiği ve galanthamin miktarının doku farklılaşmasının derecesiyle arttığı bildirilmiştir. Rejenere olan bütün bitkilerin morfolojik karakterler bakımından normal olduğu da belirtilmiştir.

Sage ve ark. (2000) *Narcissus pseudonarcissus* "Golden Harvest" çeşidinin yaprak eksplantlarından sürgün rejenerasyonu ve soğan eksplantlarından somatik embriyo elde edilmiştir. Denemelerde somatik embriyogenesis için yaprak laminası, yaprak tabanı, soğan pul yaprakları ve sap gibi eksplantlar kullanılmıştır. Somatik embriyogenesis için 5 µM 2,4-D ve 0,5 µM 2,4-D veya 5 µM BAP içeren ortamların başarılı olduğu ve sap eksplantının diğer eksplantlardan daha erken somatik embriyogenesis oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca, yaprak eksplantlarında 2,4-D'nin etkili olduğunu, picloramin ise etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Somatik embriyolar 4C' de 4,9 µM IBA içeren ortamda bitkiciklere dönüştürülmüş ve bu bitkiler *ex vitro* koşullara transfer edilmiştir.

Ziv ve Lilien-Kip (2000) *Allium*, *Dichelostemma*, *Eucrosia*, *Gladiolus*, *Haemanthus*, *Hyacinthus*, *Narcissus*, *Nerine* ve *Ornithogalum* cinslerine ait soğanlarla yapılan çalışmada çiçek kısımlarının, soğan pul yaprakları ve corm'lardan alınan apikal meristem uçlarının rejenerasyon kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Tüm türlerde genel olarak çiçekten alınan eksplantların soğan ve corm eksplantlarından daha başarılı olduğu bildirilmiştir.

Suzuki ve Nanako (2001).*Muscari armeniacum*'da etkili bir genetik transformasyon için yaprak eksplantlarından kallus elde edip organogenesis ve embriyogenesis başarılmıştır. Rejenere olan bitkilerin histolojik ve morfolojik analizinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır.

Wawroshch ve ark. (2001). Nepal'de çok yaygın olarak kullanılan *Lilium nepalense* D. Don tıbbi bitkisinde hızlı çoğaltım protokolü geliştirilmiştir. Uygun soğanlardan elde edilen çift pul yapraklardan yan soğanlar oluşmuştur. 20 µM içeren MS ortamda dikey kesilmiş pul yapraklardan çoğaltım meydana gelmiştir. 4 haftalık kültür sonunda 1 ekplant üzerinde ortalama 7 soğan çıktığı gözlenmiştir. Soğanlar köklenmeye alındıktan sonra *ex vitro* koşullara adapte olmuşlardır. Bu çalışma sonucunda oluşan soğanların tarla ekimi için uygun olduğu görülmüştür.

Duong ve ark. (2002).*Lilium longiflorum* bitkisinde soğan uçlarından alınan ince hücre tabakası kullanılarak somatik embriyogenesis çalışılmıştır. Ekplantlar üzerinde 45 gün sonunda yuvarlak şekilli embriyolar oluşmuştur. Somatik embriyo oluşumu için 4 µM NAA ile 1,1 µM TDZ içeren ortamlarda embriyo benzeri yapılar eksplantlar üzerinden alınıp 5,4 µM NAA ve 0,4 µM TDZ içeren ortamda büyümeye bırakılmıştır. En iyi somatik embriyo oluşumu; 0,8-1 mm kalınlığındaki eksplantlarda gözlenmiştir. Oluşan somatik embriyoları bitkiye dönüştürmek için, 30 g/l sukroz içeren MS ortama aktarılmıştır. Tüm embriyolardan, 90 gün sonunda bitki oluşumu gözlenmiştir.

Arslan ve ark. (2002), *S. fischeriana*'da çiçeklenme oranının düşük olduğunu, çiçeklenen soğanlar bakımından 4 cm çevre genişliğinden büyük soğanlardan yüksek çiçeklenmenin elde edildiğini bildirmişlerdir. Doğadan toplanan soğanlardan geç toplanan soğanların daha yüksek çiçeklenme gösterdiğini, erken dönemde toplanan soğanların düşük çiçeklenme oranına sahip olduklarını belirtmektedirler. Birinci yıl çiçeklenme oranının düşük olmasının aksine ikinci yıl daha yüksek oranda çiçeklenme kayıt edilmiştir. Araştırmacılar, meyve oluşturma bakımından birinci dikim yılında erken toplanan soğanların geç toplananlara göre daha az meyve oluşturduğunu ve ikinci yıl verilerinin birinci yıla göre oldukça yüksek olduğunu bildirmektedirler.

Suzuki ve Nanako (2002) *Lilium formosanum*, *Agapantus praecox ssp. orientalis* ve *M. armeniacum*'da yer aldığı Liliaceae'ye ait türler de *Agrobacterium*

aracılığı ile gen aktarım çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Agrobacterium*'un T-DNA bölgesinde *NptII*, *Hpt* ve *GUS* intron genlerini taşıyan binary vektör bulunduran üç hat kullanılmıştır. *L. formosanum*'un *A. tumefaciens*'le enfekte edilmiş kalluslarında ko-kültürasyonu sonrası hiçbir transgenik bitki elde edilememiştir. *A. praecox* ve *M. armeniacum*'da embriyonik kültürler higromisin içeren ortama alındığında çok sayıda higromisine dayanıklı hücre ve daha sonra gelişen kalluslarda somatik embriyogenesisle, transgenik bitkiler gözlenmiştir. Southern blot analizinin her türde de genin 1- 5 kopyasının genoma entegre olduğu tespit edilmiştir.

Arslan ve ark. (2003), *In vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia candida* ve *S. fischeriana* türlerinin öncelikle soğan pul yaprak eksplantları farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre almışlardır. Soğancık oluşturan eksplant oranı (% 75.99) ve eksplant başına soğancık sayısı (3.30 adet) birlikte değerlendirildiğinde en yüksek soğancık oluşumu *S. candida* türünde 4 mg/L BAP ve 0.50 mg/L KNA içeren besin ortamında 2 pul yapraklı soğan eksplantlarından elde edilmiştir. *S. fischeriana*'da ise en yüksek soğancık oluşumu (% 76.67 ve 2.59 adet) 2 mg/L BAP ve 0.50 mg/L KNA içeren ortamda yine 2 pul yapraklı eksplantlardan üretilmiştir. Öte yandan, *S. candida*'nın olgunlaşmamış zigotik embriyolarının 6 mg/L pikloram içeren besin ortamında kültüre alınmasıyla 1.5 yıl sonunda eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar büyüklüklerine göre sınıflandırılarak 5 °C de muhafaza edilmiştir. Soğancıklar bu şartlarda 5 hafta bekletildikten sonra toprağa aktarılmıştır. Ancak, toprağa aktarılan soğancıklarda ya gelişme olmamış ya da cılız bir gelişme gözlemlendiği bildirilmektedir.

Lian ve ark. (2003) Bir otomatik balon tipi reaktörde (BTBB) Lili (zambak) soğancıklarından çok sayıda soğan üretilmesi amaçlanmıştır ve reaktörde zambak soğancıklarına etkileyen faktörler araştırılmıştır. Materyal olarak *Lilium* oriyental hibrid Casablanca çeşidi kullanılmıştır. Her alt kültür sonucunda toplam yeşil soğan ağırlığında ve soğan çapında artış gözlenmiştir. En fazla soğan oluşumu 2-4,1 g ile 16 hafta sonunda elde edilmiştir. 16 haftalık çalışmanın ilk alt kültürü 4 hafta sonra 2. alt kültür ise 12 hafta sonunda yapılmıştır. Ortamdaki sukroz miktarı soğan çapına etkisi olduğu da tespit edilmiştir. En büyük soğanlar 90 g/l sukroz içeren ortamda görülmüştür.

Moran ve ark. (2003) *In vitro* koşullarda *Crytanthus spiralis* bitkisinin ikili pul yapraklarından en iyi adventif ve yan soğan oluşumu, 6 hafta sonunda 5 g aktif kömür içeren sıvı besin ortamında elde edilmiştir. Benzer sonuçlar 1 mg/L NAA–2 mg/L BAP ve 0,1 mg/L 2,4- D–1 mg/L BAP içeren içeren MS besin ortamında da gözlenmiştir. Soğanlar üzerinde gelişen sürgünlerin boyu karşılaştırıldığında, 1 mg/L NAA–2 mg/L BAP içeren ortamda gelişen soğanların daha uzun olduğu görülmüştür. En iyi sürgün gelişimi 1 mg/L NAA- 2 mg/L BAP içeren ortamda elde edilmiştir. Elde edilen soğanlar köklenme için % 6-9 sukroz içeren ortamlara aktarılmıştır. % 6 sukroz içeren ortamda hem köklenme hem de yapraklarda gelişme gözlenmiş, fakat % 9'luk sukroz içeren besin ortamında gelişen soğanlarda hacim ve ağırlık artışının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ortamlarda gelişen soğanlar 1 yıl sonra çiçeklenmiştir.

Khawar ve ark. (2005) Mis zambak (*Lilium candidum L.*) bitkisinin yaprak eksplantlarından MS içeren BAP-IBA'nın değişik konsantrasyonlarında, adventif soğan rejenerasyonu elde edilmiştir. Soğanlar seraya aktararak 2 sene sonunda tüm soğanlarda çiçeklenme gözlenmiştir.

Mirici ve ark. (2005) *In vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia fischeriana* türü farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Soğancık oluşturan eksplant sayısı 4 mg/L BA ve 0,25 mg/L NAA ya da 2 mg/L 2,4-D içeren besin ortamında eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar büyüklüklerine göre sınıflandırılarak, 5 hafta 5 °C de muhafaza edilmiş daha sonra toprağa aktarılmıştır.

Sevimay ve ark. (2005) Mis zambak bitkisinin pul yapraklarının alt kısmından ve *in vitro*'da gelişen yapraklarından, 2,22 µM BAP ve 2,69 µM NAA içeren MS ortamında adventif soğan oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen soğanlar 2,69 µM NAA içeren MS besin ortamında köklendirilerek büyüme odalarında adaptasyonları sağlanarak seraya aktarılmıştır. Bitkiler 2 sene sonra çiçeklenmiştir.

Parmaksız ve Khawar (2006). *Stenbergia candida* bitkisinde *in vitro* koşullarda olgunlaşmamış tohum kullanılarak somatik embriyogenesis için bir protokol geliştirilmiştir. *Stenbergia candida* bitkisi Muğla ve Antalya illerinde doğal olarak yetişen endemik bir türdür. En iyi sonuçlar 2 mg/L BAP- 0,50 mg/L NAA (Potasyum tuzu) içeren MS besin ortamında gerçekleşmiştir. Elde edilen soğanlar 5 g/l aktif

kömür içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir. Ortama aktif kömür ilavesi bitki gelişmesinde etkili olmuştur. Soğanlar seraya aktarılmış daha sonra tarlaya şaşırtılmıştır.

Özel ve Khawar (2007) *Ornithogalum oligophyllum* bitkisinde ikili pul yaprak kullanılarak 1–2 mg/L BAP ve 0,5–1,0 mg/L IBA içeren ortamında adventif soğan oluşumu elde edilmiştir. Gelişen primer soğanların çapını artırmak için alt kültüre alınmıştır. Alt kültüre alınmış primer soğanların çapında artış gözlenmiştir. Soğan başına 0–4,42 sekonder soğan oluşumu elde edilmiştir. Her soğanda değişik uzunlukta kökler görülmüştür. En fazla adventif soğan oluşumu 2 mg/L BAP 0,5 mg/L IBA içeren MS besin ortamında gözlenmiştir. Bitkiler iklim dolaplarına adapte edilmiştir. Soğanların morfolojik olarak normal olduğu gözlenmiştir ve adaptasyonda % 85 başarı elde edilmiştir. Elde edilen protokolün *O. oligophyllum*'un ve farklı *Ornithogalum* türlerinde soğanlı bitkilerin çoğaltımında mevsimsel üretime bağlı kalmaksızın başarı ile kullanılabileceği düşünülmektedir.

3. MATERYAL ve METOT

Araştırma 2010–2012 yılları arasında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak kullanılan *S. fischeriana* soğanları (Şekil 3.1), Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesi'nden temin edilmiştir.

S. fischeriana türü de ilkbaharda sarı renkli çiçek açan bir tür olup, ülkemizde Muğla, Denizli, Adana, Hatay, Karaman, Malatya ve Siirt illerinde deniz seviyesinden 1800 m'ye kadar olan yerlerde oldukça kesikli ve seyrek bir yayılıs göstermektedir. Bulunduğu lokasyonlarda çok az fertle temsil edildiğinden, Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabında “tehlikede” (EN) kategorisinde yer almaktadır (Ekim ve ark. 2000). Bu tür ayrıca Suriye, İran, Irak, Kesmir ve Transkafkasya'da yayılıs göstermektedir.

Bitki, 2008–2009 yetiştirme sezonunda Siirt iline yapılan arazi çalışmalarında Eruh ilçesine bağlı Paris köyü mezarlığında bulunmuştur. Bitkinin bulunduğu lokasyon 37° 46' N ve 42° 05' E koordinat değerlerine sahip, deniz seviyesinden yüksekliği ise 860 m'dir.



Şekil 3.1. Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Soğanlı Bitkiler Koleksiyon Bahçesi'nde yetiştirilen *S. fischeriana* bitkisinin görünümü

3.1.1. *Sternbergia fischeriana* bitkisinin taksonomideki yeri

Takım: Liliales

Familya: Liliaceae (Amaryllidaceae)

Cins: *Sternbergia*

Tür: *Sternbergia fischeriana*

Yaklaşık 15 cm'ye kadar boylanabilen, sapsarı çiçekleriyle gösterişli bir bitkidir. Çiçekleriyle birlikte gelişen gri-yeşil renkli, mat ya da parlak yapraklara sahiptir. Soğan 2,5–4 cm çapında ve her soğan 1–3 çiçeklidir. Yaprak sayısı 3–7, çiçek ile birlikte gelişir, burğu şeklinde, alt yüzü sırtlı ya da sırtsız. Çiçeklenme zamanında çiçek sapının toprak üstü kısmı 3–20 cm olup, 6 taç yapraklıdır. Tohumlar büyük etli yapı taşırlar.

Çiçek rengi: açık sarı

Çiçeklenme dönemi: Ocak-Mart

Çok yıllık otsu ve soğanlı bir bitkidir.

Bitki; ormanlık alanlar, çalılıklar, maki içi ve açıklıkları ile taşlı yamaçlarda 0–1800 metreler arası yayılış gösterir. Kalker anakayadan oluşan organik madde bakımından zengin toprakları tercih eder. Türkiye'de Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştiği bilinen bir türdür.

Türkiye'de Soğanlı Bitkiler Yönetmeliği ve taraf olduğumuz uluslararası CITES Sözleşmesi (Nesli Tehlikede Bulunan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme) kapsamında koruma ve kontrol altındadır. Bu tür Bern Listesinde “zarar görebilir (VU)” kategorisinde yer alır. Ekim ve ark.'nın (2000) Kırmızı Kitabında ise “tehlikede (EN)” kategorisinde yer almaktadır. IUCN Kırmızı Liste Kategorileri'ne (IUCN,2001) göre de “tehlikede (EN)” kategorisinde yer alması gerekir. Çünkü tür hem kesintili yayılış göstermekte hem de bulunduğu lokasyonlarda oldukça az fertle temsil edilmektedir. Ayrıca da gösterişli çiçeklere sahip olması nedeniyle az da olsa soğanları toplanmaktadır. Bu nedenle popülasyonlar gittikçe zayıflamaktadır (Eker ve ark. 2008).

3.1.2. *Sternbergia fischeriana* bitkisinin yetiştirildiği deneme alanının toprak özellikleri

Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 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.

Deneme alanında ekim yapılmadan önce 30 cm 'lik derinlikten alınan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 3.1. 'de verilmiştir. Buna göre; deneme alanı toprağı killi-tınlı tekstüre sahip olup, 0–30 cm derinlikte toprak örnekleri alınarak “Diyarbakır Tarım İl Müdürlüğü Toprak Analiz Laboratuar'ında” analiz edilmiş olup, 0-30 cm derinlikte toprak örneklerinin pH'sı 7,46 tuz içeriği %0,16, yarıyıslı fosfor (P₂O₅) 1,45 kg/da, potasyum (K₂O) 8,2 kg/da, yarıyıslı kireç oranı (CaCO₃) %11,02 ve organik madde içeriği %0,48 bulunmuştur. Analiz sonuçlarına göre; deneme alanı toprağı orta düzeyde tuzlu, hafif alkali, orta derecede kireçli ve organik madde içeriği düşüktür.

Çizelge 3.1. Deneme Alanı Toprağının Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Derinlik (cm)	Su ile Doymuşluk (%)	Elek.ilet E.C.X10 ³ (m/hos)	pH	Kireç (CaCO ₃) (%)	Bitkilere yararışlı besin maddeleri Kg/da		Organik Madde (%)
					Fosfor P ₂ O ₅	Potas K ₂ O	
					0-30	72.20	

3.1.3. Diyarbakır ilinin iklim verileri

Güneydoğu Anadolu Bölgesi karasal iklim özelliklerine sahiptir. Diyarbakır'da sert kara iklimiyle yarı kurak yayla iklimi hüküm sürer. Yazlar çok sıcak, kurak ve uzun, kışlar soğuk ve az yağışlı geçer. Diyarbakır ilinin, *S. fischeriana* örneklerinin alındığı 2010–2011 yetiştirme sezonu ve uzun yıllara ait iklim verileri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. 2010 ve 2011 yıllarına ait Diyarbakır ili meteorolojik verileri

Aylar	Ort. Sıcaklık			Yağış (mm)			Nem (%)		
	2010	2011	Uzun Yıl.	2010	2011	Uzun Yıl.	2010	2011	Uzun Yıl.
Ocak	5.4	3.5	1.7	113.4	40.0	73.6	80.9	73.1	77
Şubat	6.6	4.7	3.5	40.2	49.9	67.0	79.7	69.1	73
Mart	11.1	9.0	8.2	68.7	46.6	67.9	66.6	56.1	66
Nisan	14.2	12.9	13.8	22.4	209.0	70.5	60.4	75.6	63
Mayıs	20.4	17.6	19.2	31.6	80.1	42.1	49.3	67.8	56
Haziran	27.2	25.4	26.0	11.2	13.6	6.9	29.1	38.3	31
Temmuz	32.3	31.3	31.0	0.0	0.6	0.6	19.6	22.7	27
Ağustos	32.0	30.7	30.3	0.0	0.0	0.4	17.5	21.7	28
Eylül	27	25.0	24.8	0.4	9.2	2.7	27.4	30.4	32
Ekim	18.1	16.4	17.1	63.0	11.8	31.1	55.9	41.5	48
Kasım	11.1	6.4	9.6	0.0	73.0	54.1	41.1	58.5	68
Aralık	6.5	2.3	4.1	48.0	40.2	71.5	68.9	73.9	77

Kaynak: Diyarbakır Meteoroloji Müdürlüğü Aylık Yayın Bülteni



Şekil 3.2. *S. fischeriana* bitkisinin deneme tarlasından sökülüş (sol) ve yüzey sterilizasyonundan önce kabukları ayıklanmış, yıkanmış soğanlarının görünümü

3.2. Metot

3.2.1 Eksplantların Ön Hazırlığı ve Sterilizasyonu

Tarlardan hasat edilen *S. fischeriana* soğanları içinden orta boy (2–3 cm) hastaliksız ve üzerinde herhangi bir yara izi olmayan soğanlar seçilmiştir (Şekil 3.2). Daha sonra seçilen bu soğanların kabukları yaralamalara yol açmadan dikkatli bir şekilde soyulmuştur. Kabuğu soyulan soğanlar buzdolabında 4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

Buzdolabında 4 °C'de 1 ay muhafaza edilen materyalin (Şekil 3.3) yüzey sterilizasyonları için % 100 çamaşır suyu (%5 NaOCl) ile 15 dakika sterilizasyon süresi uygulaması yapılmıştır. Yüzey sterilizasyon çalışmaları steril kabin (Şekil 3.3; Şekil 3.4) içerisinde yapılmıştır. Yüzey sterilizasyondan sonra soğanlar steril kabin içinde, steril bistüri ve pens ile soğan pulları 0.5 cm, 1 cm ve 1.5 cm olacak 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 MS besi ortamında steril petri kaplarında bir hafta süreyle bekletilmiştir. Daha sonra eksplantlar farklı oranlarda oksin ve sitokinin içeren rejenerasyon ortamlarında kültüre alınmıştır.



Şekil 3.3. *In vitro* çalışmaların yapıldığı steril kabin, bitki büyütme dolabı ve hazırlık odasının görünümü

3.2.2. Soğan Pullarının Elde Edilmesi

S. fischeriana soğanları basal tabandan yukarıya olacak şekilde 0,5 cm, 1 cm ve 1,5 cm olacak şekilde üç farklı tip eksplant alınmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Steril kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu yapılmış soğanlardan pul yapraklarının alınması çalışmaları

3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Ortamları

Denemelerde, MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog 1962), %3 oranında 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 3.4'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 3.3. 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 3.4. Kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve stok çözelti konsantrasyonları

Bitki Hormonları	Çözücü	Saklama Sıcaklığı	Stok Çözelti Konsantrasyonu (mg/ml)
<u>Sitokinin</u>			
6 benzylaminopurine	1 N NaOH/etanol	4°C	1/1
<u>Oksin</u>			
NAA	1 N NaOH	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. Soğan Rejenerasyonu

Soğan rejenerasyonu için, tüm eksplantlar Çizelge 3.5'de verilen bitki büyüme düzenleyicileri ve belirtilen dozları kullanılarak, her bir Petri ya da Magenta'da 4 eksplant ve 3 tekrür olacak şekilde kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.5. *S. fischeriana* soğancık üretimi için MS ortamda kullanılan hormonlar ve dozları

Deneme 1	Deneme 2	
BAP mg/L	BAP mg/L	NAA mg/L
0.5	0.5	0.2
2.5	2.5	0.2
4.5	4.5	0.2
6.5	6.5	0.2
8.5	8.5	0.2

S. fischeriana soğanlarının köklendirilmesi için 0.75 NAA içeren MS ortamı kullanılmıştır.

3.3 İstatistiksel Değerlendirmeler

Denemeler, tek faktörlü, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve 3 tekerrürlüdür. Her tekerrür içinde 4 adet eksplantın bulunduğu 100 x 10 mm'lik Petri kutuları veya Magenta 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

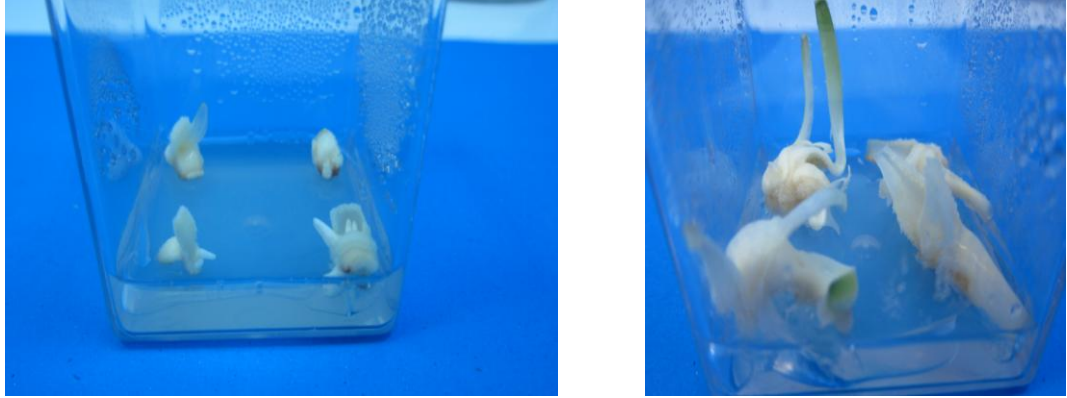
Tarladan hasat edilen (Mart 2012) *S. fischeriana* soğanları içinden orta boy (2–3 cm) (Şekil 3.2) hastaliksız ve üzerinde herhangi bir yara izi olmayan soğanlar seçilmiştir. Daha sonra seçilen bu soğanların kabukları yaralamalara yol açmadan dikkatli bir şekilde soyulmuştur. Kabuğu soyulan soğanlar buzdolabında 4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

Buzdolabında 4 °C’de 1 ay muhafaza edilen soğanlar % 100 çamaşır suyu (%5 NaOCl) ve 15 dk süre ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş, daha sonra steril edilmiş soğanlar 3 x 5 dk süre ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyon çalışmaları steril kabin (Şekil 3.4) içerisinde yapılmıştır. Yüzey sterilizasyondan sonra soğan pul yaprakların % 3 (w/v-ağırlık/hacim) sukroz ve % 0.62 (w/v-ağırlık/hacim) agar (Duchefa) ile katılaştırılan MS besi ortamı içinde 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta, 4 gün süreyle kontaminsayon/bulaşıklık düzeyi belirlenmeye çalışılmıştır. Daha sonra, bulaşıklık göstermeyen eksplantlar farklı oranlarda BAP ve NAA içeren MS rejenerasyon ortamlarında kültüre alınmıştır.

4.1.1. *S. fischeriana* Pul Yapraklarından Soğan Rejenerasyon Çalışmaları

4.1.1.1. *S. fischeriana* pul yapraklarından 15°C’de soğancık rejenerasyonu

Steril soğan pul yaprakları farklı oranda BAP+NAA içeren MS ortamında 15°C’de (Nüve TK 252-Türkiye) kültüre alınmıştır. Elde edilen veriler 16 hafta sonra varyans analizine tabii tutulmuş olup, sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi soğan oluşum oranı (%) ve eksplant başına soğan sayısı (adet) bakımından farklı ortamlar ve eksplantlar arasında 0.01 düzeyinde önemli farklıklar bulunmuştur. Benzer şekilde, ortamlar ve eksplantlar arasında da istatistiksel olarak 0.01 düzeyinde etkileşim bulunmuştur. Ortamlar ve eksplantlar arasında etkileşim düzeyi belirlemek amacıyla DUNCAN testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1. *S. fisheriana*'da soğan pullarından yavru soğan ve sürgün oluşumu

Çizelge 4.1. *S. fisheriana* bitkisinde 15 °C 16 saat ışık fotoperyotta farklı explant ve farklı oranda BAP ve NAA içeren ortamlarından elde edilen varyans analiz sonuçları

VK	SD	Soğan oluşum oranı (%)		Eksplant başına soğan sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	9	2113.580	6.605**	2.075	11.587**
Explantlar	2	2217.778	6.931**	1.626	9.079**
Ortamlar * Eksplantlar	18	1323.951	4.137**	0.387	2.159**
Hata	60	320.000		0.179	

**p<0.01

Çalışmada 10 farklı konsantrasyon ve kombinasyonda BAP+NAA ve 0.5 cm, 1 cm ve 1.5 cm olmak üzere 3 farklı uzunlukta *S. fisheriana* pul yaprakları kullanılmıştır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi 0.5 cm'lik eksplantlarında soğan oluşum oranı %6.67–53.33 arasında değişirken 2.5 mg/L BAP, 4.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, 6.5 mg/L BAP ve 8.5 mg/L BAP içeren MS ortamlarında hiç soğan oluşumu görülmemiştir. En fazla soğan oluşum 2.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

1 cm'lik pul yaprak eksplantlarda soğan oluşum oranı %6.67-93.33 arasında değişirken 4.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamında hiç soğan oluşumu görülmemiştir. En fazla soğan oluşumu 4.5 mg/L BAP içeren MS ortamında kayıt edilmiştir.

1.5 cm'lik pul yapraklarda soğan oluşum oranı %6.67-66.67 arasında değişmiş olup, en fazla soğan oluşumu 0.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi 0.5 cm'lik eksplantlarda eksplant başına soğan sayısı 1.00-1.67 adet arasında değişirken 2.5 mg/L BAP, 4.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, 6.5 mg/L BAP ve 8.5 mg/L BAP içeren MS ortamlarında hiç soğan oluşumu görülmemiştir. Eksplant başına en fazla soğan sayısı 2.67 adet ile 2.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

1 cm'lik pul yaprak eksplantlarında eksplant başına soğancık sayısı 1.00-2.86 adet arasında değişirken 4.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamında soğancık oluşumu gözlenmemiştir. Eksplant başına en fazla soğancık sayısı 2.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

1.5 cm'lik pul yapraklarda ise eksplant başına soğancık sayısı 0.33 ile 2.83 adet arasında değişmiş olup, en fazla soğan oluşumu 0.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

Genel olarak, 1.5 cm uzunluktaki pul yapraklar hem soğan oluşum oranı hem de eksplant başına soğan sayısı bakımından en uygun eksplant olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, 0.5 ve 1 cm'lik eksplantlar için 2.5 mg/L BAP-0.2 mg/L NAA içeren MS ortamı ve 1.5 cm'lik eksplantlar için ise 0.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamı en uygun ortam olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. *S. fischeriana* bitkisinde 15 °C 16 saat ışık fotoperiyotta 3 farklı büyüklükte olan iki pul yapraklı explant ile farklı oranlarda BAP ve NAA içeren MS ortamlarından elde edilen soğan oluşum oranı ve explant başına soğan sayısı ortalama değerleri ile ilgili Tukey's b testi sonuçları

BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	Soğan oluşum oranı (%)			Eksplant başına soğan sayısı (adet/eksplant)		
		0.5 cm	1 cm	1.5 cm	0.5 cm	1 cm	1.5 cm
0.5	0.0	20.00d	40.00c	53.33b	1.00c	1.33b	1.00c
0.5	0.2	46.67b	26.67d	66.67a	1.22b	1.17bc	2.83a
2.5	0.0	0.00e*	13.33	46.67c	0.00d	1.00c	1.44b
2.5	0.2	53.33a	66.67b	33.33bc	2.67a	2.86a	1.44b
4.5	0.0	6.67e	93.33a	6.67e	0.33d	1.40b	0.33d
4.5	0.2	0.00e	0.00e	20.00d	0.00d	0.00d	0.67d
6.5	0.0	0.00e	6.67e	26.67d	0.00d	0.33d	1.00c
6.5	0.2	33.33c	20.00d	40.00c	1.33b	1.44b	1.17c
8.5	0.0	0.00e	20.00d	20.00d	0.00d	0.67c	0.56d
8.5	0.2	33.33c	26.67d	46.67c	1.00c	1.00c	1.17c

** Her satırda farklı gösterilen harfler arasındaki farklılıklar 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.1.1.2. *S. fischeriana* pul yapraklarından 24°C'de soğancık rejenerasyonu

Steril edilmiş soğan pulları farklı oranda BAP+NAA içeren MS ortamında 24°C ve 16 saat ışık fotoperiyodunda iklim dolabında (Fitotron-İngiltere) kültüre alınmıştır. Elde edilen veriler 16 hafta sonra varyans analizine tabii tutulmuş olup, sonuçlar Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi soğan oluşum oranı bakımından, ortamlar, eksplantlar ve ortam x explant interaksyonu bakımından 0.05, eksplant başına soğan sayısı bakımından ortamlar arasında 0.01, ortam x eksplant interaksyonu ise 0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Eksplantlar arasında istatistiksel olarak her hangi bir farklılık bulunmamıştır. Soğan oluşum oranı ve eksplant başına soğan sayısı (adet) bakımından ortamlar ve eksplantlar arasında etkileşim düzeyi belirlemek amacıyla DUNCAN testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *S. fischeriana* bitkisinde 24 °C 16 saat ışık fotoperiyotta 3 tip farklı eksplant ve farklı oranda BAP ve NAA içeren MS ortamlarından elde edilen varyans analiz sonuçları

VK	sd	Soğan oluşum oranı (%)		Eksplant başına soğan sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	2	439.815	0.950*	3.372	7.238**
Eksplantlar	2	717.593	1.550*	0.152	0.326
Ortamlar * Eksplantlar	4	1377.315	2.975*	0.243	0.521*
Hata	18	462.963		0.466	

*P<0.05, **p<0.001

Çalışmada 3 farklı konsantrasyon ve kombinasyonda BAP+NAA ve 0.5 cm, 1 cm ve 1.5 cm uzunlukta 3 farklı uzunlukta *S. fischeriana* pul yaprakları kullanılmıştır. Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi 0.5 cm'lik eksplantlarda soğan oluşum oranı % 58.33–75.00 arasında değişirken en fazla soğan oluşumu 8.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

1 cm'lik eksplantlarında soğan oluşum oranı %50-66.67 arasında değişirken, en fazla soğan oluşumu 8.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

1.5 cm'lik eksplantlarında ise soğan oluşum oranı %25.00–66.67 arasında değişirken en fazla soğan oluşumu 6.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA ve 8.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamlarından elde edilmiştir.

Eksplant başına soğan sayısı bakımından ortamlar ve eksplantlar arasında istatistiksel olarak her hangi bir farklılık bulunmamış, eksplant başına soğan sayısı 1 ile 4.97 adet soğan arasında değişmiştir. Genel olarak her 3 (0.5, 1 ve 1.5 cm) eksplantta eksplant başına en fazla soğan sayısı 8.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. *S. fischeriana* bitkisinde 24 °C 16 ışık fotoperiyotunda farklı explant ve farklı oranda BAP ve NAA içeren MS ortamlarından elde edilen soğan oluşum oranı ve explant başına soğan sayısı ortalama değerleri

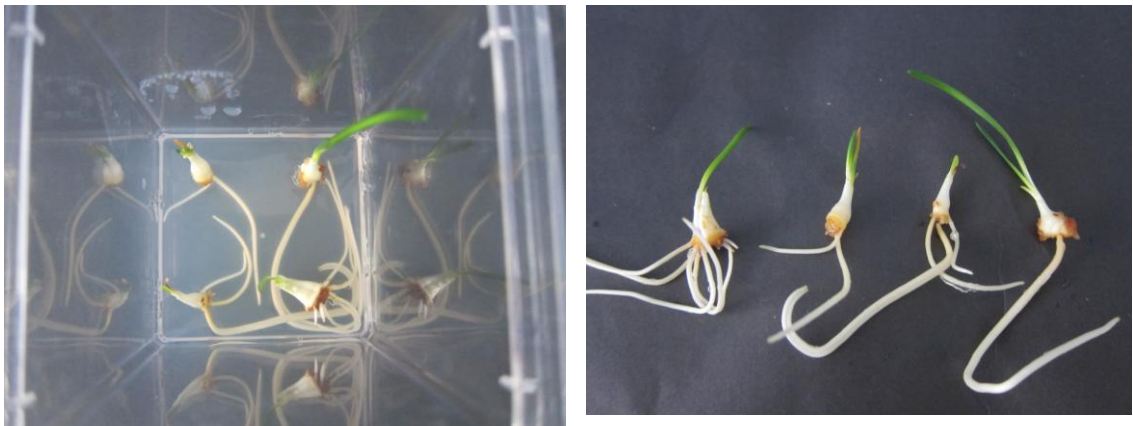
Ortamlar (mg/L)		Soğan oluşum oranı (%)*			Eksplant başına soğan sayısı (adet) ^{6s}		
BAP	NAA	0.5 cm	1 cm	1.5 cm	0.5 cm	1 cm	1.5 cm
4.5	0.2	58.33 a*	50.00 c	25.00 b	1.00 c	1.72 b	1.00 b
6.5	0.2	41.67 b	58.33 b	66.67 a	2.06 b	2.06 ab	2.00 a
8.5	0.2	75.00 a	66.67 a	66.67 a	4.97 a	2.33 a	2.33 a

* Her sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.1.1.3. *S. fischeriana* bitkisinin *in vitro* koşullarda elde edilen soğanların köklendirilmesi

Yukarıda belirtilen rejenerasyon ortamlarından elde edilen *S. fischeriana* soğancıklarını köklendirme amacıyla 0.75 mg/L NAA içeren MS ortamında 8 tekerrürlü ve her Magenta'da 5 eksplant olacak şekilde köklendirilmiştir. Bir köklendirme ortamı kullanıldığı için veriler her hangi bir istatistiksel analize tabi tutulmamıştır. Soğanların çapına bağlı kök oluşum yüzdesi, kök sayısı ve kök uzunluğunda farklılıklar görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre ortalama 0.38–0.42 cm çap genişliğine sahip soğanlarda hiç kök oluşumu olmazken daha büyük çapa sahip soğanlarda farklı oranlarda kök oluşumu, kök sayısı ve kök uzunluğu değerleri elde edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre 0.47, 0.76, 0.93 ve 1 cm'lik soğanlarda %100 kök oluşumu görülmüştür. En fazla kök sayısı ve kök uzunluğu değerleri sırası ile 4.33 adet ile 0.47 cm ve (Şekil 4.2) ve 4.73 cm ile 1 cm lik çapa sahip soğanlardan elde edilmiştir.



Şekil 4.2. *S. fischeriana* bitkisinde 0.47 cm'lik soğanlardan *in vitro* koşullarda elde edilen kök oluşumu

Çizelge 4.5. Farklı ortamlardan geliştirilen *S. fischeriana* soğanlarının 0.75 NAA içeren MS ortamında yapılan köklendirme çalışmaları sonuçları (ortalama değerler)

Ortalama soğan çapı (cm)	Kök oluşum yüzdesi (%)	Kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)
0.38	0.00d*	0.00d	0.00e
0.42	0.00d	0.00d	0.00e
0.47	100.00a	4.33a	3.73b
0.50	66.66b	1.50bc	1.13c
0.57	33.00c	1.50bc	0.33d
0.76	100.00a	1.00c	1.12c
0.93	100.00a	2.00b	0.50d
1.00	100.00a	1.75b	4.731a

4.2. TARTIŞMA

S. fischeriana bitkisinde çoğaltma yöntemi önemli olmakla birlikte, tohum veya soğanla çoğaltma oldukça yavaştır.

Bu çalışmada 3 tip farklı uzunlukta ikili soğan pulları eksplant olarak kullanılmıştır ve onların rejenerasyon kapasitesi 15°C ve 24°C sıcaklıkta de belirlenmiştir. Sternbergia bitkisinde ikili soğan pullarının büyüklüğü *in vitro* kültürde önemli bir anahtar niteliğindedir.

2,4-D, BAP+NAA kombinasyon ve konsantrasyonları ile birlikte inkübasyon sıcaklığı soğancık oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir. Bu hipotezden hareketle elde edilen sonuçlara göre kullanılmış 2,4-D oranları (15 ve 24°C sıcaklıkta) rejenerasyon için uygun bulunmamıştır. Buna karşın, değişik konsantrasyonlarda BAP ile NAA içeren ve içermeyen ortamlar 15 ve 24 derece sıcaklıklarda mukayese edilmişlerdir. Explant pul yaprak büyüklüğü 0.5 cm olarak alındığında eksplantta rejenerasyon görülmektedir. Bununla birlikte, 0.5–8.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA içeren ve içermeyen ortamlar 15 derecede rejenerasyon için uygun görülmüşlerdir. Eksplant başına soğan sayısı en fazla 4.97 adet/eksplant olarak belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, BAP konsantrasyonu ve NAA içeren ve içermeyen ortamların rejenerasyonda etkili bir şekilde rol oynadığını bildiren Başalma ve ark. (2008)'nın ve rejenerasyonun sıcaklık ve BBD ile ilgili olduğunu bildiren McDaniel (1984) ve Christianson ve Warnick (1985)'in sonuçları ile uyumludur.

Khawar ve ark. (2005) eksplantın doğru bir BBD ile seçiminin sürgün rejenerasyonunda etkili olduğunu bildirmektedir. Daha önce yapılmış çalışmalarda farklı bitkilerde farklı tip eksplant olarak kullanıldığını ve soğan rejenerasyonu gerçekleştirildiğini göstermektedir (Nhut 1998; Wawrosch et al. 2001; Lian et al. 2003; Sevimay et al. 2005; Khawar et al. 2005; Parmaksız and Khawar 2006; Aasim et al. 2008).

Mirici ve ark. (2005) *S. fischeriana*'da iki yapraklı eksplant kullanılarak çoğaltma yapılabildiğini bildirilmektedir. Araştırmacılar eksplantın büyüklüğü ile ilgili bir sonuç vermemekle birlikte, soğancık rejenerasyonu için kullanılan BBD konsantrasyonunun soğancık oluşum frekansı ve pul yaprakların oluşumunda etkili olduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar en yüksek değer 2.6 adet/eksplant ile 2 mg/L BAP+0.5 mg/L NAA içeren MS ortamından elde etmişlerdir. Araştırmacıların bildirdiği

sonuçlar, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile farklılık göstermekte; bu çalışmada en fazla soğancık 4.97 adet ile 0.5 cm uzunluğundaki yaprak pullarından 8.5 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA içeren MS ortamından ve 24°C inkübasyon ortamından elde edilmiştir. Çalışmada 24°C sıcaklıkta sıcaklığın soğancık rejenerasyonu için olumlu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum iki yapraklı pul soğanların kullanıldığı eksplantların 15 derece inkübasyon koşullarında olumsuz etkilendiğini göstermektedir. Bu durumun soğan oluşumu esnasında farklı sıcaklık değerlerinin metabolik farklılıklar oluşturmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışma daha önce yapılmış çalışmalardan farklı olarak ortaya çıkan en önemli sonuç; iki yapraklı pulcukların soğancık rejenerasyonu için uygun olduğu ve en yüksek ortalama soğancık sayısının iki yapraklı pul yaprakların büyüklüğüne bağlı olarak değiştiğinin belirlenmesidir.

Elde edilen sonuçlar ayrıca farklı sıcaklık uygulamalarında aynı BBD'leri konsantrasyonları ve kombinasyonlarının rejenerasyon yeteneğini etkilediklerini göstermektedir. 15 ve 24°C sıcaklıkta NAA'nın varlığında BAP rejenerasyon için gerekli bulunmuştur. Bu sonuç, düşük sıcaklıkların hücre zarı geçirgenliğini azalttığı ve kimyasal enzim reaksiyonu ve moleküllerin yayılma oranını azalttığını bildiren Sonoike ve ark. (1995)'nin sonuçları ile uyumludur.

BAP+NAA kombinasyonu makro & mikro element ve vitamin içeren MS ortamında soğancık rejenerasyonunda etkilidir. Bu durum Nayak ve Sen (1995) ve Özel ve Khawar (2007)'nin bildirdikleri sonuçlar ile uyumludur. Özel ve Khawar (2007) *Ornithogalum umbellatum* ve *Muscari macrocarpum* bitkilerini MS içeren ortamda başarılı bir şekilde köklendirmişlerdir. Köklendirme ve aklimatize çalışmalarında herhangi bir olumsuzluk bildirilmemiştir.

Ancak, bu çalışmada 0.38 ve 0.42 cm çapındaki soğancıklarda soğancıkların çap artışı sorun olarak tespit edilmiş, bu soğancıklarda fizyolojik olarak tam olgunlaşamamadan kaynaklı köklenme sorunu meydana gelmiş olup, 0.47 cm ve üzerindeki soğancıklarda fizyolojik olarak köklenmede herhangi bir sorun ile karşılaşılmamıştır.

Tarla koşullarında yapılan çalışmalarda *Sternbergia lutea*'da yavru soğan oluşum kapasitesi ve ağırlığının, dikim yapılan soğan büyüklüğüne bağlı olduğunu ve *Sternbergia fischeriana*'da da en fazla yavru soğan oluşumunun iri soğan grubunda olduğu saptanmıştır (Arslan ve ark. 2002; Zencirkıran ve Tümsavaş 2006).

Sonuç olarak; bu çalışmadan elde edilen protokol ile bir soğandan 12 adet pul soğan elde edildiği ve her iki pul yapraktan 4.97 adet soğan geliştirildiği göz önüne alınırsa her soğandan $12 \times 4.97 = 59.64$ adet soğancık elde etmek mümkündür. Bu sayıya ulaşmak, doğal koşullarda her bir soğandan 2-3 adet soğancık elde edildiği göz önüne alındığında, mümkün görülmemektedir. Bu durum *S. fischeriana* için *in vitro* rejenere soğanlardan etkin bir çoğaltma yapılabileceğini göstermektedir.

Soğan oluşumu için uygun eksplant seçimi, köklendirme ile ilgili bilgiler *in vitro* üretim için oldukça önemli olup, ekonomik olarak önemli bir soğanlı bitki türü olan *S. fischeriana* için *in vitro* üretim için olası sorunların üstesinden gelmeye yardımcı olacaktır. Geliştirilen bu protokol ile *S. fischeriana* bitkisinin 0.5 cm büyüklüğünde 2 yapraklı pullarını kullanarak başarılı bir şekilde ticari üretimi yapılabilecektir. Sonuçlar *S. fischeriana*'da soğan üretimi ve soğan çapına bağlı olarak köklendirilmesinin zor ve uzun sürmediğini göstermektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Sonuç

Bu tez kapsamında, Güney Doğu Anadolu Bölgesinde doğal olarak yetişen ve ekonomik öneme sahip soğanlı bir bitki türü olan *S. fischeriana* bitkisi ile ilgili doku kültürü tekniği kullanarak yapılan çoğaltma çalışmaları bir ilk niteliğindedir.

Çalışmada, yüzey sterilizasyonda %100 çamaşır suyu ve 15 dakikalık uygulama süresi ile soğanlarda %100 sterilizasyon sağlanmıştır.

MS besin ortamına ilave edilen BAP+NAA hormon dozlarının 15°C ve 24 °C’de inkübe edilmiş soğanlar üzerinde farklı etkileri görülmüştür.

MS besin ortamına ilave edilen NAA hormon dozlarının köklendirmede kullanılan soğancıkların çapı üzerinde ve soğancıkların köklenmesine katkı sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar literatür bildirişleri ile kıyaslandığında, bu tez çalışmasından *in vitro* elde edilen soğanların çaplarına bağlı kök oluşum ile ilgili sonuçları bilimsel bakımdan bir yeniliktir.

Sonuç olarak, bu çalışmada ekonomik önemi olan ve Güney Doğu Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *S. fischeriana* bitkisinin doku kültürü yoluyla mikro çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. Güney Doğu Anadolu bölgesinde soğanlı bitkilerle ilgili doku kültürü çalışmalarının devam etmesi büyük önem taşımaktadır. Bu şekilde soğanlı bitkilerinin ticari boyutlarda üretimi de söz konusu olabilecektir. Üretimi planlanan soğanlarda üretim materyali açığı dikkate alındığında, bu çalışmanın, ekonomik önemi olan *S. fischeriana* bitkisinin hızlı ve yoğun üretimine ve konuyla ilgili ileriki çalışmalara yardımcı olacağı ve dolayısıyla sektöre önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

5.2. Öneriler

S. fischeriana bitkisi ekonomik öneme sahip ihracat potansiyeli yüksek bir soğanlı bitkidir. Bitki Güneydoğu Anadolu Bölgesinde doğal yayılış göstermektedir. Bitkinin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılması ve üretilmesi üreticilere ekonomik bakımdan gelir sağlayacaktır. Soğan eksplantları kullanılarak bitkinin çoğaltılması

başarı ile yapılmaktadır. Bunun dışında olgunlaşmamış embriyo ve diğer eksplantlar ile bitkinin çoğaltılma olanakları araştırılmalıdır.

Farklı oksin ve sitokinin dozları kullanılarak bitkinin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılması için başka protokollerin geliştirilmesi önerilmektedir.

Sonuç olarak; bundan sonra yapılacak çalışmalarda daha farklı eksplantlar, hormon kombinasyonları, foto periyot ve sıcaklık uygulamaları ile daha ayrıntılı çalışmaların yapılması önerilmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Aasim, M., Khawar, K.M. and Ozcan, S. 2008. *In vitro* micropropagation from shoot meristems of Turkish cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cv. Akkiz. **Bangladesh Journal of Botany**, 37:149-154.
- Amina H., Abou-Donia, Soad M., Toaima, Hala M., Hammada, E.S., Eri, K., Hiromitsu, T. 2008. Phytochemical and Biological Investigation of *Hymenocallis littoralis* SALISB, **Chemistry & Biodiversity**, 5, 332-340.
- Anonim, 2009. Cut Flower Sectoral Reports February 2009. Prime Ministry Undersecretariat for Foreign Trade Export Promotion Centre (IGM), Republic of Turkey Prime Ministry Undersecretariat for Foreign Trade Antalya Exporter Unions. Turkey.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüştü, A., Özcan, S., Mirici, S., Khawar, K.M. 2002. Cultivation of *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. And A Study on Its Morphological Characteristics. **Pak. J. Bot.**, 34:4, 412-418.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Özcan, S., Mirici, S., Gümüştü, Parmaksız, İ. 2003. *Sternbergia candida* ve *Sternbergia fischeriana* Türlerinin Kültüre Alınması ve Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK Projesi Proje No; TOG TAG – 1843, Kesin Sonuç Raporu, Ankara.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüştü, A., İpek, A., Sarıhan, E.O., Özcan, S., Mirici, S., Parmaksız, İ. 2004. *Sternbergia candida* Mathew et. Baytop Türünün Kültüre Alınması Üzerine Araştırmalar, <http://documents.anadolu.edu.tr/bihat/e-kitap/naslanpdf.pdf>
- Atay, S. 1996. Soğanlı Bitkiler (Türkiye'den İhracatı Yapılan Türlerin Tanıtımı ve Üretim Rehberi), *Doğal Hayatı Koruma Derneği Yayınları*, İstanbul, 84 s.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, E. 2002. *Bitki Biyoteknolojisi I: Doku Kültürü ve Uygulamaları*, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s.
- Baktır, İ., Tezcan, Ö., Kaynakçı, Z. 1997. Geofitlerin Çevre Değerleri Açısından Önemi, **Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**. 10, 408-413.
- Basalma, D., Uranbey, S., Mirici, S. and Kolsarici, O. 2008. TDZ x IBA induced shoot regeneration from cotyledonary leaves and *in vitro* multiplication in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). **African Journal of Biotechnology**, 7: 960-966.
- Baygar, T. 2010. *Sternbergia fischeriana* (Herbert) Rupr. Alkaloidlerinin kimyasal analizi ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı Yüksek Lisans Tezi, 125 s.

- Bhagyalakshmi, N. 1999. Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 58: 205–211.
- Bonnier, F.J.M., Van Tuyl, J.M. 1997. Long term *in vitro* storage of lily: effect of temperature and concentration of nutrients and sucrose. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 49: 81–87.
- Christianson, M.L. and Warnick, D.A. 1985. Temporal requirement for phytohormone balance in the control of organogenesis. *In vitro Developmental Biology-Plant*, 112:494-497.
- Çakırlar, H., Tıprıdamaz, R. ve Ellialtıoğlu, S. 1994. Türkiye’de Ticari Değeri Olan *Galanthus* (*G. elwesii* Hooker Fil. ve *G. ikariae* Baker.) Türlerinin Doku Kültürü Yoluyla Üretimi. TÜB_TAK projesi. Proje no; TBGAG–19/A, Ankara.
- Dane, F. 1999. *Sternbergia lutea* (L.) Ker-Gawl. Ex Sprengel (Amaryllidaceae) Üzerinde Sıtoembriyolojik İnceleme. *Tr. J. of Biology*, 23, 9-22.
- Davis, P.H., Mill, R. and Tan, K. 1984. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 1st ed. 632 p. University Press, Edinburgh, Scotland.
- De Hertogh, A., and M. Le Nard (eds.). 1993. The physiology of flower bulbs. Elsevier Science Publ., Amsterdam
- Bryan, J. E. 1989. Bulbs. Timber Press, Portland, OR.
- Duman, H., Koyuncu, M., Ünal, F. 2002. The Genus *Sternbergia* Waldst & Kit. (Amaryllidaceae) in Turkey. *The Karaca Arboretum Magazine*, 6 (3) 115–130.
- Duong, T.T., Bui, V.L., Nguyen, T.M., Jaime, T.D.S., Seiichi, F., Michio, T., Tran, T.V.K. 2002. Somatic embriyogenesis through pseudo-bulblet transverse thin layer of *Lilium longilorum*. *Plant Growth Regul.*, 37: 193-198.
- Dostbil, N., Ağaoglu, S. 2003. An Investigation about Antimicrobial Activity of Black Crocus (*Stenbergia Fischeriana*). *Journal of Food Safety*, 23, 215–219.
- Eker, İ., Koyuncu, M., Akan, H. 2008. The Geophytic Flora of Şanlıurfa Province, Turkey. *Turk. J. Bot.*, 32, 367-380.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Guner, A., Erik, S., Yildiz, B. and Vural, M. 1991. Taxonomical and ecological researches on the geophytes of Turkey with economical value. General Forestry Directorate of Management and Marketing, nr 669. 65 p. Ministry of Agriculture, Forestry and Rural Affairs, Ankara, Turkey.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. ve Adıgüzel, N. 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği yayınları, Ankara.

- Güner, A. 1994. Bitkiler Dünyası. Bilim ve Teknik, TÜBİTAK Yayını, Cilt: 27, Sayı 321, Pro-Mat Basın Yayın A. Ş., Ankara.
- Hanks, G. R. 1986. *Narcissus* bulb morphology and twin-scale propagation. *Acta Horticulturae*. Vol.2, No.177.
- Ildır, S. 1993. Süs Bitkileri. Doğal Çiçek Soğanları 7. Beş Yıllık Kalkınma Planı. Bitkisel Ürünler. Tarım ve Köy İşleri Bak. TÜGEM 11 s.
- Karagüzel, Ö., Kaya, A.S., Aydın Şakir, K. 2007. Doğal Çiçek Soğanları (Geofitler). *Tarımın Sesi Derg.* Sayı:13, s.13–16.
- Kızıl, S. 2005. Soğanlı Süs Bitkileri. Yayınlanmamış Ders Notları. D.Ü.Ziraat Fakültesi.
- Kızıl, S., Tekin, F., Khawar, K.M., Sağlam, S., Ertekin, A.S., Arslan, N. 2012. An Investigation About Economically Important Bulbous Plants Found in Southeastern and East Anatolia Regions of Turkey. XI. International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials, 28 March-01 April 2012, Antalya Turkey, p. 86.
- Khawar, K.M., Çöçü, S., Parmaksız, I., Sarihan, E. O., Sancak, C., Ozcan, S. 2005. Mass proliferation of Madona Lilly (*Lilium candidum* L.) under *in vitro* conditions. *Pak. J. Bot.*, 37 (2): 243-248.
- Koyuncu, M. 1994. Geofitler. Bilim ve Teknik Tübitak Yayınları, Cilt 27, Sayı:321,
- Koyuncu, M., Yılmaz, O. 2000. Peyzaj Mimarlığında Doğal Geofitlerden Yararlanma, 2000'li Yıllarda Yaşadığımız Çevre ve Peyzaj Mimarlığı Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 4 s. Pro-Mat Basın Yayın A.Ş., Ankara.
- Kromer, K., Kukulczanka, K. 1992. Control of morphogenesis in thin cell layer explants of *Muscari botryoides* Mill. Botanical Garden, University of Wrociaw, Poland. *Scienkiewicza* 23 (..): 50-335.
- Kukulczanka, K., Kromer, K. and Cvzanstka, B. 1989. Micropropagation of *Fritillaria melengris* L. through tissue culture. *Acta Hort.* 251:147–153.
- Lian, M., Chakrabartty, D. Yoeup, P.K. 2003. Growth of lilium oriental hybrid 'Casablanca' bulblet using bioreactor culture. *Science Horticulturae.*, 97(...): 41-48.
- McDaniel, C.N. 1984. Competence, determination and induction in plant development. p. 393-412. In Malacinski G. (ed.) Pattern formation: A primer in developmental biology. MacMillan, New York, USA.
- Marinangeli, P., Curvetto, N. 1997. Bulb quality and traumatic acid. influence bulblet formation from scaling in *Lilium* species and. Hybrids. *HortScience*, 32.739–741.

- Mirici, S., Parmaksız, I., Özcan, S., Sancak, C., Uranbey, S., Sarihan, E., Gümüşçü, A., Gürbüz, B., Arslan, N. 2005. Efficient *in vitro* bulblet regeneration from immature embryos of endangered *Sternbergia fischeriana*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80: 239–246.
- Moran, G.P., Colque, R., Vilodomat, F., Bastida, J., Codina, C. 2003. Mass propagation of *Cyrthanthus clavatus* and *Cyrthanthus spiralis* using liquid medium culture”, *Sci. Hortic.*, 98: 49-60.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497.
- Nayak, S. and Sen, S. 1995. Rapid and stable propagation of *Ornithogalum umbellatum* L. in long term culture. *Plant Cell Reports*, 15:150-153.
- Nhut, D.T. 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo-bulblet culture. *Plant Cell Reports*, 17:913-916.
- Nhut, D.T., Le, B.V., Minh, T., De Silva, J.T., Fukai, S., Tanaka, M. et al. 2002. Somatic embryogenesis through pseudobulblet thin cell layer of *Lilium longiflorum*. *Plant Growth Regulation*, 37:193-198.
- Nhut, T., Van, B., Silva, J. 2002. Changes of shoot regeneration potential of oriental hybrid lily. *Advances in Horticultural Science*, 9: 79–82.
- Ozel, C.A. and Khawar, K.M. 2007. *In vitro* bulblet regeneration of *Ornithogalum oligophyllum* E.D. Clarke using twin scale bulb explants. **Propagation of Ornamental Plants**, 7:82-88.
- Parmaksiz, I. and Khawar, K.M. 2006. Plant regeneration by somatic embryogenesis from immature seeds of *Sternbergia candida* Mathew et T. Baytop, an endangered endemic plant of Turkey. *Propagation of Ornamental Plants*, 6:128-133.
- Sage, D.O. Lynn, J., Hammatt, N. 2000. Somatic embryogenesis in *Narcissus pseudonarcissus* cvs. Golden Harvest and St. Keverne. *Plant Science* 150: 209–216.
- Seyidoğlu, N. 2009. Bazı Doğal Geofitlerin Peyzaj Düzenlemelerinde Kullanımı ve Üretimi Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniv. Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 367s.
- Selles, M., Viladomat, F., Bastida, J., Codina, C. 1999. Callus induction, somatic embryogenesis and organogenesis in *Narcissus confusus*: correlation between the state of differentiation and the content of galanthamine and related alkaloids. *Plant Cell Rep.*, 18: 646-651.

- Sevimay, C.S., Khawar, K.M., Çöçü, S., Özcan, S. 2005. Somatic embriyogenesis in White Clover (*Trifolium repens* L.). **Period. Biologorum**, 107 (1): 101–105.
- Sevimay, C.S., Khawar, K.M., Parmaksiz, I., Cocu, S., Sancak, C., Sarihan, E.O. Ozcan, S. 2005. Prolific *in vitro* bulblet formation from bulb scales of Meadow Lily (*Lilium candidum* L.). **Priod. Biologorum**, 107 (1): 107–111.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G. 1967. Statistical methods. **The Iowa State Univ. Press, Iowa, USA** 327–329.
- Sonoike, K., Terashima, I., Iwakim, M. and Itoh, S. 1995. Destruction of photosystem-I iron sulfur centres in leaves of *Cucumis sativus* L. by weak illumination at chilling temperatures. **FEBS letters**, 362:235-238.
- Speta, F. 1989. *Muscari* (subg. Leopoldia) mirum Speta, spec. Nova, im Kreise seiner nachsten Verwavandten, **Phyton**. 29: 105-117.
- Squires, W.M., Langton, F.A. 1990. Potential and limitations of *Narcissus* micropropagation: An experimental evaluation. **Acta Hortic**. 266: 67–73.
- Squires, W.M., Langton, F.A., Fenlon, J.S. 1991. Factors influencing the transplantation success of micropropagated narcissus bulbils”, **J. Hort. Sci.** 66 (6): 661–671.
- Suzuki, S., Nanako, M. 2001. Organogenesis and somatic embriyogenesis from callus cultures in *Muscari armeniacum*”, **Leichtl. ex Bak. In vitro cell. Dev. Biol.**, 37: 382- 387.
- Suzuki, S. Nakano, M. 2002. Agrobacterium-mediated production of transgenic plants of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak. **Plant Cell Rep.**, 20: 835–841.
- Taeb, A.G., Alderson, P.G. 1990. Effect of low temperature and sucrose on bulb development and on the carbohydrate status of bulbing shoots of tulip *in vitro*”. **J. Hort. Sci.** 65, 193–197.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. 1998. Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 975–482–411–8.
- Tymoszuk, J., Saniewski, M., Rudnicki, R.M. 1979. A possible use of the infiltration method for application of growth regulators in to bulbils”, **Acta Hort.** (ISHS) 91.179- 184.
- Wawrosch, C., Malia, P.R. and Kopp, B. 2001. Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, a threatened medicinal plant of Nepal. **Plant Cell Reports**, 20:285-288.
- Wendy, M., Squiores, F.A., Langton, F.A. Fenlon, J.S. 1991. Factors influencing the transplantation success of micropropagated narcissus bulbils”, **J. Hort. Sci. Biotech.**, 66 (6): 661-671 (1991).

Weniger, B., Italiano, L., Beck, J.P., Bastida, J., Bergonon, S., Codina, C. et al. 1995. Cytotoxic activity of Amaryllidaceae alkaloids. *Planta Medica*, 61:77-79.

Zencirkiran, M. and Tumsavas, Z. 2006. Effect of bulb circumference on bulb yield and bulblet formation capacity of *Sternbergia lutea* (L.) Ker-Gawl. Ex. Sprengel (Winter Daffodil). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9: 2366-2368.

Ziv, M. and Lilien-Kipnis, H. 2000. Bud regeneration from inflorescens explants for rapid propagation of geophytes of *in vitro*. *Plant Cell Reports*, 19: 845-850.



ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Diyarbakır'ın Sur ilçesinde doğdu. İlk Okulu Arif Eminoğlu İlk Öğretim Okulunda, Ortaokulu Fevzi Çakmak ortaokulunda, lise eğitimini Ziya Gökalp Lisesinde tamamladı. 2004 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümüne kayıt yaptırdı ve 2008 yılında Tarla Bitkileri Bölümünden mezun oldu. 2009 yılında Siirt ili Baykan İlçe Tarım Müdürlüğü'ne ataması yapıldı. Halen Diyarbakır ili, Çınar İlçe Tarım Müdürlüğü'nde Ziraat Mühendisi olarak çalışmaktadır.

