

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Gürhan TEMİZ

**NAR (*Punica granatum*)’DA FARKLI BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN
VE FARKLI EKSPANT KAYNAKLARININ SOMATİK
EMBRİYOGENESİS ÜZERİNE ETKİLERİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

ADANA, 2009

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NAR (*Punica granatum*)’DA FARKLI BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN VE
FARKLI EKSPANT KAYNAKLARININ SOMATİK EMBRİYOGENESİS
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Mehmet Gürhan TEMİZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI**

Bu tez 12/10/2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /
Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

İmza.....

**Prof.Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
DANIŞMAN**

İmza.....

**Doç.Dr. Yeşim Yalçın MENDİ
İKİNCİ DANIŞMAN**

İmza.....

**Doç.Dr. Yıldız Aka KAÇAR
ÜYE**

İmza.....

**Doç.Dr. Sedat SERÇE
ÜYE**

İmza.....

**Yrd. Doç.Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU
ÜYE**

Bu tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof.Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür**

Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge,
şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve
Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NAR (*Punica granatum*)’DA FARKLI BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN VE FARKLI EKSPANT KAYNAKLARININ SOMATİK EMBRİYOGENESİS ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet Gürhan TEMİZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof.Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
İkinci Danışman: Doç .Dr.N.Yeşim Yalçın MENDİ
Yıl : 2009, **Sayfa:** 39
Jüri : Prof.Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
Doç.Dr. N. Yeşim Yalçın MENDİ
Doç.Dr. Yıldız Aka KAÇAR
Doç.Dr. Sedat SERÇE
Yrd.Doç.Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU

Bu tez kapsamında nar (*Punica granatum*)’da çeşit faktörünün (Hicaz ve Silifke Aşısı), değişik eksplantların (yaprak, hipokotil, kotiledon ve kök eksplantları) ve farklı büyümeyi düzenleyici 2,4-dikloro fenoksi asetik asit (2,4-D), benzil adenin (BA,) kombinasyonlarının somatik embriyogenesis üzerine etkileri ile büyüme düzenleyicilerine ek olarak poliamin türevi olan Spermin konsantrasyonlarının, eksplantların rejenerasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Araştırma bulgularına göre çalışmada kullanılan nar çeşitlerinden Silifke Aşısının beyaz kallus oluşumuna etkisi (% 36,60), Hicaz çeşidine (% 32,58) göre daha iyi sonuç vermiştir. Nar çeşitlerinin kahverengi-siyah kallus ve embriyogenik kallus oluşumu üzerine istatistiki olarak etkili olmadığı bulunmuştur. Çalışmada yer alan eksplant tiplerinin embriyogenik ihtimalli kallus oluşumu üzerine etkili olanlar sırayla kotiledon (% 10,01), hipokotil (% 9,78), kök (% 8,53) ve yaprak (% 7,53) olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Punica granatum*, somatik embriyogenesis, doku

kültürü, nar, spermin

ABSTRACT

MSc THESIS

EFFECTS ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF DIFFERENT GROWTH REGULATORS AND DIFFERENT EXPLANT RESOURCES IN POMEGRANATE (*Punica granatum*)

Mehmet Gürhan TEMİZ

**DEPARTMENT OF HORTICULTURE
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor : Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
Supervisor : Assoc. Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
Year : 2009, **Page:** 39
Jury : Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN
Assoc. Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
Assoc. Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Assoc. Prof. Dr. Sedat SERÇE
Assist. Prof. Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU

In this thesis, the effect of pomegranate varieties (Hicaz and Silifke Aşısı), different explant types (leave, hypocotyl, cotyledon, root explant) and different growth regulator combinations 2,4-dichloro phenoxy acetic acid (2,4-D) and benzyl adenine (BA) on somatic embryogenesis were investigated. In addition to plant growth regulators, the effect of poliamine derivative, spermine on explant regeneration were determined. The results have indicated that white callus formation in Silifke Aşısı (36.60 %) gave beter results than that of Hicaz variety (32.58 %). No statistical differences were obtained between two varieties on brown-black callus and embryogenic callus formation.

Putative embryogenic calluses were obtained from the explants; cotyledone (10.1 %), hypocotyl (9.78 %), root (8.53 %) and leave (7.53 %) respectively.

Key words: *Punica granatum, somatic embryogenesis, tissue culture, pomegranate spermine.*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve çalışmam boyunca her türlü desteği benden esirgemeyen, çalışma ortamımızı bir aile ortamına benzeten, öğrencisi olduğum için kendimi şanslı hissettiğim, danışman hocalarım sayın Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN ve sayın Yeşim Yalçın MENDİ'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının başlangıç aşamasında materyallerimin belirlenmesinde yardımcı olan ve her türlü konuda yardımlarıyla bizleri yönlendiren sayın hocam Prof. Dr. Ahsen Işık ÖZGÜVEN'e müteşekkirim.

Saygı duyduğum ve her zaman desteğini gördüğüm sayın hocam Doç. Dr. Yıldız Aka KAÇAR'a bizlere her türlü desteği sağlayıp, olumlu yönlendirmeleri sebebiyle çok teşekkür ederim.

Yüksek lisansım boyunca desteklerini gördüğüm, tüm Bahçe Bitkileri bölüm personeline ve Biyoteknoloji Anabilim dalı yüksek lisans ve doktora öğrencilerine teşekkür ederim.

Bu çalışmayı destekleyen Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri biriminin sayın yetkililerine ayrıca teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca bana gösterdikleri maddi ve manevi fedakârlıkları için sevgili aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	X
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL VE METOD.....	12
3.1. Materyal.....	12
3.2. Metod.....	16
3.2.1. Somatik Embriyogenesis Denemeleri İçin Sterilizasyon Uygulamaları.....	16
3.2.2. Eksplantların Kültüre Alınması ve Kültür Koşulları.....	16
3.2.3. Tohumların Doku Kültürü Koşullarında Çimlendirilmesi.....	17
3.2.4. Elde Edilen Kalluslardan Embriyogenik Kallus ve Somatik Embriyo Elde Edilmesi.....	21
3.2.5. Çalışmada Yapılan Sayım ve Gözlemler.....	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR.....	22
4.1. Nar Çeşitlerinin Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri.....	22
4.2. Uygulamaların Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri.....	23
4.2.1. Uygulamaların Beyaz Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri.....	23
4.2.2. Uygulamaların Kahverengi-Siyah Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri.....	24
4.2.3. Uygulamaların Embriyogenik İhtimalli Kallus oluşumuna Etkileri.....	24
4.3. Eksplant Tiplerinin Kallus Oluşumu üzerine Etkileri.....	26
4.3.1. Eksplant Tiplerinin Beyaz Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri.....	26
4.3.2. Eksplant Tiplerinin Kahverengi-Siyah Kallus Oluşumuna Etkileri.....	27
4.3.3. Eksplant Tiplerinin Embriyogenik İhtimalli Kallus oluşumuna Etkileri.....	27

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	39

ÇİZELGE DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. MS Temel Besin Ortamında Bulunan Besin Maddeleri ve Konsantrasyonları (Murashige ve Skoog, 1962)	18
Çizelge 3.2. Somatik Embriyogenesis Denemesinde Kullanılan Bitki Büyüme Düzenleyicileri Konsantrasyonları ve Kombinasyonları	19
Çizelge 4.1. Çeşitlerin Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri.....	22
Çizelge 4.2. Uygulamaların Kallus Oluşum Oranı Üzerine Etkisi %	25
Çizelge 4.3. Farklı Eksplantların Kallus Oluşumu Üzerine Etkisi.....	28

Şekil 1.1. Nar Bitkisi Ve Ürünleri	
A) Hicaz Narı Meyvesinin Görünümü;	
B) Silifke Aşısı Nar Çeşidinin Meyvesinin Görünümü;	
C) Hicaz Narı Çeşidinin Ağacının Görünümü;	
D) Silifke Aşısı Çeşidinin Ağacının Görünümü;	
E) Nar Çiçeğinin Görünümü;	
F) Nar Meyvesinden Elde edilen Meyve Suyu Görünümü	6
Şekil 3.1. Hicaz Çeşidine Ait Meyveler	13
Şekil 3.2. Hicaz Çeşidi.....	13
Şekil 3.3. Silifke Aşısı Çeşidine Ait Meyveler	15
Şekil 3.4. Silifke Aşısı Çeşidi.....	15
Şekil 3.5. Sterilizasyon Yapılmış Nar Tohumlarının Çimlendirme Ortamına Aktarılmadan Önce Uçlarının Kesilmesi	17
Şekil 3.6.A) Nar Tohumlarının Kabin İçerisinde Sterilizasyonu;	
B) Nar Tohumlarının Steril Ortamda ve Steril aletlerle Uçlarının Kesilmesi;	
C) Hazırlanan Besi Ortamlarının Petrilere Dökülmesi;	
D) Nar Tohumlarının Çimlendirilmesi Amacıyla Petri İçerisinde Besi Ortamlarına Yerleştirilmesi;	
E) Nar Tohumlarının Petriler İçerisinde Çimlendirilmesi ile Elde Edilmiş Bitkiciklerden Eksplantların Alınması;	
F) Bitkiciklerden Alınan Nar Eksplantlarının Petri İçerisindeki Ortamlara Yerleştirilmesi	20
Şekil 4.1. Çeşitlerin Kallus Oluşumu Üzerine Etkilerinin Gösterildiği Grafik.....	23
Şekil 4.2. Uygulamaların Kallus Oluşumu Üzerine Etkisi.....	26
Şekil 4.3. Eksplant Tiplerinin Kallus Oluşumu Üzerine Etkisi.....	28
Şekil 4.4. Kallus Gelişimi. 2 mg/l Spermin + 0.1 mg/l BA Silifke Aşısı	
A) Hipokotil;	
B) Kotiledon;	

- C) Yaprak;
D) Kök Kallus Gelişim Durumları29
- Şekil 4.5.** Kallus Gelişimi. 2 mg/l Spermin + 0.1 mg/l BA Hicaz
A) Hipokotil;
B) Kotiledon;
C) Yaprak;
D) Kök Kallus Gelişim Durumları29
- Şekil 4.6.** Kallus Gelişimi. 0.1 mg/l BA Silifke Aşısı
A) Hipokotil;
B) Kotiledon;
C) Yaprak;
D) Kök Kallus Gelişim Durumları30
- Şekil 4.7.** Kallus Gelişimi. 0.1 mg/l BA Hicaz
A) Hipokotil;
B) Kotiledon;
D) Kök Kallus Gelişim Durumları30
- Şekil 4.8.** Kallus Gelişimi. 4 mg/l Sper + 0.1 mg /l BA Hicaz
A) Hipokotil;
B) Kotiledon;
C) Yaprak;
D) Kök Kallus Gelişim Durumları31
- Şekil 4.9.** Kallus Gelişimi. 4 mg/l Sper + 0.1 mg /l BA Silifke Aşısı
A) Hipokotil;
B) Kotiledon;
C) Yaprak;
D) Kök Kallus Gelişim Durumları31
- Şekil 4.10.** Kallus Gelişimi. 4 mg/l Spermin + 0.1 mg/l BA + 2.5 mg/l 2.4-D Silifke AŞISI
A) Hipokotil;
B) Kotiledon;
C) Yaprak;

D) Kök Kallus Gelişim Durumları32

Şekil 4.11. Kallus Gelişimi. 4 mg/l Spermin + 0.1 mg/l BA + 2.5 mg/l 2.4-D Hicaz

A) Hipokotil;

B) Kotiledon;

C) Yaprak;

D) Kök Kallus Gelişim Durumları32

SİMGE VE KISALTMALAR

BAP	: 6-Benzylamino Purin
°C	: Santigrat derece
IAA	: Indole-3-asetik asit
GA ₃	: Giberellik Asit
l	: Litre
MS	: Murashige and skoog ortamı
mg	: Miligram
mg/l	: Miligram/Litre
ml	: Mililitre
NAA	: Naftalen Asetik asit
Mm	: Mikromolar
µl	: Mikrolitre
%	: Yüzde
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
WP	: Woody Plant (Besin Ortamı)
IBA	: Indol 3- butrik Asit
TDZ	: Tidiazuron
AVG	: Aminoethoxyvinylglicine
2,4-D	: Dichlorophenoxyacetic acid
Z	: Zeatin
K	: Potasyum
Mg	: Magnezyum
NH ₄	: Amonyum
2İP	: İzopentil Adenin
g	: Gram
s	: Saat
dk.	: Dakika

1. GİRİŞ

Punicaceae familyasında yer alan ve bir ılıman iklim meyve türü olan narın anavatanı Ortadoğu, Anadolu ve Kafkasya ile İran körfezi arasında kalan bölge olup binlerce yıldır üretimi ve tüketimi yapılmaktadır (**Özgüven ve Yılmaz, 2000**). Nar (*Punica granatum*) Ülkemizde yıllardır yetiştirilen geleneksel bir meyvedir. Nisan sonu ile haziran başı arasında çiçeklenmektedir. Çiçeklenme periyodu yaklaşık 1-1.5 aydır. Meyve olgunlaşması ağustos sonu ile kasım ortasına kadar sürer. Andromonoik bitki özelliğine sahip olup böcek veya rüzgârla tozlanır. Genelde subtropik iklim bitkisi olmasına rağmen, -10 C°'ye kadar dayanabilmektedir.

Nar pek çok iklim koşullarında sorunsuz yetiştirilebilen bir meyvedir. Yetiştiriciliğinin yapılacağı bölgede yazların uzun ve sıcak, kışların ılık ve yağışlı olması gerekmektedir. Narın soğuklama gereksinimi hemen hemen yok gibidir. Meyvelerini olgunlaştırabilmek için vejetasyon dönemi içinde yüksek bir sıcaklık toplamı ister. Nar, ülkemizin serin iklim bölgelerinde (İç Anadolu gibi) mayısta, sıcak iklim bölgelerinde (Akdeniz gibi) ise nisanda çiçeklenmeye başlar. Çiçeklenme haziran ayına kadar sürmektedir. Yıllık ortalama 500 mm'lik yağış yetiştiricilik için yeterlidir. Yaz aylarındaki yağışlar meyve kalitesini bozmakta, özellikle olgunluğa yakın dönemlerde meyve çatlamalarına neden olmaktadır. Meyve olumu döneminde kuru hava koşulları, kaliteli meyvelerin oluşması bakımından önemlidir.

Nar, pek çok meyve ağacından daha geniş toprak çeşidine uyum gösterebilir. Derin, alüviyal topraklar nar yetiştiriciliği için en uygun topraklardır. Fakat kumlu, killi, kireçli topraklarda da yetiştirilir. Tuzluluğa orta derecede dayanıklıdır.

Odun çeliği, yeşil çelik veya tohumla çoğaltılabilir. Tohumlar, dinlenme istemeden kolaylıkla çimlenebilir fakat elde edilen bitkiler adına doğru olmadığı için ticari yetiştiricilikte kullanılamaz. Gelişme döneminin sonuna doğru yeşil çelikle çoğaltma yapılabilir. Bu yeşil çelikler sisleme kasalarına dikilerek kışın sera içinde köklendirilir. Fakat bu yöntem çok az kullanılır. Odun çelikleriyle çoğaltma en kolay ve başarılı yöntemdir. Çelikler 20-25 cm uzunluğunda, 6-12 mm kalınlığında olacak şekilde hazırlanır.

Günümüzde nar yetiştiriciliği ABD, Afganistan, Çin, Fas, Filistin, Hindistan, İran, İspanya, İsrail, İtalya, Mısır, Suriye, Tayland, Türkiye gibi ülkelerde yapılmaktadır. Dünya nar üretimi yaklaşık 800 bin ton'dur (**Özgüven ve Yılmaz, 2006**). Ülkemizin nar üretim alanı 115 bin dekadır ve dünya nar ihracatında ikinci sırada bulunmaktadır (**Kobi Finans, 2008**).

Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde nar yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye, nar üretiminde dünyada ikinci sıradadır. Dünya nar üretiminde birinci sıradaki ülke ise İran'dır. 2005 yılında 80 bin ton olan yıllık nar üretimimiz 2006'da 91 bin ve 2007'ye geldiğinde ise rakam 102 bin tona ulaşmıştır. Türkiye'de nar üretiminin % 61,8'i Akdeniz'de, % 23,3'ü Ege'de ve % 9,1'i de Güneydoğu Anadolu'da yapılmaktadır. En fazla nar üretilen il ise Antalya'dır. İran'ın ilk sırada yer aldığı 800 bin tonluk dünya nar üretiminde, Türkiye'yi Pakistan, Azerbaycan, Hindistan ve İspanya izlemektedir (**Bayraktar, 2008**).

Son yıllarda önem kazanan bir ihraç meyvesi olmakla birlikte ilaç, boya, mürekkep, yağ, hayvan yemi, tanen, sirke gibi ürünlerin elde edilmesinde hammadde olarak kullanılmaktadır. Nar, tatlı, mayhoş ve ekşi olmak üzere farklı üç tat değerine sahiptir. Demir, Potasyum ve C vitamini açısından çok zengindir. Tansiyon düşürücü, ferahlatıcı, serinletici olarak, dizanteri ve ishal tedavisinde kullanılmaktadır. Doğal bir ilaç olarak görülen nar, Japonya'da AIDS'i tedavi ettiğine inanılan dokuz patentli bitkiden biridir. Yurtdışında nar çekirdeği ilaç hammaddesi olarak kullanılmaktadır (**Özgüven ve Yılmaz, 2000**).

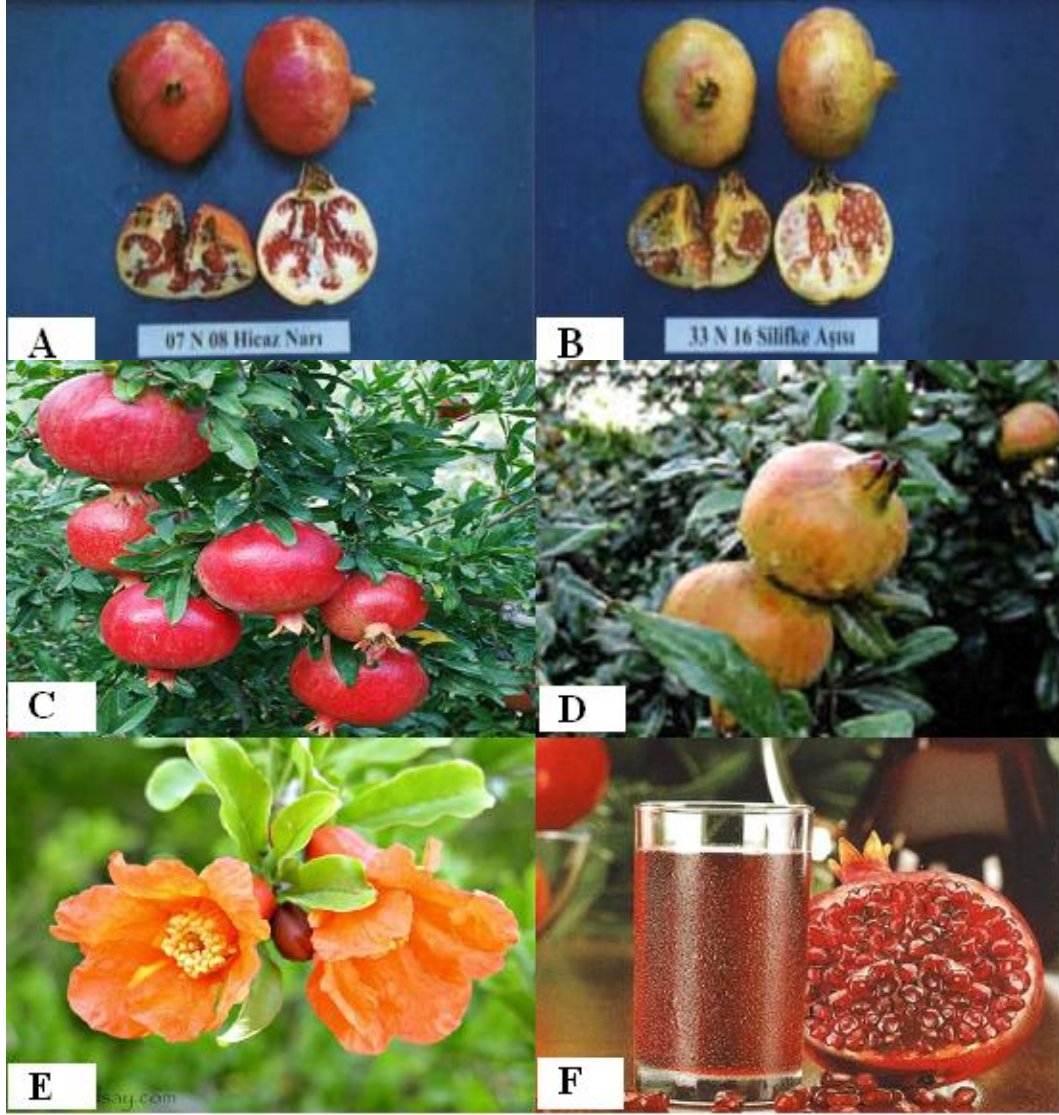
Bitki hücrelerinden embriyo elde edilmesi döllenmiş yumurta hücresi ile sınırlı değildir. *In vitro* kültür şartlarını ve özellikle de bitki büyüme düzenleyicilerini ayarlayarak bir bitkinin herhangi bir somatik hücre, doku veya organından embriyo elde etmek mümkün olabilmektedir. Somatik hücrelerden gelişen embriyolar somatik embriyo olarak adlandırılmaktadır. Somatik doku hücreleri öncelikle yüksek oranda oksin (genellikle 2,4-D) içeren ortamda kültüre alınır, daha sonra da oksin içermeyen yeni ortama aktarılırsa embriyo üretme yeteneğini kazanmaktadır. Oksinlerin somatik bitki hücrelerine embriyo üretimi için yeniden zigotik bir kapasite kazandırdığı belirtilmektedir (**Monnier, 1990**). Döllenmiş yumurtadan gelişen embriyoda olduğu gibi, iki çenekli bitkilerde somatik

embriyolar da globular, kalp, torpido ve kotiledon oluşum safhalarını geçirirler (**De Jong ve ark., 1993**). Somatik embriyolar organogenesis yoluyla gelişen sürgünlerden farklılık gösterirler. Gövde-kök eksenine aynı zamanda sahip olup, asıl doku ile vasküler bağlantıları olmadığından dolayı dokudan kolaylıkla ayrılabilirler (**De Jong ve ark., 1993**). Genel olarak somatik embriyo üretimi için çok değişik bitki kısımları kullanılabilir. Günümüzde buğday (**Maes ve ark., 1996**), mısır (**Bronsema 1997; Emekliler ve ark., 1999**), çeltik (**Ozawa ve Komamine, 1989**), soya (**Hartweck ve ark., 1988**), bezelye (**Özcan ve ark., 1993**) ve yonca (**Lai ve McKersie, 1994**) gibi birçok önemli kültür bitkisinde yüksek oranda somatik embriyo üreten yöntemler geliştirilmiştir. Somatik embriyogenesis hızlı çoğaltımda, sentetik tohum üretiminde ve gen aktarımında önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak eksplant kaynağı, genotip, bitki büyüme düzenleyicileri, azot kaynağı ve çevre şartları gibi etmenler somatik embriyogenesisi önemli ölçüde etkileyen faktörlerdir. *In vitro* çalışmalarda kullanılan başlangıç bitki parçası eksplant olarak adlandırılmaktadır (**Tisserat, 1985**). Yüksek oranda başarı için eksplantın hızlı hücre bölünmesine sahip iyi gelişen ve sağlıklı bitkilerden alınması gereklidir. Olgun ve yüksek oranda organize olmuş dokuların embriyogenesis kapasiteleri son derece düşük olmaktadır. Eksplant alınacak olan bitkilerin yetiştirme şartları da embriyogenesisin başarısında önemli rol oynamaktadır. Işık, nem, toprağın besin durumu ve mevsimsel faktörler etkili olmaktadır (**Warren, 1991**). Genellikle sera şartlarında gelişen bitkiler tarlada yetişen bitkilerden daha iyi sonuç vermektedir. Genel olarak, otsu bitkiler, ağaç ve çalılara göre daha kolay rejenerasyon sağlamaktadır (**Pierik, 1987**). Somatik embriyo oluşturma frekansı bakımından türler arasında önemli farklılıklar gözlemlendiği gibi, aynı tür içerisindeki farklı genotip ve çeşitlerin dahi embriyo oluşturma kabiliyetleri farklı olmaktadır (**Parrott ve ark., 1993**). Besin ortamına ilave edilen büyüme düzenleyicilerden oksinler, somatik embriyo oluşumunu en fazla etkileyen bileşiklerdir. Embriyogenesis oluşumunu teşvik etmek için en fazla kullanılan oksin 2,4-D dir. Bunun yanı sıra α -naftalenasetik asit (NAA) gibi oksinler de kullanılmaktadır. Oksinler somatik embriyogenesisi teşvik etmek için kullanılmalarına karşın, ortamda oksinin sürekli bulunması somatik embriyoların gelişimini engellemektedir (**Parrott ve ark., 1993**).

Sitokininlerin besin ortamına ilave edilmesi genellikle somatik embriyo oluşumunu engellemektedir. Ancak tam bir embriyo olgunlaşması ve bitki gelişimi için içsel hormon seviyesine bağlı olarak çok düşük oranlarda sitokinin ve özellikle de benzi ladenin (BA) gerekli olmaktadır. Gibberellik asit embriyoların bitkiye dönüşümünü teşvik etmektedir. Ortama absisik asit (ABA) ilave edilmesinin anormal embriyo gelişimini engellediği belirtilmektedir (**Endress, 1994**). **Murashige ve Skoog (1962)** tarafından geliştirilen MS temel besin ortamı embriyogenesis çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Besin ortamına inositol ve sorbitol gibi şekerlerin katılması embriyo yapısını iyileştirirken, sakaroz ise embriyogenesisi teşvik etmektedir. Işık kaynağı, yoğunluğu ve süresi ile sıcaklık somatik embriyo oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Direk embriyogenesisinde, embriyolar ara bir kallus safhası olmadan eksplant doku üzerinde bulunan tek bir hücre veya hücre gruplarından gelişirler. Direkt embriyogenesis için en fazla kullanılan eksplant olgunlaşmamış zigotik embriyolardır (**Finer, 1995**). Bu eksplantlar da uygun bir gelişme safhasında olmalıdır. Genellikle tozlanmadan 14-15 gün sonra izole edilen zigotik embriyolar üzerinde en yüksek oranda somatik embriyo oluşumu gözlenmektedir. İndirek embriyogenesisinde eksplant yüksek oksin (genellikle 2,4-D) içeren besin ortamında kültüre alındığı zaman önce embriyogenik kallus oluşumu daha sonra da bu kallus üzerinde pro-embriyoların oluştuğu gözlenir. Bu kallus oksin içermeyen besin ortamına aktarıldığı zaman da pro-embriyolardan bipolar (kök ve sürgün ucu meristemleri aynı anda oluşan sürgün eksen) embriyolar oluşur ve şartlar uygun ise bu embriyolardan bitkicikler elde edilir (**Tisserat, 1991**).

Hayvan ve bitki hücrelerinde doğal olarak meydana gelen poliaminler hormondan çok sekonder mesajcı olarak adlandırılmaktadır. Çoğalan hücrelerde hızla sentez edilmeleri ve kolay taşınabilirlikleri nedeniyle, düşük molekül ağırlıkları, geniş kapsamlı etkileri ve organizmada çok yüksek düzeyde bulunmalarından dolayı poliaminler daha çok hormonlara benzerlik göstermektedir. İçsel poliaminlerin ışık, hormon, tozlanma, stres ve yaşlanma gibi uyarılara verdiği cevapları, taşınımları ve dışsal uygulama sonucundaki etkileri nedeniyle bitkilerde düzenleyici rol oynamaktadır. Poliaminler tek başlarına bitkiye uygulandıklarında, yaşlanma, embriyogenesis, kök büyümesi, çiçeklenme, hücre bölünmesi, nükleik asit

ve protein sentezi ve çimlenme gibi pek çok fizyolojik olayda etkili olabilmektedir. Diğer taraftan poliaminlerin tuz stresi, potasyum (K^+) ve magnezyum (Mg^{+2}) yetersizliği veya amonyum (NH_4^+) fazlalığı gibi stres koşullarında bitkilerde içsel olarak birikmektedir.



Şekil 1.1. Nar Bitkisi ve Ürünleri (A) Hicaz Nari Meyvesinin Görünümü (Anonim, 2006); (B) Silifke Aşısı Nar Çeşidi (Anonim, 2006); (C) Hicaz Nari Çeşidi (Anonim, 2008); (D) Silifke Aşısı Çeşidi (Anonim, 2009); (E) Nar Çiçeğinin Görünümü (Anonim, 2008); (F) Nar Meyve suyu (Anonim, 2008)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

MORIGUCHI ve ark. (1987) narın anterlerini benziladenin (BA) ve naftalen asetik asit (NAA) içeren besi ortamında kültüre alarak kültürden 30 gün sonra anter duvarlarında kallus oluşumu gözlemişler, daha sonra kallusleri düşük konsantrasyonlarda BA ve NAA içeren ortama aktararak, sürgün oluşumunu sağlamışlardır. Üretilmiş bitkiler vermikulit de köklendirilmiştir.

JAMES ve ark. (1988), elmada *in vitro* sürgünlerin yapraklarından hazırladıkları disk ve şeritlerde sürgün oluşturma oranını, 2,0 mg/l BA + 0,5 mg/l NAA + 0,1 mM (1.6 mg/l) veya 1 mM (16 mg/l) putresin ile % 90 düzeyine çıkartmışlardır.

BHANSALI, (1990), narın kotiledon dokularından oluşturulmuş somatik embriyolarından bitki rejenerasyonunu sağlamıştır. Embriyogenik hücre kümelerini RBM2 (1µm kinetin, 2 µm BA ve 5 µm 2,4 D) ortamında düzenli olarak alt kültüre almış ve hızlı olarak çoğalmayı sağlamıştır. Somatik embriyoların gelişmeye yönelik aşamalarında alt kültürler üzerine düşük seviyede 2,4-D uygulaması yapılarak RBM3 ve RBM4 ortamlarında embriyoların olgunlaşmalarını sağlamıştır.

ZHANG ve ark. (1991), yaptıkları çalışmada süs narının terminal sürgün parçalarını değiştirilmiş MS ortamında kültüre almışlardır (2 µm NAA ve 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0, veya 16,0 µm BA ya da 2µm BA ve 0, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0, veya 16,0 µm NAA). Kültürler 25 °C 16 s foto periyotta 50 µm'lik ışık akımında korunmuştur. İki µm NAA ve 1 µm BA içeren ortamda sürgün oluşumu artmıştır (5,2 sürgün/eksplant). İki µm BA ve 1µm NAA içeren ortamda gelişme artmıştır (6,6 sürgün/eksplant). BA konsantrasyonu 1 µm veya NAA konsantrasyonu 3 µm olduğunda sürgün uzamasının azaldığını bildirmişlerdir.

YANG ve ark. (1993), yaptıkları çalışmada bodur nar bitkisinin, yaprak ve gövde parçalarını *in vitro*'da kallus oluşturmak için kültüre almışlar ve kültüre aldıktan 2 ay sonra sürgün oluşumunun başladığını gözlemlemişlerdir. 1/2 MS olarak değiştirilen ortamda uzamış sürgünlerin kolay köklendiğini belirtmişlerdir. Köklenen sürgünleri sisleme ortamı olan sera içerisinde toprağa aktarmışlardır.

NATARAJA ve ark. 1996), narda somatik emriyogenesis çalışmaları için petal yapraklarını kullanmışlardır. Beş mg/l IAA, IBA ya da NAA içeren MS ortamında, sadece kök eksplantlarından, 5 mg/l BA ya da kinetin içeren MS ortamında ise sürgün eksplantlarından kallus oluşumunu gözlemlemişlerdir. Farklı eksplant tiplerinde ise 5 mg/l IAA ve 5 mg/l BA de farklılaşmalar saptamışlardır. Ancak bitki eksplantları alt kültüre alındığında kök ya da sürgün eksplantlarında en iyi kallus oluşumunu, 1/2 tuz ve % 4 sukroz eklenmesiyle modifiye edilmiş MS ortamlarında gözlemişlerdir.

FOUGAT ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada narın dört eksplant tipini (yaprak, sürgün, nodal segment, kotiledon), değişik büyüme düzenleyiciler ile desteklenmiş MS ortamında kültüre almışlardır. Fenolik birleşiklerin salgılanması başlangıçta bir dizi sorun oluşturmuş fakat eksplantlar değişik konsantrasyonlarda antioksidan bileşikler yani polivinil hyrrolidone ve askorbik asit olan ortamda 2-3 günlük ön işleme bu sorunun üstesinden gelmişlerdir. Kotiledon ve yaprak parçalarından kallus ve organların gelişiminin 4 mg/l NAA, 2 mg/l kinetin ve % 15 hindistan cevizi suyu ile desteklenmiş MS ortamında en iyi şekilde olduğunu görmüşlerdir. Alt kültüre alınmış bu kalluslardan 2 mg/l NAA + 2 mg/l BA ile desteklenmiş MS ortamında değişik sürgünler oluşmuş ve bunu iyi bir şekilde sürgün gelişimi takip etmiştir. Kotiledon ve yaprak parçalarından, virüsten ari bitkicikler oluşmuş ve sürgün meristemleri en iyi olarak 0,5 mg/l kinetin, 1 mg/l BA ve 500 mg/l cycloheximide ile desteklenmiş MS ortamından sağlanmıştır. Araştırmacılar MS ortamına 4 mg/l NAA, 2 mg/l Kinetin ve % 15 Hindistan cevizi katıldığında tüm eksplant kaynaklarından sürgünlerin meydana geldiğini gözlemlemişlerdir.

DRAZETA ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada başlangıç eksplantı olarak hastalıktan ari nar bitkilerinin apikal, vejetatif tomurcuklarını kullanmışlar ve farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri bulunan MS ortamında gelişimi gözlemişlerdir. 0,1 mg/l NAA ve 0,5 mg/l'den az BA içeren ortamda en iyi gelişim ve sürgün çoğalmasını sağlamışlardır. Değişik oranda IBA içeren ortamda sürgünler köklendirilmiş, köklenmiş bitkiler toprağa aktarıldıktan dört hafta sonra dokuları sertlik kazanmıştır.

KANTHARAJAH ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada bitki büyüme düzenleyicilerinin (BA ve NAA), MS, 1/2 MS'in ve narın odunsu dokularının *in vitro* çoğaltım üzerine etkilerini araştırmışlardır. Nodal eksplantlar ve yapraklardan kallus kültürünü başlatmışlar, başlangıç kalluslarının her birini 1 mg/l BA (yaprak eksplantı) ya da 1 mg/l BA + 0,4 mg/l NAA (nodal bitki parçası) içeren ortama yerleştirmişlerdir. Yaprak kalluslarının gelişiminin MS ve WP (woody plant) ortamlarında farklı olduğu görülmüş ve sekiz hafta sonra sürgün elde edilmiştir.

NAIK ve ark. (2000), hastaliksız nar fidelerinin kotiledonlarını alarak rejenerasyon için kullanmışlardır. Sürgün çoğaltımında sitokinin konsantrasyonları ya da farklı sitokininlerin etkisinin önemli olduğunu belirtmişler ve sürgün gelişimlerinin, 2.3-23 µM BA ya da kinetin içeren MS ortamlarında kotiledonlardan meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. En fazla sürgün oluşumunu, dokuz µM BA içeren ortamdan elde etmişlerdir. Meydana gelen sürgünleri aynı ortamlarda alt kültüre almışlar ve bu şekilde kardeşlenmeyi sağlamışlardır. Böylece tek kotiledondan 60 günde yaklaşık 30-35 sürgün gözlemlemişlerdir. Sürgünler 0,054–5,4 µM NAA içeren 1/2 MS ortamında köklendirilmiştir. 0,54 µM NAA içeren ortamlarda sürgünlerin köklenmesinin diğer oksin konsantrasyonlarına nazaran daha yüksek sonuçlar verdiğini saptamışlardır.

BAIS ve ark. (2000), *Cichorium intybus* L. cv. 'Lucknow' genotipinde, 40 mM (6.44 g/l) putrasinin *in vitro* sürgün sayısını 34.6 adede kadar yükselttiğini bildirmişlerdir. *Cichorium intybus* L. cv 'Lucknow' yerel hindiba çeşidinde putresin ve AgNO₃ sürgün çoğalması üzerine etkilerini araştırmışlardır. Ortama 2İP (2,0 mg/l) ve GA₃ (0,5 mg/l) ilave edilip 35. gün incelendiğinde en fazla sürgün sayısı (34.6±2.61) ve sürgün uzunluğu (7.6 ± 0.57) cm olarak bulunmuştur. Aynı ortama 40 µM AgNO₃ uygulandığında 35. günde en fazla sürgün sayısı (36.8 ± 2.63) ve sürgün uzunluğu (7.9 ± 0.76) cm olarak saptanmıştır. İçsel salgıda 7-21. gün çekilen spermidin aniden azalmıştır. Oysa 28. günde çekilen içsel spermin miktarının en üst noktada olduğu saptanmıştır (1265 ± 94,9 n moles g taze ağırlık). Sonra 40 mM putresin ile muamele edilmiştir. Oysa 40 µM AgNO₃

bulunan örneklerde 14. günde en yüksek Spermin (1405 ± 105.6 n moles g taze ağırlık) oranı saptanmıştır. Tüm kültür aşaması boyunca diğer uygulamalar içsel salgıların azaldığını göstermiştir. Her ikisinde de putresin (40 mM) 28. günde, $AgNO_3$ (40 μM) 14 günde bitkisel başlangıç ve bitkisel gelişimi sağlamıştır. poliamin inhibitörü olarak DFMA ve DFMO kullanılarak hindiba sürgününde içsel poliamin çekilmesi ve putresin (40mM) ve $AgNO_3$ (40 μM) kullanılarak ise morfogenetik tepki araştırılmıştır. DFMA ve DFMO uygulandığında poliamin havuzundan içsel çekilime morfogenetik tepki azalmıştır. Hindiba sürgün kültüründe dışarıdan putresin eklenmesiyle etilen ürünleri azalmıştır. Bu çalışma ile hindiba çeşidinde sürgün tomurcuklarında başlangıç sürgünlerinin çoğalmasına poliaminlerin etkileri ve putresin ile $AgNO_3$ 'ün poliamin sentezinin ayarlanmasına etkisi ilk kez gösterilmiştir.

SOUMENDRA ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada sürgün gelişim ortamında etilen engelleyicilerinden $AgNO_3$ (20 $\mu M/l$) ya da aminoethoxyvinylglycine (AVG) 10 $\mu M/l$ bulunması halinde hem sürgün rejenerasyonu hem de kotiledon parçalarından sürgün oluşumunda yüzde oranda artış belirlemişler ancak $AgNO_3$ ve AVG'nin sürgün gelişimini teşvik edici bir özelliğinin olmadığını belirtmişlerdir.

JIANZHU ve ark. (2003), tetraploid nar (*Punica granatum* L. var. 'Nana') da bitkilerin doku kültüründe çoğaltımını kolhisin uygulamasıyla gözlemlemişlerdir. 10 mg/l kolhisin, 1,0 mg/l BA ve 0,1 mg/l NAA içeren MS ortamında 30 gün süreyle % 20 gibi bir oranda tetraploid sürgünler elde etmişlerdir. Tetraploid olmayan sürgünler 114 saat 5000 mg/l kolhisin içeren ortamlara alınarak belirlenmiştir. Sürgünler 5000 mg/l kolhisinin 96 saat uygulanmasıyla alt kültürlerden sonra tetraploid ve diploitler olarak ayrılmışlardır. *In vitro*'da gelişen tetraploid bitkilerin diploid bir bitkiden daha kısa kök, daha geniş ve kısa yapraklara sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonraki aşamalarda tetraploid nar bitkileri normal toprakta yetiştirilerek çiçeklendirilmiş ve geliştirilmiş fakat sahip oldukları çiçekler diploitlerle karşılaştırıldığında, çaplarının arttığı boylarının ise azaldığı görülmüştür.

DUMANOĞLU ve ark. (2006), putresinin ayvada sürgün organogenesisi üzerine etkilerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada, putresinin 16 mg/l'lik dozu,

2,0 mg/l BA + 0,5 mg/l NAA ile birlikte uygulanmış, ancak hiçbir genotipte sonuç alınamamıştır.

GERMANA ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada Sicilya'da bulunan bazı nar türlerinin kotiledonlarının ve olgun yapraklarının *in vitro* yetiştirme tekniğiyle bazı etkenlere olan hassasiyetlerini ve tepkilerini araştırmışlardır. Mineral tuz denemesinde; Nino ve M15 genotipleri için 3 farklı mineral tuz kompozisyonunun (**Murashige ve Skoog, 1962**) (F2), (F6), Woody Plant (WP) (Besin ortamı) (1980) (F7) etkilerini araştırmışlardır. Nino genotipinde WP tuzları bulunan ortam, F7 aracı istatistiklerine göre daha yüksek oranda kallus oluşturmuştur (% 80). M15 genotipinde ise 3 ortamda var olan sonuçlar aynı bulunmuştur. Karbon kaynağı denemesinde ise; Nino, M15 ve Scaddanna genotipleri için 72 g/l sakkaroz (F1) ya da 18 g/l galaktoz + 36 g/l laktoz'un (F2) etkileri araştırılmıştır. İncelenen genotiplerde sakkaroz içeren ortamın en fazla kallus oluşturduğu (% 73,8 - 80) görülmüştür. Tidiazuron (Tdz) denemesinde ise, Nino ve Gaetano genotipleri için üç farklı değerde konsantre edilmiş Tidiazuron etkileri incelenmiştir. Fontanarossa genotipinin tohumlarının filizlenmesi için 18 g/l galaktoz + 36 g/l laktoz 0,02 mg/l NAA, 1,1 mg/l GA₃ ve yoğunlaştırıcı olarak da agar içeren **MS** ortamı kullanılmıştır. Filizlenme başladıktan sonra kotiledonlar alınıp iki ayrı yetiştirme ortamına yerleştirilmiştir (N6I ve N6II). Bu iki ortam içerisindeki mineral tuzlar aynı olmasına rağmen **MS** bazı noktalarda birbirlerinden farklılıklar göstermiştir. Petri kapları ışık akışı yoğunluğu 35 µM olan ve beyaz ışık veren florasan lamba altında 16 saatlik foto periyotlarla aydınlatılmışlardır. 25. günden sonra kotiledonlar için kullanılan üretim ortamında indirekt ve direkt organogenesis görülmüştür. N6I da yetiştirmeye konulan kotiledonların % 100'ü, N6II'de yetiştirmeye konulan kotiledonların % 98'i kallus oluşturmuştur.

3. MATERYAL VE METOD**3.1. Materyal**

Bitkisel materyaller Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü bünyesinde yetiştiriciliği yapılan Hicaz ve Silifke Aşısı çeşitlerinden alınmıştır.

07 N 08 Hicaz

Bu çeşit Antalya iline bağlı bir ova köyünde, deniz kıyısında, 6 x 6 m mesafelerle kurulan kapama bir bahçeden selekte edilmiştir. Geççi mayhoş narlar arasında en küçük meyvelere sahip olan çeşittir. Bu grupta en geç olgunlaşan çeşittir. Dip sürgünü verme eğilimi oldukça fazla, meyvelerde çatlama orta derecededir. Verimlilik açısından çok yüksek değerlere sahiptir. Meyve ağırlığı ortalama 350 g, meyve eni ortalama 91 mm'dir. Meyve kabuk rengi sarı zemin üzerine % 95 kırmızıdır. Daneler koyu kırmızı renkte ve 100 danesinin ağırlığı ortalama 26,1 g'dır. Asitlik ortalama % 1,9 olup ekşiye yakın mayhoştur. Çekirdekleri serttir. Suda çözünebilir kuru madde içeriği diğer çeşitlere göre oldukça yüksektir. Akdeniz bölgesinin sahil ve geçit yörelerinde iyi yetişmektedir (**Onur, 1982 ve 1988**).



Şekil 3.1. Hicaz Çeşidine Ait Meyveler (Ç.Ü Çiftçi Broşürü, 2006)



Şekil 3.2. Hicaz Çeşidi (Anonim, 2008)

33 N 16 Silifke Aşısı

Silifke ilçesinin geçit yörelerinde bir köyden selekte edilmiştir. Silifke Aşısı iri meyveli çeşitlerden biridir. Meyve eni ortalama 110 mm'dir. Bu çeşit 3,30 mm ile çok kalın kabuklara sahiptir. Kabuğu sarı zemin üzerine % 15 pembe renktedir. Ancak sarı kabuk rengi bu çeşitte parlak ve gösterişli bir yapıya sahip olup, kırmızı rengi aratmayacak niteliktedir. Daneler kırmızı renkli ve çok iridir. Yüz danesinin ağırlığı ortalama 58,4 g dır. Asitlik ortalama % 1,1 olup tatlı narlara yakın bir mayhoş tada sahiptir. Çekirdekler orta derecede serttir. Meyvelerinde çatlama durumu çok düşüktür. Akdeniz bölgesinin geçit yöreleri için uygundur (**Onur, 1982 ve 1988**).



Şekil 3.3. Silifke Aşısı Çeşidine Ait Meyveler (Ç.Ü Çiftçi Broşürü, 2006);



Şekil 3.4. Silifke Aşısı Çeşidi (Anonim, 2009)

3.2. Metod

Tez kapsamında Hicaz ve Silifke Aşısı çeşitlerinden olgunlaşmış nar meyvelerinin tohumları alınıp, sterilizasyona tabi tutulmuş, uçları kesildikten sonra, çimlendirme ortamlarında çimlendirilmiş ve bitkicikler elde edilmiştir. Somatik embriyogenesis için gerekli olan eksplantlar bu bitkiciklerden alınmıştır.

3.2.1 Somatik Embriyogenesis Denemeleri İçin Sterilizasyon Uygulamaları

Tez çalışmasında eksplantların alınacağı bitkiciklerin elde edilmesi için kullanılan nar tohumlarının sterilizasyonundan kaynaklanan kontaminasyon sorunuyla karşılaşılmıştır. Bu sorunu gidermek için iki aşamalı sterilizasyon yöntemi uygulanmıştır. Steril koşullarda gelişimi sağlanan bitkiciklerden alınan eksplantlar tekrar sterilize edilmemiştir.

Laboratuvar koşullarında pens ve bisturi yardımıyla uçları kesilen tohumlar, steril kabin içerisinde %70' lik etil alkolle 1 dk. muamele edildikten sonra bir defa saf su ile yıkanmış ve 1-2 damla Tween 20 içeren % 5' lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dk. bekletildikten sonra yine bir defa saf su ile yıkanmış, ikinci olarak 1-2 damla Tween 20 içeren % 10' luk sodyum hipoklorit çözeltisinde 5 dk. bekletilip ardından 5-6 defa saf su ile yıkanmıştır. Yüzeyi deterjandan arındırılmış olan nar tohumları Whatman filtre kâğıdı üzerinde kurutularak çimlendirme ortamına aktarılmıştır.

3.2.2. Eksplantların Kültüre Alınması ve Kültür Koşulları

Araştırmada, kallus oluşumu ve embriyo elde edilmesi aşamalarında MS makro, mikro elementleri, vitaminleri ve Fe-NaEDTA kompozisyonu ve bazal ortama ilave olarak 2,4-D, BA ve spermin kullanılmıştır. **Çizelge 3.1'** de MS temel besi ortamında bulunan besin maddeleri ve konsantrasyonları verilmiştir.

Somatik embriyogenesis ortamında ise farklı büyüme düzenleyicileri ve farklı kombinasyonları; 2,4- D (0,0- 2,5- 5,0), BA (0,0-0,1 mg/l) ve Spermin (0,0- 2,0- 4,0 mg/l) kullanılmış, kallus gelişimi, somatik embriyogenesis ve bitki gelişimi teşvik

edilmiştir. **Çizelge 3.2'** de somatik embriyogenesis denemesinde kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri konsantrasyonları ve kombinasyonları ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Besi ortamları hazırlandıktan sonra 121 °C'de, 1,05 kg/cm³ basınçta 15 dk. otoklav edilmiş, sonra her petride 20 ml olacak şekilde steril petrilere eşit olarak dağıtılmıştır. Eksplant tipi olarak yaprak, hipokotil, kök ve kotiledon kullanılmış, her eksplant tipi 5 yineleme, her yinelemede 5 eksplant olarak deneme kurulmuştur. Eksplantların gelişimleri, 25-26 °C ve 3000-4000 lüks ışık yoğunluğundaki büyütme odasında sağlanmıştır.

3.2.3 Tohumların Doku Kültürü Koşullarında Çimlendirilmesi

Uçları kesilen tohumlar steril edildikten sonra steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuş ve BA içeren MS + MS vitaminleri + 0,1mg/l myo-inositol + % 3 sukroz + % 7,5 g/l agar içeren besi ortamında 16 saatlik fotoperiyotta 25-26 °C'de küçük bitkiler oluşuncaya kadar kültüre alınmıştır (**Şekil 3.5**).



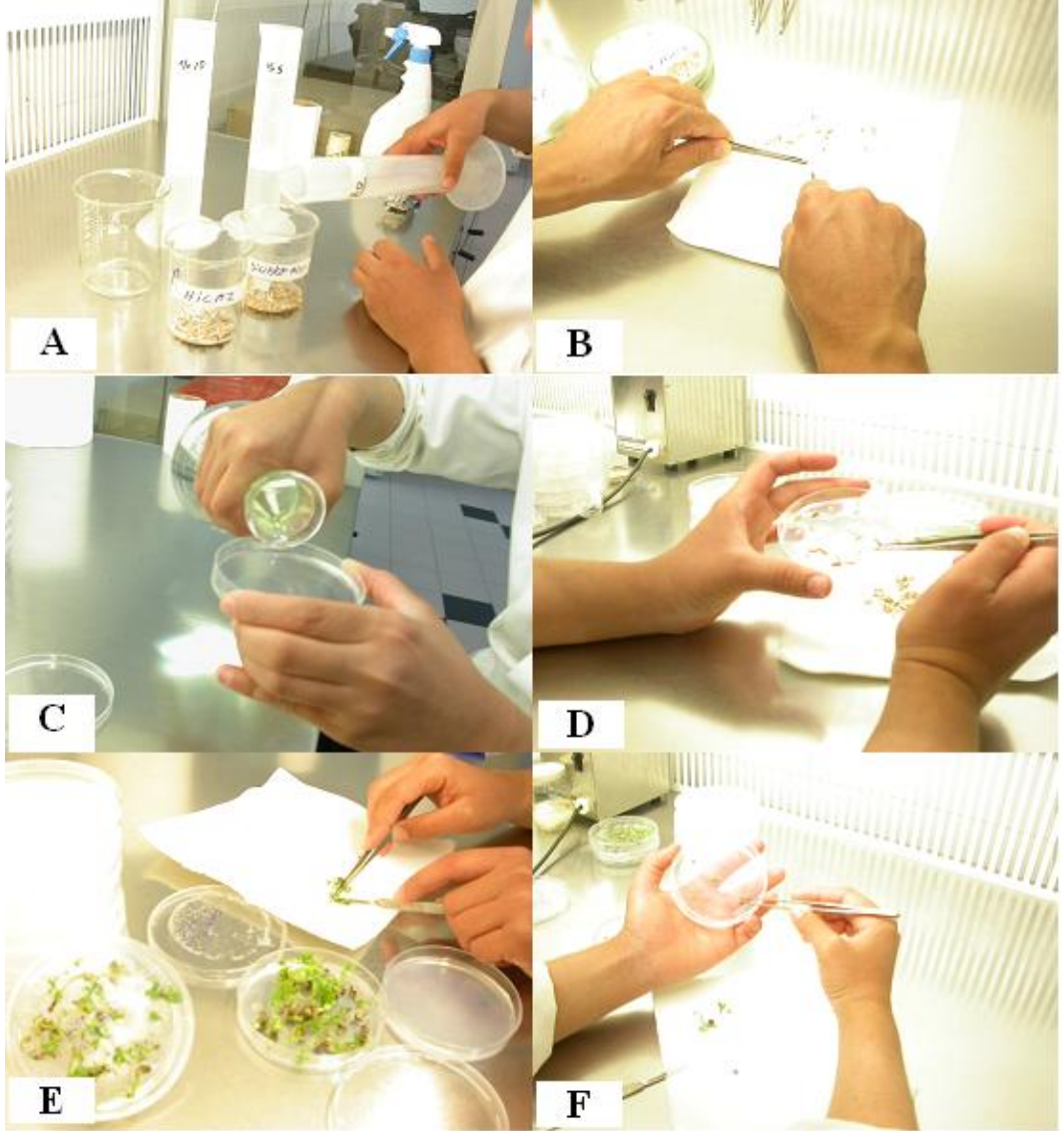
Şekil 3.5. Sterilizasyonu Yapılmış Nar Tohumlarının Çimlendirilme Ortamlarına Aktarılmadan Önce Uçlarının Kesilmesi

Çizelge 3.1. MS (Murashige ve Skoog, 1962) Temel Besin Ortamında Bulunan Besin Maddeleri ve Konsantrasyonları

Makro Bileşikler	
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
CaCl ₂	332,2
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Bileşikler	
MnSO ₄ H ₂ O	16,9
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6
H ₃ BO ₃	6,20
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,025
FeNaEDTA	36,72
Vitaminler	
Myo-inostol	100,0
Pyridoxine-HCl	50
Nicotinik Asit	50
Diğer	
Sakaroz (g/l)	30
Agar (g/l)	7
pH	5,7

Çizelge 3.2. Somatik Embriyogenesis Denemesinde Kullanılan Bitki Büyüme Düzenleyicileri Konsantrasyonları ve Kombinasyonları

Kullanılan Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Konsantrasyonları
BAP	0,0 mg/l
BAP	0,1 mg/l
2,4-D + BA	2,5 mg/l + 0,1mg/l
2,4-D + BA	5 mg/l + 0,1 mg/l
2,4-D + SPER	2,5 mg/l + 2 mg/l
2,4-D + SPER	5 mg/l + 2 mg/l
2,4-D + SPER	2,5 mg/l + 4 mg/l
2,4-D + SPER	5 mg/l + 4 mg/l
SPER + BA	2 mg/l + 0,1 mg/l
SPER + BA	4 mg/l + 0,1 mg/l
2,4-D + SPER + BA	2,5 mg/l + 2 mg/l + 0,1 mg/l
2,4-D + SPER + BA	2,5 mg/l + 4 mg/l + 0,1 mg/l
2,4-D + SPER + BA	5 mg/l + 2 mg/l + 0,1 mg/l
2,4-D + SPER + BA	5 mg/l + 4 mg/l + 0,1 mg/l
2,4-D	2,5 mg/l
2,4-D	5 mg/l
SPER	2 mg/l
SPER	4 mg/l



Şekil 3.6. (A) Nar Tohumlarının Kabin İçerisinde Sterilizasyonu; (B) Nar Tohumlarının Steril Ortamda ve Steril Aletlerle Uçlarının Kesilmesi; (C) Hazırlanan Besi Ortamlarının Petrilere Dökülmesi; (D) Nar Tohumlarının Petri İçerisinde Besi Ortamlarına Yerleştirilmesi; (E) Nar Tohumlarının Petriler İçerisinde Çimlendirilmesi ve Elde Edilmiş Bitkiciklerden Eksplantların Alınması; (F) Bitkiciklerden Alınan Nar Eksplantlarının Petri İçerisindeki Ortamlara Yerleştirilmesi

3.2.4. Elde Edilen Kalluslardan Embriyogenik Kallus ve Somatik Embriyo Elde Edilmesi

Kültürlerden elde edilen kalluslar MS içeren ortamlarda, embriyogenik kallus ve somatik embriyo elde edilmesi için alt kültüre alınmıştır. Kültürler sekizinci alt kültüre kadar devam ettirilmiştir.

3.2.5. Çalışmada Yapılan Sayım ve Gözlemler

Bu çalışmada, Hicaz ve Silifke Aşısı çeşitlerinden eksplant kaynağı olarak kotiledon, yaprak, hipokotil ve kök olmak üzere dört farklı eksplant kullanılmıştır. Her petriye beş eksplant olacak şekilde ve beş tekerrürlü bir deneme kurulmuştur. Kallus gelişimleri gözlemlenmiş, embriyogenik kalluslar morfolojik olarak (parlak ve kırılğan) ayırt edilmiştir. Her ortam ve eksplant için embriyogenik ihtimalli kallus oluşum oranları % olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar JMP 7.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Denemedeki ana faktörler (uygulamalar, genotipler ve eksplantlar) için ortalama karşılaştırmaları LSD metodu ile % 5 önem seviyesinde analize tabi tutulmuştur.

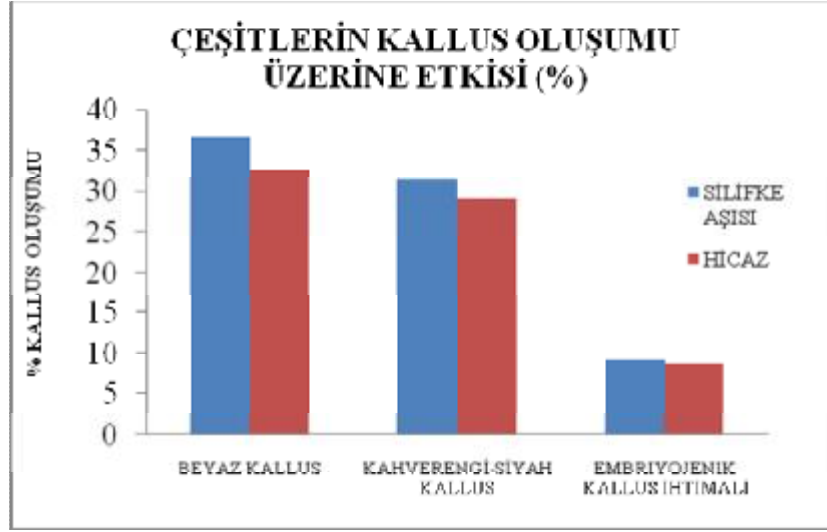
4. BULGULAR VE TARTIŞMA**4.1. Nar Çeşitlerinin Kallus Oluşumu üzerine Etkileri**

Çalışmada kullanılan nar çeşitlerinden Silifke Aşısının beyaz kallus oluşumu üzerine etkisi (% 36,60 a), Hicaz çeşidinden (% 32,58 b) daha iyi sonuç vermiştir. Nar çeşitlerinin kahverengi-siyah kallus ve embriyogenik ihtimalli kallus oluşumu üzerine istatistiki olarak etkili olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada gerek tohumların çimlenmesi gerekse çimlenmiş tohumlardan oluşan bitkilerden alınan eksplantların ortamlara yerleştirildikten sonraki gelişmelerinde, Silifke Aşısı çeşidinin çok daha iyi geliştiği gözlemlenmiş, bunun da çeşit özelliğinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 4.1. Çeşitlerin Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

ÇEŞİT	BEYAZ KALLUS (%)	KAHVERENGİ- SİYAH KALLUS (%)	EMBRIYOGENİK KALLUS İHTİMALİ (%)
SİLİFKE AŞISI	36,60 a	31,52	9,19
HİCAZ	32,58 b	29,09	8,74
LSD	0,339**	Ö.D.	Ö.D.

**P<0.01,



Şekil 4.1 . Kallus Oluşumu Üzerine Çeşitlerin Etkileri

4.2.Uygulamaların Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

4.2.1.Uygulamaların Beyaz Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

Çalışmada yer alan uygulamaların beyaz kallus oluşumu üzerine etkileri sırayla BA (0,1mg/l) + spermin (4mg/l) (% 68,46a), BA (0,1mg/l) + spermin (2mg/l) (% 65,09a), spermin (2mg/l) (% 65,09 a), BA (0,1mg/l) (% 61,96 a) ve 2,4-D (2,5mg/l) + BA (0,1mg/l) + spermin (2mg/l) (% 59,79a) olmuştur. Spermin, BA, spermin + BA konsantrasyonlarında beyaz kallus oluşumu en yüksek oranda bulunmuştur. Bu sonuç, **James ve ark. (1988)**' in elmada yapmış olduğu çalışma sonucunu desteklemektedir.Uygulamaların hem kallus hem de embriyogenik kallus gelişimine etkisi (Şekil 4.4), (Şekil 4.5), (Şekil 4.6), (Şekil 4.7), (Şekil 4.8), (Şekil 4.9)' da görülmektedir.

4.2.2.Uygulamaların Kahverengi- Siyah Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

Çalışmada yer alan uygulamaların kahverengi- siyah kallus oluşumu üzerine etkili olanlar sırayla 2,4-D (2,5mg/l) (% 71,31 a), 2,4-D (2,5mg/l) + spermin (4mg/l) (% 62,17 a), 2,4-D (5,0mg/l) + spermin (4mg/l) (% 48,34 b), 2,4-D (2,5mg/l) + spermin (2mg/l) (% 48,27 b) ve 2,4-D (2,5mg/l) + BA (0,1mg/l) + spermin (4mg/l) (% 42,78 b) olarak bulunmuştur. Gerek 2,4-D nin yalnız başına bulunduğu gerekse spermin ve BA ile oluşturduğu konsantrasyonlarda kahverengi- siyah kallus oluşum oranının yüksek olması, kahverengi- siyah kallus oluşumunda 2,4-D nin etkili olduğunu göstermektedir.

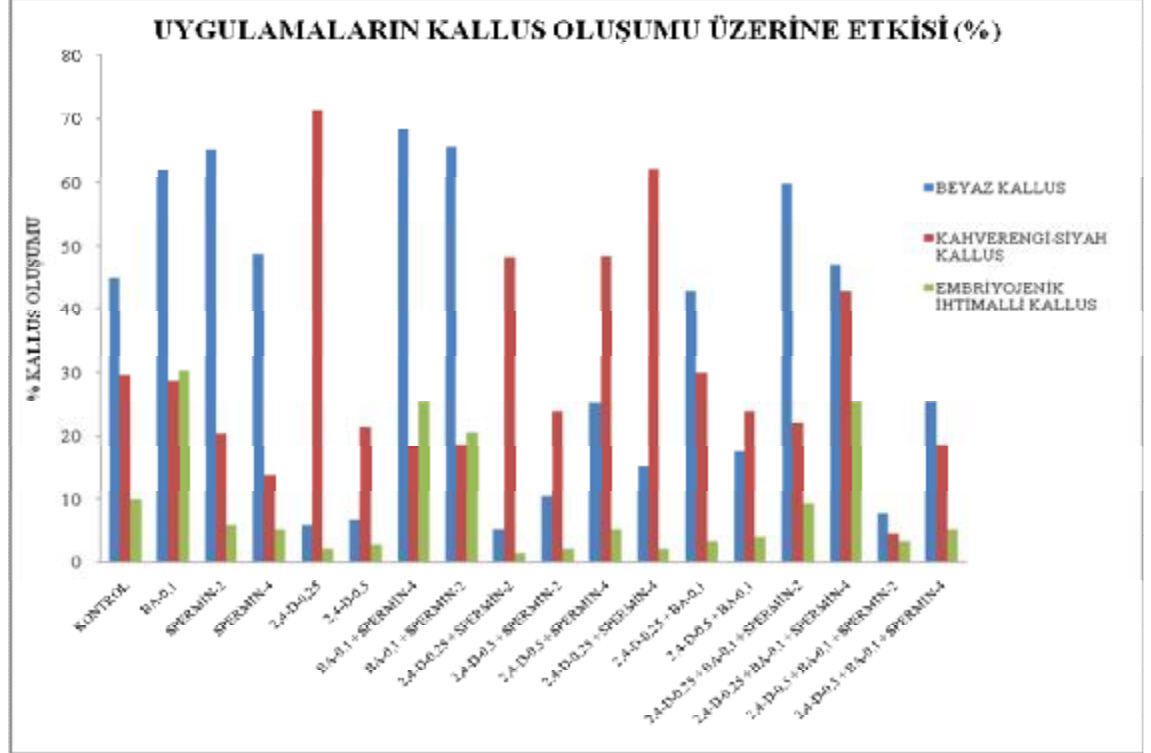
4.2.3.Uygulamaların Embriyogenik İhtimalli Kallus Oluşumuna Etkileri

Embriyogenik kallus oluşumu üzerine etkili olan uygulamalar sırayla BA (0,1mg/l) (% 30,26a), BA (0,1mg/l) + spermin (4mg/l) (% 25,23b), 2,4-D (2,5mg/l) + BA (0,1mg/l) + spermin (4mg/l) (% 25,23b), BA (0,1mg/l) + spermin (2mg/l) (% 20,51c) olarak saptanmıştır. BA, spermin + BA uygulamalarının sonuçları, **Moriguchi ve ark. (1987)**' nin sonuçlarını desteklemektedir. Yalnızca (0,1mg/l) BA içeren ortamların embriyogenik ihtimalli kallus oluşumunda en yüksek % değerine sahip olduğu görülmektedir. Her ne kadar BA + spermin konsantrasyonlarının embriyogenik ihtimalli kallus oluşum %' si yüksek olsa da bu durumun sperminin etkisinden kaynaklanmadığı, dolayısıyla spermin konsantrasyonlarının embriyogenik ihtimalli kallus oluşumunda etkili olmadığı sonucu çıkmaktadır. Elde edilen bu sonuç **Moriguchi ve ark. (1987)**, **Yang ve ark. (1993)**, **Fougat ve ark. (1997)**' nin yaptıkları çalışmalarda kullandıkları ortamlar gibi değişik ortamların kullanılması zorunluluğunu getirmektedir.

Çizelge 4.2. Uygulamaların Kallus Oluşum Oranı Üzerine Etkisi %

	BEYAZ KALLUS (%)	KAHVERENĞİ-SİYAH KALLUS (%)	EMBRIYOJENİK KALLUS İHTİMALİ (%)
KONTROL	44,94 b	29,64 c	9,92 d
BA-0,1	61,96 a	28,52 cd	30,26 a
SPERMİN-2	65,09 a	20,35 cde	5,76 def
SPERMİN-4	48,80 b	13,66 ef	5,12 efg
2,4-D-2,5	5,71 f	71,31 a	1,92 fg
2,4-D-5,0	6,60 f	21,24 cde	2,56 fg
BA-0,1 + SPERMİN-2	65,69 a	18,47 de	20,51 c
BA-0,1 + SPERMİN-4	68,46 a	18,24 de	25,23 b
2,4-D-2,5 + SPERMİN-2	5,07 f	48,27 b	1,28 g
2,4-D-2,5 + SPERMİN-4	14,98 def	62,17 a	1,92 fg
2,4-D-5,0 + SPERMİN-2	10,47 ef	23,79 cde	1,92 fg
2,4-D-5,0 + SPERMİN-4	25,12 c	48,34 b	5,09 fg
2,4-D-2,5 + BA-0,1	42,73 b	29,91 c	3,20 fg
2,4-D-5,0 + BA-0,1	17,28 cde	23,81 cde	3,84 fg
2,4-D-2,5 + BA-0,1 + SPERMİN-2	59,79 a	22,05 cde	9,28 de
2,4-D-2,5 + BA-0,1 + SPERMİN-4	47,05 b	42,78 b	25,23 b
2,4-D-5,0 + BA-0,1 + SPERMİN-2	7,54 ef	4,474 f	3,20 fg
2,4-D-5,0 + BA-0,1 + SPERMİN-4	25,32 c	18,47 de	5,12 efg
LSD	10,17***	10,59***	4,18***

***P<0.0001



Şekil 4.2. Uygulamaların Kallus Oluşumu Üzerine Etkisi

4.3.Eksplant Tiplerinin Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

4.3.1.Eksplant Tiplerinin Beyaz Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

Çalışmada yer alan eksplant tiplerinin beyaz kallus oluşumu üzerine etkili olanlar sırayla yaprak (% 38,05 a), kök (% 35,36 ab), hipokotil (% 32,51 ab) ve kotiledon (% 32,41 c) olarak saptanmıştır.

4.3.2.Eksplant Tiplerinin Kahverengi- Siyah Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

Çalışmada yer alan eksplant tiplerinin kahverengi - siyah kallus oluşumu üzerine etkileri sırayla kotiledon (% 37,26 a), hipokotil (% 30,75 b), yaprak (%29,74 b) ve kök (% 23,47 c) olarak belirlenmiştir (**Çizelge 4.3.**).

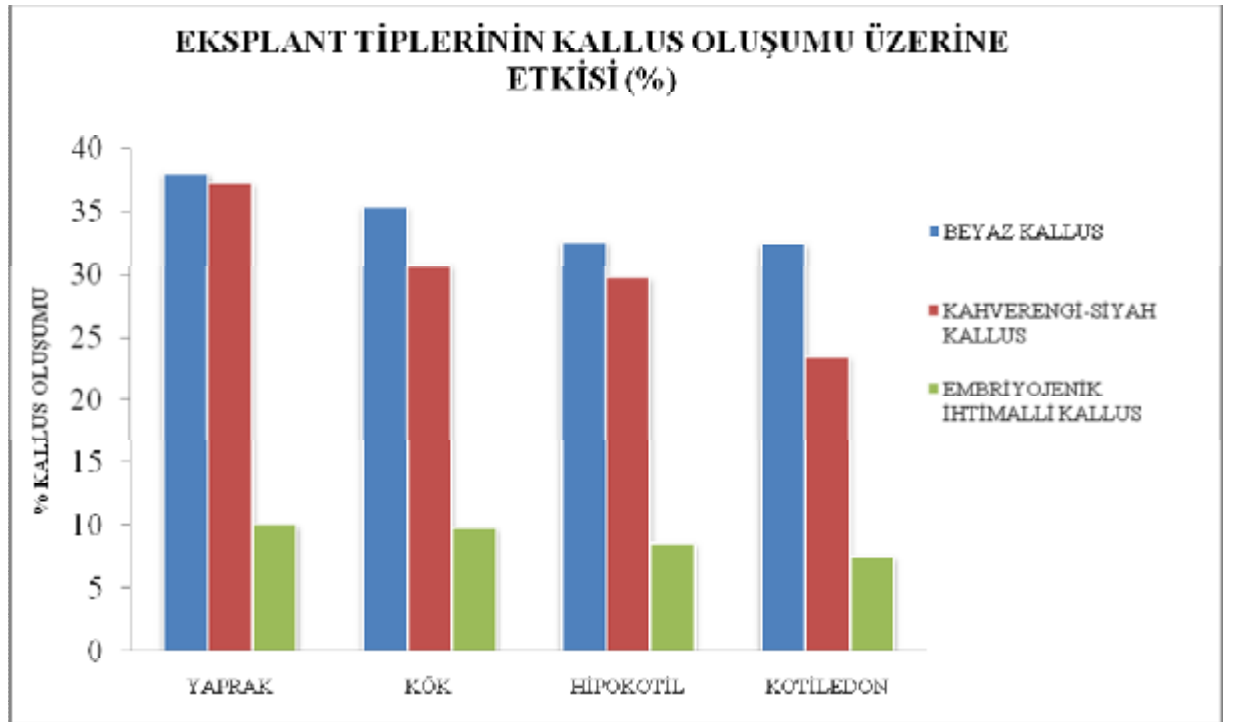
4.3.3.Eksplant Tiplerinin Embriyogenik Kallus Oluşumu Üzerine Etkileri

Embriyogenik kallus oluşumu üzerine eksplant tiplerinin etkileri incelendiğinde kotiledonun % 10,01 , hipokotilin % 9,78 , kök eksplantlarının % 8,53 ve yaprak % 7,53 oranında embriyogenik kallus oluşturduğu tespit edilmiştir. Kotiledon eksplantlarının embriyogenik ihtimalli kallus oluşumunda en yüksek yüzde oranına sahip olması **Bhansali, (1990)**' ın narın kotiledon dokularıyla yaptığı organogenesis çalışmasıyla örtüşmektedir. Bu araştırmacı narın kotiledon dokularından oluşturulmuş somatik embriyolarından bitki rejenerasyonunu sağlamıştır. Her ne kadar yaprak ve kök dokularında rejenerasyon başlangıcında ilk farklılaşma görülmüşse de ileriki aşamalarda kotiledon eksplantlarında embriyogenik kallus oluşumunun yüksek olduğu saptanmıştır. Ortamlarda kallus oluşumu başlangıcında, beyaz kallus oluşumu sırayla yaprak, kök, hipokotil, kotiledon eksplantlarında en fazla olmasına rağmen alt kültürlere alındıktan sonra, kallus gelişim aşamasında kalluslerde farklılaşmalar olmakta ve embriyogenik ihtimalli kallus oluşum sıralaması tam tersi bir özellik göstermektedir. Hipokotil eksplantı embriyogenik ihtimalli kallus oluşturma oranı bakımından kotiledon eksplantından sonra gelmektedir. İleride yapılacak çalışmalarda hipokotil eksplantlarının üzerinde durulması gerekmektedir. Elde edilen bu sonuç eksplantların ortamlarda gelişim özelliği olarak düşünülmektedir (**Şekil 4.4**), (**Şekil 4.5**), (**Şekil 4.6**), (**Şekil 4.7**), (**Şekil 4.8**), (**Şekil 4.9**).

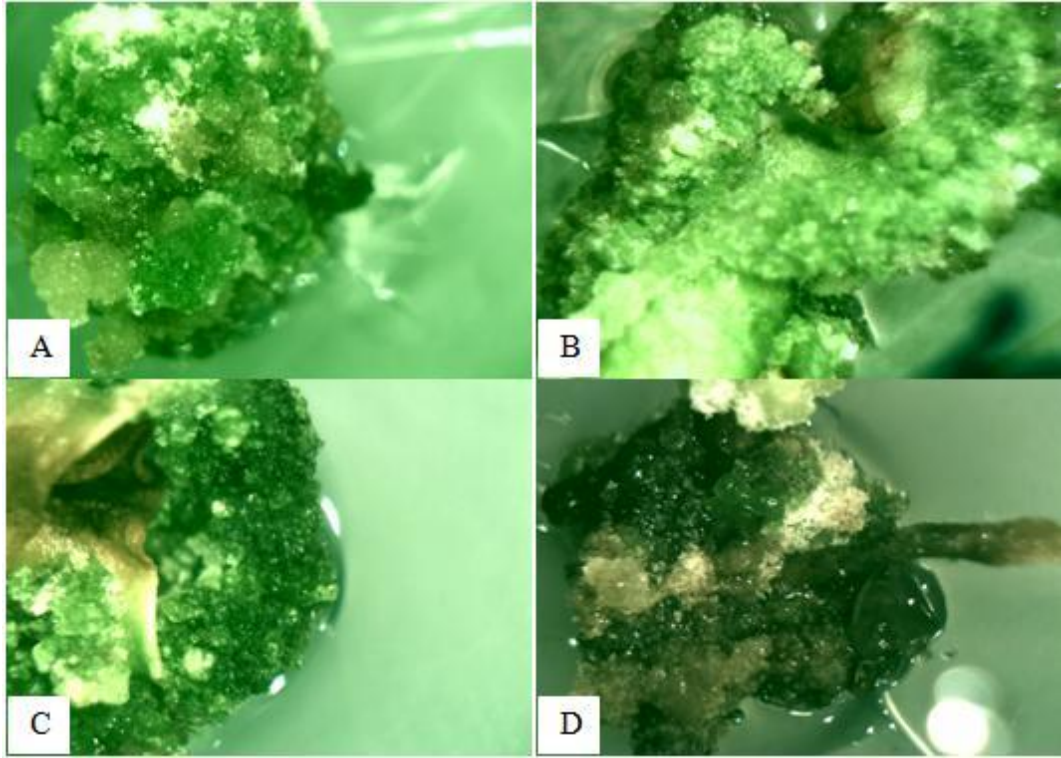
Çizelge 4.3. Farklı Eksplantların Kallus Oluşumu Üzerine Etkisi

	BEYAZ KALLUS (%)	KAHVERENGİ-SİYAH KALLUS (%)	EMBRIYOGENİK KALLUS İHTİMALİ (%)
YAPRAK	38,05 a	29,74 b	7,53 b
KÖK	35,36 ab	23,47 c	8,53 ab
HİPOKOTİL	32,55 ab	30,75 b	9,78 a
KOTİLEDON	32,41 c	37,26 a	10,01 a
LSD	4,79*	4,99***	1,97**

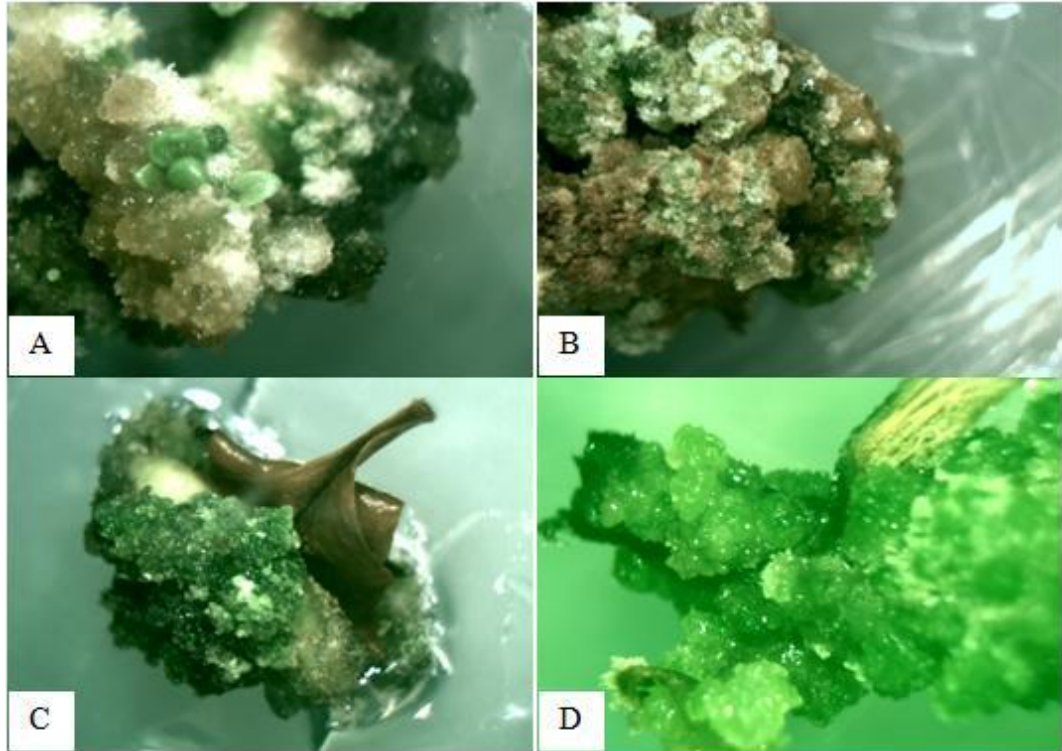
*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.0001



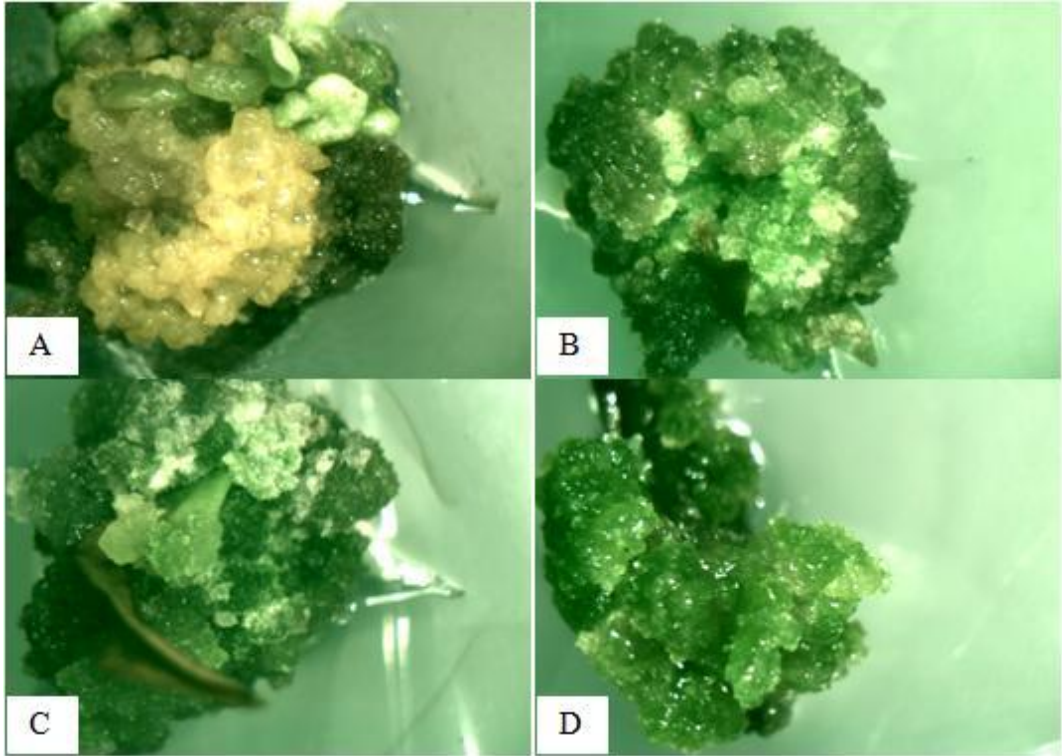
Şekil 4.3. Eksplant Tiplerinin Kallus Oluşumu Üzerine Etkisi



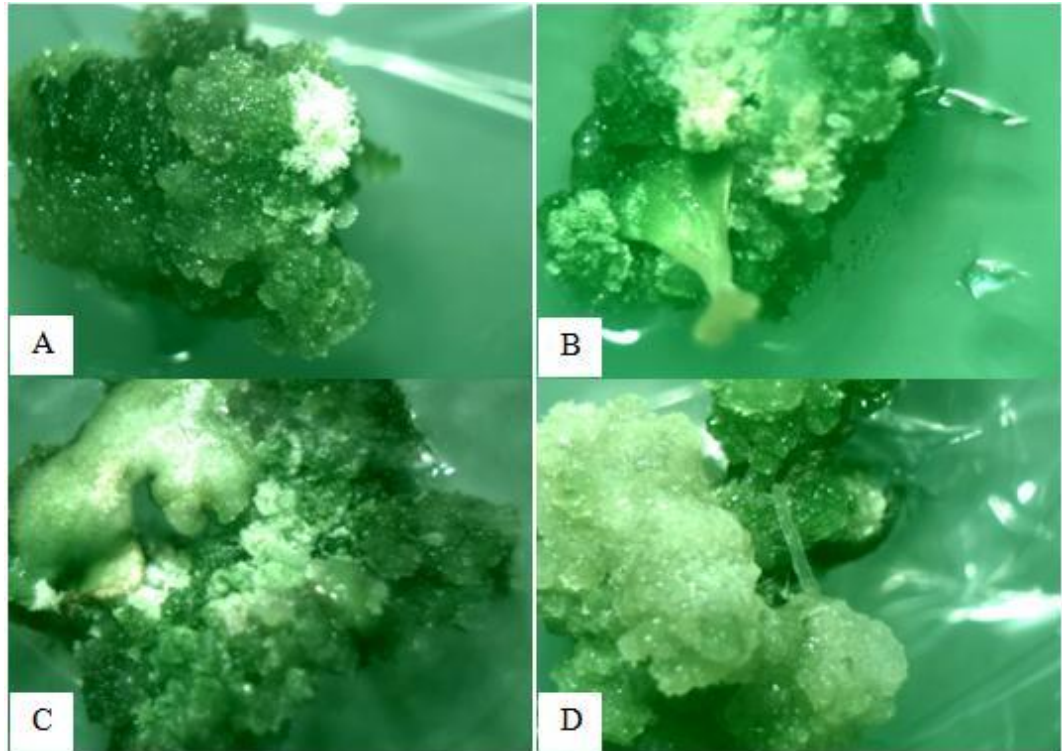
Şekil 4.4. Kallus Gelişimi. 2 mg/l Spermin + 0.1 mg/l BA Silifke Aşısı A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



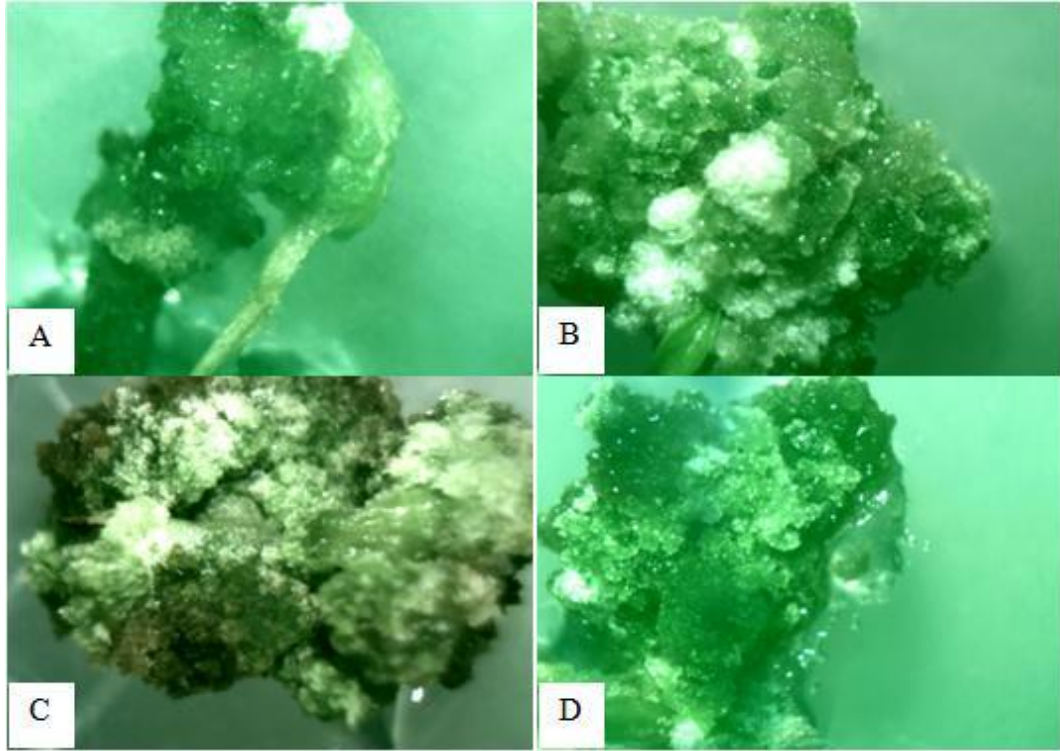
Şekil 4.5. . Kallus Gelişimi. 2 mg/l Spermin + 0.1 mg/l BA Hicaz A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



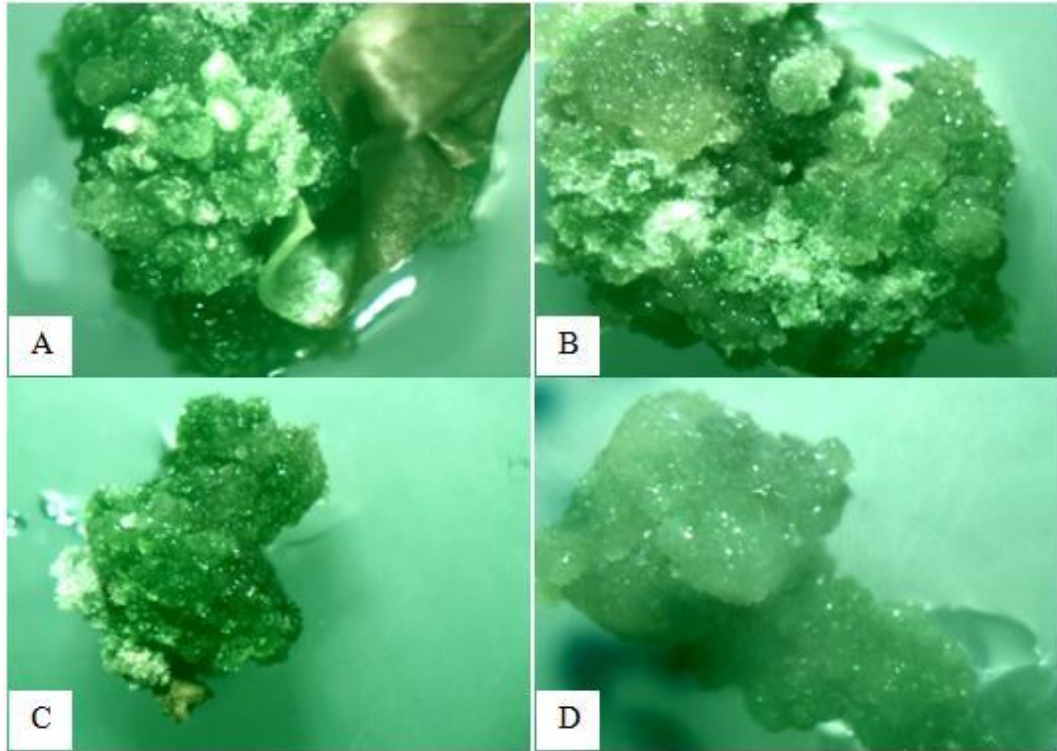
Şekil 4.6. Kallus gelişimi. 0.1 mg/l BA Silifke Aşısı A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



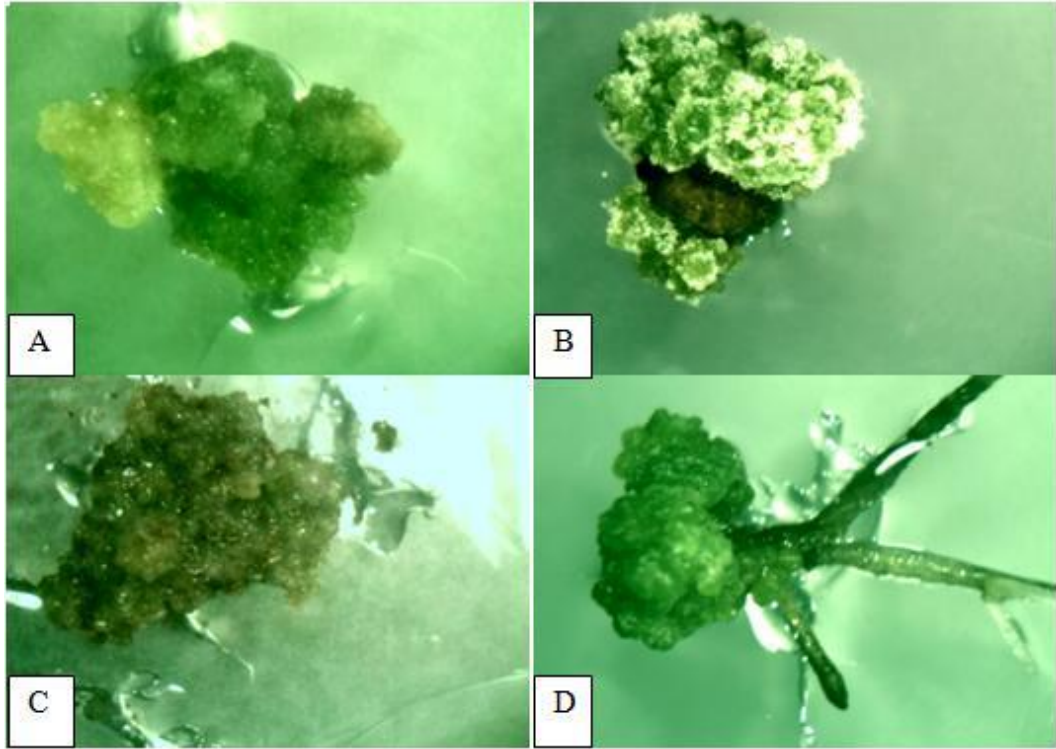
Şekil 4.7. Kallus gelişimi. 0.1 mg/l BA Hicaz A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



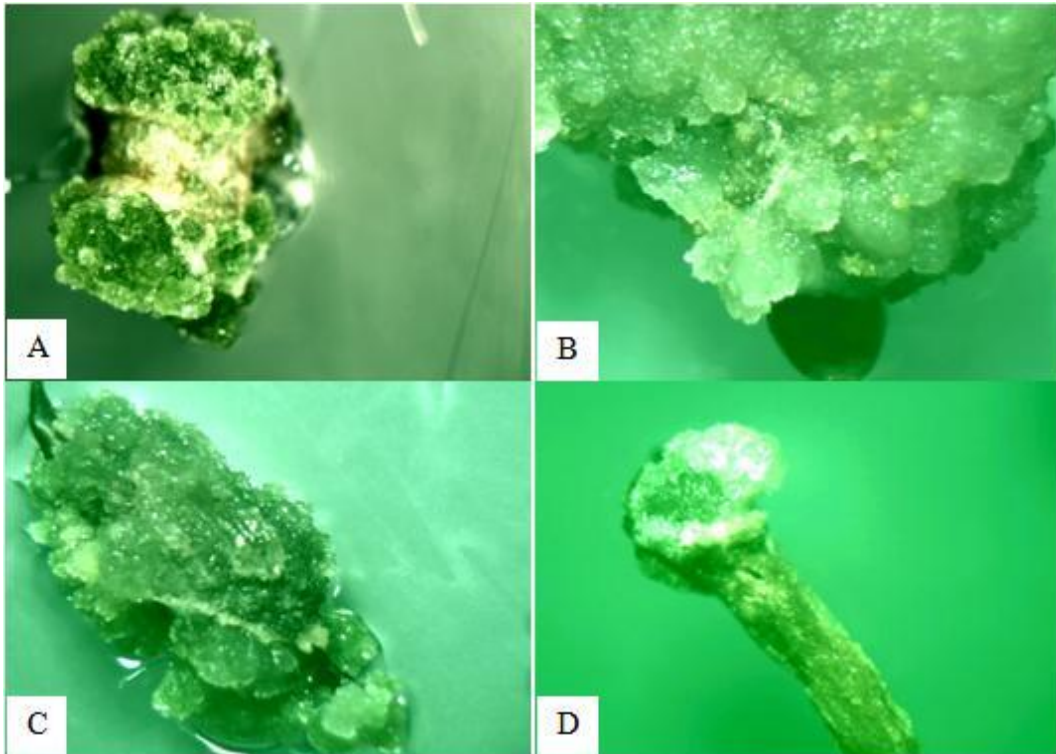
Şekil 4.8. . Kallus Gelişimi. 4 mg/l Sper + 0.1 mg/l BA Hicaz A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



Şekil 4.9. Kallus Gelişimi. 4 mg/l Sper + 0.1 mg/l BA Silifke Aşısı A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



Şekil 4.10. Kallus Gelişimi. 4 mg/l Sper + 0.1 mg/l BA + 2.5 mg /l 2,4 D Silifke Aşısı A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları



Şekil 4.11. Kallus Gelişimi. 4 mg/l Sper + 0.1 mg/l BA + 2.5 mg /l 2,4 D Hicaz A) Hipokotil; B) Kotiledon; C) Yaprak; D) Kök Kallus Gelişim Durumları

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan nar çeşitlerinden Silifke Aşısının beyaz kallus oluşumu üzerine etkisi (% 36,60) Hicaz çeşidinden (% 32,58) daha iyi sonuç vermiştir. Nar çeşitlerinin kahverengi-siyah kallus ve embriyogenik kallus oluşumu üzerine istatistiki olarak etkili olmadığı bulunmuştur. Silifke Aşısı çeşidinin beyaz kallus ve embriyogenik ihtimalli kallus oluşum oranının, Hicaz çeşidine göre daha yüksek olması, çeşit gelişim özelliği olarak düşünülmektedir. Kallus gelişimleri incelendiğinde (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9) BA, BA + spermin konsantrasyonlarının embriyogenik ihtimalli kallus oluşumunda önemli olduğu görülmektedir. Bundan sonra ki nar da somatik embriyogenesis çalışmalarında BA, BA + spermin kombinasyonlarının daha farklı konsantrasyonlarda ve daha farklı eksplant tipleriyle çalışılması önerilse de embriyogenik kallus oluşumunu artıran asıl faktörün BA olduğu belirlenmiştir. 2,4-D + BA+ spermin konsantrasyonu uygulanmış ortamlardaki hipokotil, kotiledon, yaprak, kök eksplantlarının (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11) , her iki çeşitte de önemli derecede beyaz kallus ve embriyogenik ihtimalli kallus oluşumu sağladığı görülmüş, oysa 2,4-D, 2,4-D + spermin konsantrasyonlarında en düşük embriyogenik ihtimalli kallus eldesi sonuçları alınmıştır. Bu sonuç da yapılacak somatik embriyogenesis çalışmalarında sadece 2,4-D ve 2,4-D + spermin konsantrasyonlarının kullanılması durumunda olumlu sonuçların alınamayacağını göstermektedir. Kotiledon eksplantlarının yüksek oranda beyaz kallus ve embriyogenik ihtimalli kallus oluşturdukları, bunda da ortamlara aktarılan kotiledon eksplantlarının daha iri, daha canlı olması ve ortamlara aktarılırken daha az zararlanmasının etkili olduğu düşünülmektedir. En düşük embriyogenik ihtimalli kallus oranının elde edildiği yaprak eksplantları ise en hassas eksplantlar olup, bu düşük sonucun alınmasında ortamlara aktarılırken oluşan zararlanmaların etkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışması sonunda her ne kadar embriyoya dönüşebilme ihtimali olan beyaz kallus oluşumu sağlanmışsa da embriyo ve bu embriyolardan bitki elde edilememiş olup, kullanılan değişik konsantrasyonların embriyo elde edilmesi için uygun olmadığı düşünülmüştür. Hormonlardan farklı olarak kullanılmış hormon

tabiatlı sperminin ve bunun değişik konsantrasyonlarının somatik embriyogenesiste embriyogenik kallus oluşumunda önemli etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında ileride yapılması gereken çalışmalardan bazıları aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

1- Nar da somatik embriyogenesis çalışmasında embriyo elde edilmesi için farklı hormon ve hormon konsantrasyonları denenerek araştırılmalıdır.

2- Embriyo elde edilmesi için farklı besin ortamları ve farklı eksplant kaynakları denenmeli ve bunlar arasındaki ilişki araştırılmalıdır.

3- Türkiye'deki önemli çeşitlerle somatik embriyogenesis çalışmaları sürdürülmeli, embriyo ve bitki elde edilmesi ile bunların sağlayacağı yararlar ve ekonomikliği araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- BAGNI, N., (1986).** The Function and Metabolism of Polyamines in Plants. *Acta Hort.* 179, 95-103.
- BAIS, H. P., SUDHA, G. S., RAVISHANKAR, G. A., (2000).** Putrescine and Silver Nitrate Influences Shoot Multiplication, *In Vitro* Flowering and Endogenous Titrers of Polyamines in *Cichorium intybus* L. cv. Lucknow Local. *J. Plant Growth Regul.* 19, 238-248.
- BAYRAKTAR, Ş., (2008).** Nar Üretiminde Yaşanan Artış Ürkütüyor İsimli Radikal Gazetesi Makalesi.
- BHANSALI, R. R., (1990).** Somatic Embryogenesis and Regeneration of in Plantlets in Pomegranate *Annals of Botany* 66, 249-253.
- BRONSEMA FBF., Van OOSTVEEN WJF., VAN LAMMEREN AAM., (1997).** Comparative anallysis of callus formation and regeneration on cultured immature maize embryos of the inbred lines A188 and A 632. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.*, 50: 47-65.
- DE JONG AJ, SCHIMIDT EDL DE VRIES SC (1993)** Early events in higher – plant embriyogenesis. *Plant mol. Biol.*, 22: 129-140.
- DRAZETA, L., (1997)** Pomegranate (*Punica granatum* L.) Propagation by *In vitro* Method of Tissue Culture *Journal Article*, 42/1, 49-59.
- DUMANOĞLU, H., AYGÜN, A., (2007)** Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesisi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, Cilt 13, Sayı 1.
- EMEKLİLER, Y., ÖZCAN, S., AVCI-BİRSİN, M., MİRİCİ, S., URANBEY, S., (1999)** Mısırdada in vitro somatik embriyogenesis üzerine araştırmalar. A: Ü. Araştırma fonu projesi (No: 97110901), Ankara.
- ENDRESS, R., (1994)** *Plant Cell Biotechnology.* Pp. 99-120, Springer-Verlag, New York.
- EVANS, P.T., MALMBERG, R. L., (1989).** Do Polyamines Have Roles in Plant Development ?, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 235-269.

- FINER, J.J., (1988)** Apical proliferation of embryogenic tissue of soybean. *Plant Cell. Rep.*, 7: 238-241.
- FİNİKE AKDENİZ WEB, (2008)** Finike' de Hicaz Narı Hasadı Başladı.
- FOUGAT, R.S. ,PANDYA, S.B. ,AHMAD, T. ,GODHANI, P.R., (1997)** *In Vitro* Studies in Pomegranate (*Punica granatum* L.) *Journal-of-Applied-Horticulture-Navsari*, 3:1-2, 23-29.
- GERMANA, M. A.,CHIANCONE,B., (2007)** Study on *In Vitro* Culture of *Punica granatum* L. *Plante Mediterranee 2. Convegno Nazionale.Frutticoltura* 2:41-48
- HARTWECK, LM., LAZERI, PA., CUI, D., COLLINS, GB., WILLIAMS, EG., (1988)** Auxin-orientation effects on somatic embryogenesis from immature soybean cotyledons. *In vitro Cell. Dev. Biol.*, 24: 821-828.
- JAMES, D. J., PASSEY, A. J., RUGİNİ, E., (1988).** Factors Affecting High Frequency Plant Regeneration From Apple Leaf Tissues Cultured *In Vitro*. *J. Plant Physiol.* 132, 148-154.
- JIANZHU, SHAO., CHUNLI, CHEN., XIUXIN, DENG., (2003).** *In vitro* induction of tetraploid in pomegranate (*Punica granatum*) vol. 75, n°3, pp. 241-246 [6 page(s) (article)] (20 ref.)
- KANTHARAJAH, A. S., DEWİTZ, I., JABBARİ, S., (1998)** The Effect of Media, Plant Growth Regulators and Source of Explants on *In Vitro* Culture of Pomegranate (*Punica granatum* L.) *Erwerbsobstbau.* 40:2, 54-58.
- KOBİ FİNANS, (2008)** Web, 'Tarsus Nar Üretim Merkezi Oluyor' makale.
- LAI FM, McKERSİE BD., (1994)** Scale-up somatic embryogenesis in alfalfa (*Medicago sativa* L.) I subculture and indirect secondary somatic embryogenesis. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.*, 37: 151-158.
- LOADTR. COM WEB, (2008)** Nar Çiçeği İsimli Makale.
- MAES, OC., CHIBBAR, RN., CASWELL, K., LEUNG, N., KARTHA, KK., (1996)** Somatic embryogenesis from isolated scutella of wheat: effects physical, physiological and genetic factors. *Plant Sci.*, 121: 75-84.
- MAILCE. COM WEB, (2008)** Nar Suyu İle Prostattan Korunun İsimli Makale.

- MORIGUCHI, T., OMURA, M., MATSUTA, N., KOZAKI, I., (1987).** *In Vitro* Adventitious Shoot Formation From Anthers of Pomegranate. *Hortscience*. 22:5, 947-948.
- MONNIER, (1990).** Induction of embryogenesis in callus culture. In : Pollard JW, Walker JM (Eds), *Plant Cell and Tissue Culture*, pp. 141-148 , Humana Pres, New Jersey.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F., (1962).** A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assay with Tobacco Tissue Culture, ***Physiologia Plantarum***, 15,473-497
- NAİK, S.K., SĪTAKANTA PATTNAİK, PRADEEP, K. C., (1998)** *In Vitro* Propagation of Pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Ganesh) Through Axillary Shoot Proliferation From Nodal Segments of Mature Tree *Scientia-Horticulturae*, 79, 175-183.
- NAİK, S.K., SĪTAKANTA PATTNAİK, CHAND, P.K. , PATTNAİK, S., (2000)** High Frequency Axillary Shoot Proliferation and Plant Regeneration From Cotyledonary Nodes of Pomegranate (*Punica granatum* L.) *Scientia-Horticulturae*. 85:4, 261-270.
- NAİK, S.K., PRADEEP,K.C., (2002).** Silver Nitrate and Aminoethoxyvinylglycine Promote *In Vitro* Adventitious Shoot Regeneration of Pomegranate (*Punica granatum* L.) . *J. Plant Physiol*, 160, 423-430.
- NATARAJA, K. , NEELAMBĪKA, G.K., (1996).** Somatic Embryogenesis and Plantlet From Petal Cultures of Pomegranate, *Punica granatum* L. *Indian J. Exp. Biol.* 34, 719–721.
- ONUR, C., (1982).** Akdeniz Bölgesi Narlarının Seleksiyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi s.121(Yayınlanmamış).
- , (1988). Nar Özel Sayısı. *Derim Dergisi*, Cilt 5, Sayı 4, 192 s.
- OZAWA K, KOMAMĪNE A., (1989)** Establishment of a system of high frequency embryogenesis from long term cell suspensions cultures of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 77: 205-211.
- ÖZCAN S, BARGHCHI M, FIREK S, DRAPER J., (1993)** Efficient adventitious shoot regeneration and somatic embryogenesis in pea. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 34: 271-277.

- ÖZGÜVEN, A., YILMAZ, C., (2006)** Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Nar Yetiştiriciliği, TÜBİTAK TARP Yayını makalesi.
- ÖZGÜVEN, A., YILMAZ, C., (2000)** Gökçeli Fidancılık WEB Sayfası Nar Yetiştiriciliği makale.
- ÖZGÜVEN, A., YILMAZ, C., (2000)** ÇÜ Tarımsal Yayım, Haberleşme Araştırma ve Uygulama Merkezi Çiftçi Broşürü makale.
- PARROT, WA., MERKLE SA., WILLIAMS EG., (1993)** Somatic embriyogenesis: Potantial for use in propagation and gene transfer system. In: Murray DR (ed), Advanced methods in plant Breeding and biotechnology, pp. 158-200, C:A:B International, UK.
- PIERIK, RLM., (1987)** In vitro Culture of Higher Plants. Pp 183-230, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
- ROSELLA, P., FABIANA, A., BAGNÌ, N., (1995)** Polyamine Uptake and Transport in Different Plant Systems. Current Topics in Plant Physiol. 1, 21-29.
- NAİK S.K., CHAND P.K., (2002).** Silver nitrate and aminoethoxyvinylglycine promote in vitro adventitious shoot regeneration of pomegranate (*Punica granatum* L.) Journal of Plant Physiology, Volume 160, Number 4, pp. 423-430(8).
- TİSSERAT, B., (1991)** Embriyogenesis, organogenesis and plant regeneration. In: Dixon RA (ed), Plant Cell Culture: A Practical Approach, pp 79-105, IRL Pres, Oxford.
- TÜRK MEDYA .COM., (2009)** Nar Silifkeli Çiftçinin Yeni Gözdesi İsimli Makale
- WARREN, G., (1991)** The regeneration of plants from cultured cells and tissues. In: Stafford A, Warren G (eds), Plant cell and tissue Culture, pp 83-100, Open University Pres, Milton Keynes.
- YANG, Z. H., LUDDERS, P., (1993)** Organogenesis of *Punica granatum* L. var. Nana Angewandte Botanik, 67:5-6, 151-156.
- ZHANG, B. L. , STOLZ, L. P., (1991)** *In Vitro* Shoot Formation and Elongation of Dwarf Pomegranate). . HortScience. 26:8, 1084.

ÖZGEÇMİŞ

Adana'nın Yumurtalık ilçesi doğumlu. İlk, orta ve lise eğitimini Ceyhan'da tamamladı. 1998 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden mezun oldu. 2006 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans programına başladı ve şu anda Yüksek Lisans programına devam etmekte.