

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ**  
**BİYOTEKNOLOJİ ENİSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ENDEMİK *MUSCARI AUCHERI*'NİN *İN VİTRO* KLONAL ÇOĞALTIMI  
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

**Parizad ALLAHVERDİKİHAN VAZİRİ**

**Danışman Öğretim Üyesi**

**Prof. Dr. Cengiz SANCAK**

**ANKARA**

**2009**

Prof. Dr. Cengiz SANCAK danışmanlığında Parizad ALLAHVERDİKHAN VAZİRİ tarafından hazırlanan bu çalışma 30/12/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Cengiz SANCAK

İmza:

Üye : Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU

İmza:

Üye : Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

İmza:

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof.Dr. Orhan ATAKOL**

**Enstitü Müdürü V.**

## Endemik *Muscari aucheri*'nin *in vitro* klonal çoğaltımı üzerine araştırmalar

### ÖZET

*Muscari aucheri* (Boiss.) Baker türleri güzel çiçekleri ile süs bitkisi potansiyeline sahip, Türkiye'nin endemik bitkilerinden olup, tehdit altındadır. Doğal floradan toplanan *Muscari aucheri* 'ye ait farklı organ eksplantları (pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyolar) besin ortamlarında kültüre alınmıştır.

Soğan pul yaprakları, 2 mg/l 2,4-D, 40 g/l mannitol olmak üzere değişik oran ve kombinasyonlarda sitokinin (BAP, KIN, TDZ), GA<sub>4</sub> ve oksin (IAA, IBA) ve katılaştırıcı olarak 2mg/ l agar içeren besi yerlerinde kültüre alınmıştır. Eksplant başına en yüksek soğan sayısı (51.7 adet) 2.0 mg/l KIN + 0.2 mg/l IBA içeren ortamda saptanmıştır.

Olgunlaşmamış embriyo başına en yüksek soğancık sayısı ise (18.3 adet) 0.5 mg/l KIN, 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir.

Soğan pul yapraklarından ve embriyolardan gelişen soğancıklar, 1 mg/l NAA içeren ve 6 g/l agar ile katılaştırılan 1/2 MS (yarıya indirgenmiş) besin ortamında köklendirilmiş, saksıya aktırılarak aklimatize edilmiştir. Soğancıkların aklimatizasyonu sonucu yaşıyan ve gelişimine devam eden soğan oranı ortalama %17 olmuştur.

2009, 66sayfa

**Anahtar kelimeler:** *Muscari aucheri*, mikroüretim, *in vitro*, soğancık

## Studies on *in vitro* clonal micropropagation of endemic *Muscari aucheri*

### ABSTRACT

*Muscari aucheri* (Boiss.) Baker is important species with their beautiful flowers as ornamental plant and is also endemic and endangered species of Turkey. Different organ explants of this *Muscari* species (bulb scales and immature embryos) were cultured and tested on different nutrient media and culture conditions.

Bulb scales were cultured on MS media containing 2 mg/l 2,4-D, 40 g/l mannitol and different concentrations and combinations of cytokinins (BAP, Kinetin, TDZ) GA<sub>4</sub>, and auxins ( IAA, IBA) and 2 mg/ l agar.

The highest bulblets per explant (51.7) were also obtained on a MS medium containing 2.0 mg/l KIN + 0.2 mg/l IBA. 18.3 bulblets were also produced from immature embryo explants on a MS medium containing 0.5 mg/l KIN, 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA.

The bulblets were rooted on 1/2 MS medium supplemented with 1 mg/l NAA, ve 6 g/l agar. Rooted bulblets were transplanted to pots containing potting mixture and acclimatized in a growth chamber. After acclimatization of bulblets, 17 % of bulbs were alive and kept growing.

2009, 66 pages

**Key words:** *Muscari aucheri*, , micropropagation, *in vitro*, bulblets

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, engin bilgi, birikim ve yardımlarıyla bana yol gösteren, eğitimimde unutulmaz katkıda bulunan çok değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Cengiz SANCAK' a ve çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve önerileriyle bana yardımcı olan saygı değer hocam Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden, Doç. Dr. Serkan URANBEY' e teşekkür ve şükranlarımı arz etmekten onur duyarım.

Ayrıca, bunca yıl, maddi manevi her türlü fedakarlıkla bana destek olan ve şevkatlerini benden esirgemeyen Annem ve Babama minnettar olduğumu belirterek, bu başarıyı kendilerine armağan ederim.

Bu yüksek lisans tez çalışması Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden, Doç. Dr. Serkan URANBEY tarafından yürütücülüğü yapılan ve 2006-2009 yılları arasında tamamlanan, 106 0 034 kodlu TÜBİTAK (Endemik ve tehlike altında bulunan *Muscari azureum* ve *Muscari aucheri*'nin kültüre alınması ve *In Vitro* Hızlı Çoğaltımı) projesi kapsamında ele alınmıştır. Tez çalışması için gerekli *Muscari aucheri*' soğan materyali bu projeden temin edilmiş ve projede yönteminde belirtilen bazı besin ortamları ve kültür koşulları ilk defa test edilmiştir.

Parizad ALLAHVERDİKHAN VAZİRİ

Ankara, Aralık 2009

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No.
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER DİZİNİ.....	x
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>9</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>15</b>
3.1. Araştırma Yerinin Tanıtılması.....	15
3.2. Materyal.....	15
3.2.1. Bitki materyali.....	15
3.2.2. Eksplant seçimi.....	17
3.2.3. Besin Ortamı ve Kültür Koşulları.....	18
3.2.4. Soğan pul yapraklarının ve olgunlaşmamış embriyoların izolasyonu ve kültüre alınması.....	21
3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	21

<b>4.ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	22
4.1. Yüzey sterilizasyonu.....	22
4.2. <i>M.aucheri</i> 'de olgunlaşmamış embriyolarından <i>in vitro</i> soğancık üretimi.....	22
4.3. <i>M.aucheri</i> soğan pul yapraklarının <i>in vitro</i> da kültüre alınması ve embriyonik kallus ve <i>in vitro</i> soğancık oluşumu.....	31
4.3.1. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında <i>in vitro</i> soğancık üretimi üzerine etkileri.....	32
4.3.2. Farklı BAP, GA <sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında <i>in vitro</i> soğancık üretimi üzerine etkileri.....	40
4.4. <i>M.aucheri</i> olgunlaşmamış embriyolarından ve soğan pul yapraklarından gelişen soğancıkların, soğancık geliştirme ortamı (SGO) soğancık olgunlaştırma ortamı (SOO) ve köklendirmeye alınması ve aklimatizasyon çalışmaları .....	50
<b>5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	55
<b>KAYNAKLAR.....</b>	59
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	66

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No.
Şekil 3.1.a. <i>M.aucheri</i> 'nin doğal yayılış gösterdiği alandan görüntüler....	16
Şekil 3.1.b. <i>M.aucheri</i> 'nin doğal yayılış gösterdiği alandan görüntüler....	16
Şekil 3.2. <i>Muscari aucheri</i> türüne ait farklı organ eksplantlarının kültüre alınması.....	17
Şekil 4.1. <i>M.aucheri</i> tohumlarından olgunlaşmamış zigotik embriyolar çıkartılarak, kallus teşvik ortamlarına yerleştirilmesi.....	23
Şekil 4.2. Zigotik embriyolar kültüre alındıktan sonra 15-20 gün sonra embriyoların etrafında kallus oluşumu.....	25
Şekil 4.3. Zigotik embriyolar kültüre alındıktan sonra 20-25 gün sonra olgunlaşmamış embriyoların etrafında aktif kömür içeren ortamda kallus oluşumu.....	26
Şekil 4.4. Kallus oluşumundan yaklaşık 8-10 hafta sonra <i>M.aucheri</i> embriyolarından meydana gelen kalluslar üzerinde yeşil sürgün oluşumu ( <i>Kültür kabı genel görünüm, yukarıdan çekim</i> ).....	29
Şekil 4.5. Olgunlaşmamış <i>M.aucheri</i> embriyolarından meydana gelen kalluslar üzerinde soğancık oluşumu.....	30
Şekil 4.6. Kültüre alındıktan 6-8 ay sonra olgunlaşmamış <i>M.aucheri</i> embriyolarından yoğun soğancık oluşumu ( <i>Kültür kabı genel görünüm, yukarıdan çekim</i> ).....	31
Şekil 4.7. Soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 6 hafta sonra kallus oluşumu.....	48
Şekil 4.8. Soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 10-16 hafta sonra kalluslar üzerinde sürgün ve soğancık oluşumu.....	49
Şekil 4.9. Soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 6-8 ay sonra gelişkin soğancık oluşumu.....	50



Şekil 4.10. a. Gelişen soğancıkların soğancık olgunlaştırma (SOO) ortamında kültüre alınması ile gelişen soğanlar.....	51
Şekil 4.10. b. Soğancık olgunlaştırma (SOO) ortamında gelişen ve parçalarak ayrılan soğancıklarda SOO ortamında kahverengi kabuk oluşumunun başlaması.....	52
Şekil 4.11. Gelişen soğancıkların parçalanarak köklendirme oramlarına hazırlanması ve <i>M.aucheri</i> olgunlaşmış ve gelişkin bazı soğancıkların 1 mg/l NAA, ve 6 g/l agar agar ile katılaştırılan 1/2 MS (yarıya indirgenmiş) besin ortamında köklendirilmesi.....	53
Şekil 4.12. a. <i>In vitro</i> 'da gelişen <i>M.aucheri</i> soğancıklarının iklim odasında, kompost, torf ve içeren küçük kültür kaplarında aklimatizasyonu.....	54
Şekil 4.12. b. <i>In vitro</i> 'da gelişen <i>M.aucheri</i> soğancıklarının iklim odasında, kompost, torf ve içeren küçük kültür kaplarında aklimatizasyonu.....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No.
Çizelge 1.1. Dünya Süs Bitkileri İhracatında Türkiye'nin Yeri.....	2
Çizelge 1.2. Türkiye Süs Bitkileri İhracatı.....	3
Çizelge 1.3. Ülkelere Göre Türkiye Süs Bitkileri İhracatı.....	4
Çizelge 1.4. Bitki tiplerine göre göre Türkiye süs bitkileri ihracatı (1.000 ABD Doları).....	6
Çizelge 3.1. MS (Murashige and Skoog 1962) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları.....	19
Çizelge 3.2. N <sub>6</sub> (Chu vd. 1975) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları.....	20
Çizelge 4.1. Farklı KINxBAP ve IAA konsantrasyonlarının <i>M.aucheri</i> 'de olgunlaşmamış embriyo eksplantından sürgün ve soğancık oluşumuna etkisi.....	28
Çizelge 4.2. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi.....	32
Çizelge 4.3. Tablo 1. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkileri.....	33
Çizelge 4.4. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi.....	34
Çizelge 4.5. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkileri.....	35
Çizelge 4.6. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında eksplant başına soğan sayısı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi.....	36

Çizelge 4.7. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında eksplant başına soğan sayısı üzerine etkileri.....	37
Çizelge 4.8. farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarında Kallus oluşturan eksplant oranı (%),Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%),Eksplant başına soğan sayısı (adet) ve Petride gelişen toplam soğan sayısı (adet)	39
Çizelge 4.9. Farklı Farklı BAP, GA <sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi.....	40
Çizelge 4.10. Farklı Farklı BAP, GA <sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkileri.....	41
Çizelge 4.11. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi.....	42
Çizelge 4.12. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkileri.....	43
Çizelge 4.13. Farklı BAP, GA <sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından eksplant başına soğan sayısı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi.....	44
Çizelge 4.14. Farklı BAP, GA <sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından eksplant başına soğan sayısı üzerine etkileri.....	45
Çizelge 4.15. Farklı BAP, IAA ve GA <sub>4</sub> konsantrasyonlarında Kallus oluşturan eksplant oranı (%),Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%),Eksplant başına soğan sayısı (adet) ve Petride gelişen toplam soğan sayısı (adet)	47

## SİMGELER DİZİNİ

2,4-D	2,4- Dichlorodphenoxyacetic acid
A.Ö.F	Asgari Önemli Fark
BAP	6-benzylamino-purine
GA <sub>4</sub>	Gibberellic acid
IAA	Indole-3-acetic acid
IBA	Indole-3-butyric acid
KIN	Kinetin
MS	Murashige and Skoog medium
NAA	$\alpha$ -naphthaleneacetic acid
TDZ	Thidiazuron
2ip	İzopentil adenin

## 1. GİRİŞ

Türkiye’de çok sayıda bitki taksonu (tür, alttür, varyete vb.) yetişmekte olup, bu yönü ile büyük bir biyolojik zenginliğe sahiptir. Türkiye’de yaklaşık üçte biri endemik olmak üzere toplam 11014 adet bitki taksonu (tür, alttür, varyete vb.) bulunmaktadır (Güner vd 2000). Bu bitki grupları içerisinde süs bitkileri büyük önem arz etmektedir. Bazı süs bitkileri tıbbi özellikler ile de dikkati çkmektedir. Süs bitkileri son yıllarda dünyada büyük talep arz etmektedir. Dünya’da yaklaşık yılda 9-10 milyar civarında süs bitkileri ihracatı yapılmaktadır.

Süs bitkileri ihracat eden ülkeler içerisinde en çok Hollanda, İtalya, Danimarka ve Kolombiya gibi ülkeler görülmektedir. Çizelge 1.1’de görüldüğü gibi Türkiye yıllara göre değışmekle birlikte 46.447 Euro değer ile 24’üncü sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.2’de görüldüğü gibi Türkiye’de süs bitkileri dış satımı yıllara göre artış göstermektedir. 2005 yılında 36 milyon dolarlık süs bitkileri ihracatı yapılırken, 2006 yılında bu rakam 40 milyon dolara ve 2007 yılında ise 46.447 milyon dolara kadar çıkmıştır. Türkiye çok sayıda ülkeye süs bitki ihracatı yapmaktadır.

Çizelge 1.3’de ülkelere göre Türkiye’nin süs bitkileri ihracatı görülmektedir. Türkiye’nin en fazla süs bitkileri ihracatı yaptığı ülkeler Hollanda, İngiltere, Almanya ve Rusya Federasyonudur.

**Çizelge1.1.** Dünya Süs Bitkileri İhracatında Türkiye'nin Yeri

Siralama	Ülkeler	Değer(1.000 Euro)
1	Hollanda	4.665.501
2	İtalya	510.087
3	Danimarka	502.996
4	Kolombiya	447.324
5	Kanada	338.158
6	Belçika	329.437
7	Almanya	324.295
8	Kenya	242.307
9	İspanya	208.992
10	Fransa	188.305
11	Ekvador	179.433
12	İsrail	157.702
13	Kosta rika	137.033
14	ABD	78.689
15	Guatemala	59.736
16	Zimbabve	57.748
17	Polonya	57.019
18	Birleşik krallık	55.367
19	Çin	53.481
20	Meksika	51.740
21	Güney afrika	42.252
22	Tayland	31.222
23	Uganda	24.371
24	Türkiye	46.447
25	Tayvan	23.234
	<b>TOPLAM</b>	<b>9.067.821</b>

Kaynak: www. pathfastpublishing.com from Eurstat, USDA & Customs and Excise

**Çizelge 1.2.** Türkiye Süs Bitkileri İhracatı

<b>Yıllar</b>	<b>Değer (1.000 Dolar)</b>
1996	17.243
1997	18.966
1998	18.976
1999	18.547
2000	12.956
2001	14.282
2002	22.299
2003	31.485
2004	37.748
2005	36.229
2006	40.522
2007	46.447

Kaynak: Türkiye süs bitkileri ihracat raporu 2009. T.C Başbakanlığı Dış Ticaret Müs. Antalya İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği S-1-8.

**Çizelge 1.3. Ülkelere Göre Türkiye Süs Bitkileri İhracatı**

	Ülke Adı	Değer(\$)			Değişim(%)
		2005	2006	2007	2006-2007
1	Hollanda	8.939.302	9.455.493	9.937.119	5,1
2	İngiltere	10.344.725	10.891.380	9.211.043	-15,4
3	Almanya	3.438.012	4.275.504	5.822.535	36,2
4	Rusya FED.	3.422.785	3.157.559	3.464.315	9,7
5	Ukrayna	1.832.877	2.486.604	3.354.923	34,9
6	Romanya	1.199.131	1.007.338	3.054.719	203,2
7	Türkmenistan	946.305	2.177.139	1.515.277	-30,4
8	K.K.T.C.	779.964	1.040.341	1.393.262	33,9
9	Macaristan	428.789	816.561	1.335.743	63,6
10	Bulgaristan	199.184	576.857	1.331.114	130,8
11	Irak	311.625	412.455	1.082.841	162,5
12	Yunanistan	718.473	701.274	972.481	38,7
13	Japonya	687.626	596.537	785.160	31,6
14	A.B.D.	691.587	1.021.735	702.244	-31,3
15	Belçika	408.837	370.071	530.187	43,3
16	Azerbaycan	90.903	269.205	317.092	17,8
17	Moldovya	110.657	94.724	246.223	159,9
18	Gürcistan	201.320	122.678	240.362	95,9
19	Kazakistan	91.398	26.744	227.410	750,3
20	İtalya	59.442	366.293	185.847	-49,3
21	Srbistan	0	66.499	139.681	110,0
22	Fransa	78.080	66.470	108.861	63,8
23	İspanya	545.584	45.992	100.562	118,7
24	Polonya	129.486	132.945	91.847	-30,9
25	Litvanya	0	1.100	62.050	5540,9
	Diğer ülkeler	573.615	343.294	235.067	-31,5
	<b>TOPLAM</b>	<b>36.229.707</b>	<b>40.522.792</b>	<b>46.447.965</b>	<b>14,6</b>

Kaynak: Anonim 2009.



Türkiye, coğrafi konumu, değişik iklim ve toprak özelliklerine sahip olmasının sonucu zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Anadolu'nun büyük yüksek rakım farklarına, zengin su kaynaklarına, orman, bozkır, bataklık-sulak alan, kumul vb. çok farklı habitatlara sahip olması bu çeşitliliğin artmasında önemli rol oynamıştır.

Çizelge 1.4'de yıllara göre değişmekle birlikte Türkiye'de kesme çiçekler, iç mekan bitkileri, dış mekan bitkileri ve soğanlı rizomlu bitkiler üretim alanlarının artışı görülmektedir.

Biyolojik zenginliklerimiz içerisinde yer alan bitki gruplarından her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahip olan türlerin yer aldığı yumrulu ve soğanlı bitkiler (Geofitler) grubudur. Bu biyolojik zenginlik içerisinde yer alan geofitler uzun yıllardır yurt dışındaki insanların ilgisini çekmektedir.

Çizelge 1.4'de gruplarına göre Türkiye süs bitkileri ihracatı görülmektedir. 2008 yılında 3 milyon dolar çiçek soğanları, 12.3 milyon dolar canlı bitkiler, 24.3 milyon dolar kesme çiçekler ve yaklaşık 5.8 milyon dolar civarında yosunlar ve ağaç dalları ihracatı yapılmıştır. Görüldüğü gibi çiçek soğanları, canlı bitkiler ve kesme çiçekler gruplarında 2004 yılına göre artışlar görülmektedir. Ayrıca bu çizelgenin vurguladığı önemli noktalarından biri, yaklaşık 3 milyar dolar geofit ihracatının yapılmasıdır.

**Çizelge 1.4.** Bitki tiplerine göre Türkiye süs bitkileri ihracatı (1.000 ABD Doları)

Bitki tipi	2004	2005	2006	2007	2008
Çiçek Soğanları	2.837	2.747	2.645	2.917	3.011
Canlı Bitkiler	6.329	5.671	7.941	10.871	12.371
Kesme Çiçekler	20.170	20.397	23.482	26.588	24.356
Yosunlar ve Ağaç Dalları	8.410	7.412	6.453	6.071	5.759
<b>Toplam</b>	<b>36.229</b>	<b>37.748</b>	<b>40.522</b>	<b>46.447</b>	<b>45.499</b>

Kaynak: Türkiye süs bitkileri ihracat raporu 2009. T.C Başbakanlığı Dış Ticaret Müs. Antalya İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği S-1-8.

Görüldüğü gibi Dünya’ da ve Türkiye’ de süs bitkileri ihracatı içinde geofitlerin önemi her geçen gün artmaktadır. Türkiye’de her yıl bu konuda çeşitli amaçlarla botanikçiler ve bu işin ticareti ile ilgilenen insanlar gelmektedir. Türkiye’ nin değişik noktalarından bitki toplamakta ve bunları yasal olmayan yollarla yurt dışına götürdüğüne dair ciddi iddialar vardır.

Toprak altındaki kökleri soğan, yumru ve rizomlardan oluşan ve ‘Geofit’ olarak tanımlanan çiçekli bitkiler her renkten türü ile Türkiye’ nin en güzel ve narin doğal bitki zenginliklerindedir. Anadolu topraklarında yetişen 10 bin tür civarında çiçekli bitkilerden 600’ünü geofitlerden oluşurlar. Van – Bitlis yaylaları iklim ve coğrafyasından dolayı çok sayıda geofitin doğal yaşam alanıdır.

Genel olarak yer altında depo organları olan bitkilere geofitlerin büyük bir kısmı *Liliaceae*, *Iridaceae* ve *Amaryllidaceae* familyasına dahildir. Son derlemelere göre türkiyede 688 adet geofit bulunmaktadır, bu sayı ülkenin florasının % 6’ dan fazlasını oluşturur (Mathew ve Baytop 1984; Özhatay 2003). Bu bitkilerden bazıları yöre halkının otlu peynirinde ve

yemeklerinde çeşni olarak, bazısı köy kadınlarının evlerine süs olarak kullanmaktadırlar. Ancak bu çiçeklerin ticari değer kazanması ile birlikte, yılın sadece belli dönemlerinde çok az bir süre ile çiçek açan bu narin bitkiler, tüccarlar tarafından kökleri ile birlikte bilinçsizce doğadan sökülmeğe başlanmış ve böylece bitkilerin geleceği tehlike altına girmiştir.

Artık süs bitkileri olarak ihraç edilen, yabancı ülkelerin park ve bahçelerinde yer alan, market zincirlerinde paketlerin içinde tüketicilere pazarlanan ve hatta kışın severek içtiğimiz sahlepin içinde yumruları bulunan ve nesli tükenmekte olan Anadolu Salepotu'na kadar her çeşit geofit, tüketim toplumunun bir parçası oldu. Geofitlerin denetimsiz ve bilinçsizce sökülmeğe başlanmasına karşı Türkiye'de bazı sivil toplum örgütleri, bilim adamları, Tarım Bakanlığı ve uluslararası çevre kurumları 1980'lerden bu yana çalışıyor. Uluslararası CITES (Nesli Tehlikede Olan Doğal Bitki ve Hayvan Türlerinin Uluslararası Ticaretine ait anlaşma) kapsamında geofitlerin sökülme ve ihracatı mevzuata bağlandı ve her yıl toplanan bilimsel bir kurul durum tespiti yapıyor.

Geofit olarak adlandırılan soğanlı bitkiler; alkaloidler içermesi nedeniyle ve güzel çiçeklere sahip oldukları için parfümeri ve ilaç sanayinde önemli bir potansiyele sahiptir. Son yıllarda soğanlı süs bitkilerine olan ilginin artması sonucu doğadan yapılan sökülme; hem ihtiyacı karşılayamamakta hem de doğal çoğalması yavaş olan bu bitkilerin nesillerinin tehlike altına girmesine sebep olmaktadır. Geofitlerin çok büyük bir kısmı *Liliaceae*, *Iridaceae* ve *Amaryllidaceae* familyalarına dahildir (Mathew ve Baytop 1984; Özhatay 2003).

Bitki doku kültürü; kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretiminde, rutin olarak uygulanmaktadır (Babaoğlu vd 2001). Bitki doku kültürü işleminde ve genetik iyileştirmelerde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonu, kültürü yapılan hücrelerin özellikleri itibariyle üç kısımda incelenebilir (Babaoğlu vd 2001) ;

- a) organize olmuş meristematik hücreleri ihtiva eden somatik dokulardan rejenerasyon,
- b) Meristematik olmayan somatik hücrelerden rejenerasyon,
- c) mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden rejenerasyondur.

*In vitro* teknikleri bitkisel materyalin kısa sürede hızlı çoğaltılması için uygun bir yöntem olup, orkide gibi soğanlı bitkilerden çok kısa sürede çok sayıda bitki üretilebilmektedir. Geofitlerde *in vitro* çalışmalar genel olarak, mikro üretim, hastalık kontrolü (özellikle virüslerden arı materyal üretimi) ve sekonder metabolit üretimi amacıyla yapılmaktadır. Geofitlerin kültüre alınmasındaki en önemli sorun, çoğalma hızlarının son derece yavaş olmasıdır. Öte yandan, *in vitro* teknikler kullanılarak kısa sürede çok sayıda soğancık üretimi mümkün olabilmektedir.

Bir çoğunu endemik türlerin oluşturduğu geofitlerden birisi olan *Muscari* genusu da dünyada yaklaşık 60 tür ile temsil edilmekte olup, *Liliaceae* familyasına aittir. *Muscari aucheri* (Boiss.) Baker ise ülkemizde doğal olarak bulunan 26 *Muscari* türünden biridir. Bu tür sahip olduğu gösterişli çiçekleri ile süs bitkileri potansiyeli bulunmaktadır. *Muscari aucheri* endemik çok yıllık, Nisan-Haziran ayları arasında genelde mavi çiçek açan, çoğunlukla Adana, Ankara, Antakya, Çorum, Denizli, Erzincan, Eskişehir illerinde 1000-3000 m'ye kadar olan taşlı yamaçlarda, su birinkitilerinde yayılış gösteren bir türdür (Davis, 1984; Tübitak Türkiye Taksonomik Tür Veri Tabanı).

Bu çalışmanın amacı da, hem tehdit altında olması hem de gösterişli çiçekleri nedeni ile önemli bir gen kaynağı olan *Muscari aucheri* türünün doku kültürleri yöntemleriyle hızlı çoğaltılması tekniğinin geliştirilmesidir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde geofitlerde yapılan bazı doku kültürü çalışmaları özetlenmiştir.

**Saniewski ve Pytlewski (1979)**, *Muscari comosum*' ile yaptıkları çalışmada, MS ortamına 1 mg/l NAA eklendiğinde somatik embriyo oluşumunu rapor etmişlerdir.

**Tymoszuk vd (1979)**, *Tulipa* ve *Muscari botryoides* bitkilerinde yaptıkları çalışmada soğanların, değişik oranlarda GA<sub>3</sub>' ün her iki türde de bitki morfolojisine ve gelişiminde etkisi olduğunu tespit etmişlerdir.

**Cuming ve Peck (1984)**, *M. armeniacum*'un soğanının infloresans yapraklarından 1 g/l aktif kömür içeren MS ortamında rejenere olabildiğini belirlemişlerdir.

**Saniewski ve Puchalski (1987)**, düşük konsantrasyonlu Jasmonik asitin *Muscari* türlerinde büyümeyi geciktirdiği, buna karşılık yüksek konsantrasyonlardaki BAP'ın soğan büyüklüğünü artırdığı gözlemiştir.

**Kromer (1989)** *Muscari racemosum* L.Mill.bitkisinde yaptığı çalışmada eksplant olarak pul yaprakları kullanıp, *in vitro* koşullarda karanlık ve aydınlıkta rejenerasyon kabiliyetini incelemiştir. Karanlıkta ve MS besin ortamında %8 oranında adventif soğan oluşumu ve kök oluşumunda artış bulunmuştur. Bunun yanı sıra soğanlardan çıkan yaprak gelişimlerine bakıldığında ortamlar arasında fark gözlenmiştir.

**Johnson ve Burchett (1991)**, *Blandfordia grandiflora* bitkisinde yaptıkları çalışmada eksplant olarak sürgün uçlarını kullanarak farklı konsantrasyonda NAA, KIN, BAP, 2iP içeren MS besin ortamlarında kültüre alarak *in vitro* doku kültürünü başarmışlardır.

**Wendy vd (1991)**, Nergis bitkisinde yaptıkları çalışmada, sürgünlerden elde edilen soğancıklar bitki büyüme düzenleyici madde içermeyen, ayrıca aktif kömür ilave edilen ortamlarda 20°C’ de aydınlık ve karanlıkta kültüre almışlardır. Çeşitlere bağlı olarak % 47.8 – 81.2 oranında rejenerasyon elde etmişlerdir.

**Kromer ve Kukulczanka (1992)**, *Muscari botrides* Mill. bitkisinde yaptıkları çalışmada, epidermal ve alt epidermal eksplantlar kullanılarak farklı konsayonlarda IBA ve BAP içeren besin ortamlarında morfolojik değişiklikleri incelemişler. Rejenerasyon ve soğan sayısı bakımından en iyi besin ortamını 0.2-2 mg/l IBA ve 1-2 mg/l BAP kombinasyonu olduğunu ve % 56 rejenerasyon sağladığını bildirmişlerdir.

**Ault vd (1995)**, *Eucomis zambesiaca*, *E. comasa*, *E. autumnalis*’in çift pul yapraklarını *in vitro*’da sürgün oluşumu için 4.4, 11.1 ve 22.2 µM BA ve 5.4 µM NAA içeren MS ortamlarında kültüre almışlardır ve yüksek oranda *in vitro* sürgün ve soğancık elde etmişlerdir.

**Nayak, Patnaik ve Rath (1997)**, yaptıkları çalışmada Orkide (*Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and Mc Cann) de 1. ve 2. genç yaprakları 100 mg/l myo-inositol, % 3 sukroz, 1 mg/l TDZ % 0.8 agar içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır ve yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonunu başarmışlardır. Meydana gelen sürgünlerin % 2 phytigel, %3 sukroz, 2mg/l IBA içeren MS ortamında köklenmeyi rapor etmişlerdir.

**Ayabe ve Sumi (1998)**, yaptıkları çalışmalar sonucu Sarımsak (*Allium sativum* L.) da 1 mm’lik gövde diskini LS besin ortamında kültüre alarak, mikroçoğaltım yöntemi geliştirmişlerdir.

**Nhut (1998)** yaptığı çalışmada ise Zambak (*Lilium longiflorum*)’da *in vitro* da elde edilen sürgünlerden, 2-3 nodlu ve 2-3 yapraklı 1cm’ lik gövde parçaların kullanarak 30 g/l sukroz, 2,3 µM BA, % 0.8 agar içeren ½ MS besin ortamında kültüre almış ve meydana gelen

sürgünleri ve soğancıkları 20 g/l sukroz, 1.1 µM NAA içeren ½ MS ortamında köklendirmiştir.

**Bhagyalakshmi (1999)** safran bitkisinde ovaryum hücrelerini kullanarak, % 4.5 sukroz, 400 mg/l L-glutamine, 100 mg/l askorbik asit, % 0.25 phytigel içeren MS besin ortamında kültüre almıştır ve adventif sürgün rejenerasyonunu başarmıştır.

**Melanie vd (1999)**, süs bitkisi olarak tanınan *Crinum Ellen Bosanguet* bitkisinin doku kültürü ile çoğaltımını başarmışlardır. En iyi sonuç ise 22.2 µM BAP içeren Ms besin ortamında elde etmişlerdir.

**Tıprıdamaz vd (1999)**, kardelen (*Galanthus ikariae Baker*) bitkisinde soğan pul yapraklarını % 6 sukroz, 0.2 mg/l KNA, %7 agar, içeren MS besin ortamında kültüre almışlar ve adventif soğan rejenerasyonunu başarmışlardır.

**Ulric vd (1999)**, *Crinum lilies'* bitkisinde üç yapraklı soğan disklerini kullanarak, % 6 sukroz, % 7 agar, 35.5 µM BA içeren MS besin ortamında 4 hafta sonra soğan pul yapraklarında adventif sürgün rejenerasyonunu rapor etmişlerdir.

**Suzuki ve Nakano (2001a)**, yaprak parçacıkları ve meristematik uçları kullanarak organogenesis ve somatik embriyogenesis yoluyla *Muscari armeniacum'*da sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir.

**Suzuki ve Nakano (2001b)**, yaptıkları çalışmada, *Muscari armeniacum'*da büyük, sarımsı ve nodular kallus oluşu 4.5 µM 2-4,D, 54 mM NAA içeren ortamda başlatmış, nodular kalluslar 0.44-44 µM IBA içeren ortama transfer edildiğinde yüksek oranda sürgün oluşumu meydana geldiğini bildirmişlerdir. *Lilium nepalense'*de yapılan bir çalışmada olgunlaşmamış

soğanlardan hazırlanan çift soğan pul yaprak eksplantları 20 µM Zeatin içeren MS ortamında kültüre alınmış ve çok sayıda sürgün elde edilmiştir.

**Wawrosch vd (2001)**, *Lilium nepalense* bitkisinde ikili veya üçlü soğan pul yapraklarını %3 sukroz, %8 agar, 20 µM Zeatin, içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır ve pul yaprak disklerinden adventif sürgün rejenasyonunu bildirmişlerdir.

**Arslan vd (2002)** Dağ yıldızı (*S. candida*)'nda yaptığı çalışmada Olgunlaşmamış embriyoları % 3 sukroz, % 7 agar, 4 mg/l BAP + 0.25 mg/l NAA, içeren MS besin ortamında kültüre almıştır ve Adventif sürgün rejenarasyonunun başarmıştır. Meydana gelen soğanları 1 mg/ l NAA, % 0.5 aktif kömür 30 g/l sukroz içeren MSbesin ortamında köklendirmiştir.

**Arslan vd (2003)**, *In vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia candida* ve *S. fischeriana* türlerin 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 düşünüldüğünde 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.

**Baktır vd (2003)**, Mis zambak (*Lilium candidum L*)' bitkisinde 0.5-1 cm soğan pul yapraklarını 0.30 ppm BA ve 0.03 ppm IBA içeren DMS besin ortamında kültüre almışlardır ve adventif soğan rejenarasyonunu başarmışlardır.

**Moran vd (2003)**, *Crytanthus spiralis* bitkisinde yaptıkları çalışmada *in vitro* koşullarında ikili pul yapraklarından en iyi adventif ve yan soğan oluşumu 5 g aktif kömür içeren sıvı besin ortamında, 6 hafta sonunda rapor etmişlerdir. En iyi sürgün gelişimi 1 mg/l NAA-2 mg/l BAP



içeren ortamda tesbit edilmiştir. Soğanlar %6 – 9 sukroz içeren ortamlara köklenme amacı ile aktarılması sonucunda ise %9 sukroz içeren besin ortamında gelişen soğanların hacim ve ağırlıklarının daha fazla olduğu gözlenmiştir.

**Günaydın (2004)** *Sternbergia clusiana*’ da Soğan pul yapraklarını % 3 sukroz, % 8 agar, 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA, içeren MS besin ortamında kültüre almıştır ve Adventif sürgün rejenerasyonunu başarmıştır, elde edilen soğanların % 8 agar, % 3 sukroz 1mg/l NAA içeren MS besin ortamında köklenmelerini rapor etmiştir.

**Khawar vd (2005)**, *Lilium candidum* L. (Mis zambak) bitkisinde yaptıkları çalışmalar sonucunda yaprak eksplantlarından değişik konsantrasyonlarında BAP-IBA içeren MS besin ortamlarında, adventif soğan rejenerasyonunu başarmışlardır.

**Parmaksız vd (2005)**, *Muscari muscarimi* bitkisinde Olgunlaşmamış embriyoları %3 sukroz, %7 agar, 4 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA içeren MS ortamında kültüre almışlardır ve Adventif sürgün rejenerasyonunu başarmışlardır, meydana gelen sürgünler ise MS besin ortamında köklendirilmiştir.

**Sevimay vd (2005)**, *Lilium candidum* bitkisinin pul yapraklarının alt kısımları ve *in vitro*’ da gelişen yapraklarında adventif soğan oluşumunu rapor etmişlerdir. Besin ortamı ise 2.22 µM BAP ve 2.69 µM NAA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır.

**Nasırcılar ve Karagüzel (2006)**, *Galanthus elwesii* Hook. bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada olgunlaşmış embriyoları kullanarak *in vitro* çoğaltımını başarmışlardır. En yüksek soğancık oluşumu ise 1 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir.

**Özel ve Khawar (2007)**, *Ornithogalum oligophyllum* bitkisinde yaptıkları çalışmada ikili pul yapraklarından adventif soğan oluşumunu rapor etmişlerdir. En iyi sonuç ise 2 mg/l BAP 0.5 mg/l IBA içeren MS besin ortamında gözlenmiştir.

**Özel (2008)** *M. muscarimi*, *M. macrocarpum*, *M. neglectum* ve *M. adilii* türlerinin *in vitro* çoğaltımı için yaptığı çalışmada, *M. muscarimi*'de en fazla soğan 19 adet ile 4 mg/l BAP ve 2 mg/l NAA içeren MS ortamında, *M. macrocarpum*'da en fazla soğan eksplant başına 6 adetle 2 mg/l KIN ve 0.5 mg/l NAA içeren MS ortamında, *M. neglectum*'da en fazla soğan 8.25 adetle 0.1 mg/l TDZ ve 2 mg/l NAA içeren MS ortamında, *M. adilii*'de ise, en çok soğan 15.75 adet ile 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde etmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırma Yerinin Tanıtılması

Araştırma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarlarında yürütülmüştür. Araştırmada uygulanan tüm doku kültürü manipulasyonları için gerekli olan temel cihazların hemen hemen tamamı adı geçen laboratuvarlarda bulunmaktadır. Birimde; steril kabin, soğutmalı santrifüj, mikroskop, inkübatör, manyetik karıştırıcı, otoklav, iklim dolabı, - 80°C derin dondurucu, kuru sterilizatör, kültür ve iklim odaları ile çalışmada kullanılan tüm sarf malzemeleri mevcuttur.

#### 3.2. Materyal

##### 3.2.1. Bitki materyali

*Muscari aucheri*, Nisan-Haziran ayları arasında genelde mavi çiçek açan, çoğunlukla Adana, Ankara, Antakya, Çorum, Denizli, Erzincan, Eskişehir illerinde (A4, A5, A6, A7, B2, B4, B6, B7, C2, C3, C5 karelerinde) 1000-3000 m'ye kadar olan taşlı yamaçlarda, su birikintilerinde yayılış gösteren bir türdür (Davis, 1984; Tübitak Türkiye Taksonomik Tür Veri Tabanı). Bu çalışmada materyal olarak Ankara ve Tokat gibi illerin doğal florasında yayılış gösteren *Muscari aucheri* türü kullanılmıştır (Şekil 3.1). Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü bitki herbaryumları incelenerek türün toplandığı alanlar hakkında bilgi alınmıştır.



Şekil 3.1. a) *M. aucheri*'nin doğal yayılış gösterdiği alandan bir görüntü



Şekil 3.1. b) *M. aucheri*'nin doğal yayılış gösterdiği alandan bir görüntü

### 3.2.2. Eksplant seçimi

*Muscari aucheri* türüne ait doku kültürü çalışmalarında kullanılmak üzere farklı organ eksplantları (soğan pul yaprakları, olgunlaşmamış embriyolar) kullanılmıştır. Bitki eksplantları bu türlerin doğal yayılış gösterdiği alanlardan toplanmıştır. Toplama sırasında kullanılacak olan eksplantın fizyolojik döneminin *in vitro* kültüre uygunluğuna dikkat edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. *Muscari aucheri* türüne ait farklı organ eksplantlarının kültüre alınması

### **3.2.3. Besin ortamı ve kültür koşulları**

Denemelerde temel besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog 1962), N<sub>6</sub> (Chu vd. 1975) (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2). Bu temel besin ortamlarına farklı oranlarda büyüme düzenleyiciler (oksin ve sitokininler), şekerler, vitaminler ve katılaştırıcılar ilave edildikten sonra besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121°C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir.

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

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

**Çizelge 3.2.** N<sub>6</sub> (Chu vd. 1975) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

<b>Mikro besin elementleri</b>	<b>mg/l</b>	<b>µM</b>
FeNaEDTA	36.70	100.00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.60	25.88
KI	0.80	4.81
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	3.33	19.70
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.50	5.22
<b>Makro besin elementleri</b>	<b>mg/l</b>	<b>mM</b>
CaCl <sub>2</sub>	125.33	1.13
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	400.00	2.94
KNO <sub>3</sub>	2830.00	27.99
MgSO <sub>4</sub>	90.27	0.75
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	463.00	3.50
<b>Vitaminler</b>	<b>mg/l</b>	<b>µM</b>
Glycine	2.00	26.64
Thiamine HCl	1.00	2.96
Pyridoxine HCl	0.50	2.43
Nicotinic acid	0.50	4.06



### **3.2.4. Soğan pul yapraklarının ve olgunlaşmamış embriyoların izolasyonu ve kültüre alınması**

Yüzey sterilizasyonundan sonra steril kabin içerisinde soğanların dış pul yaprakları çıkartılıp atıldıktan sonra kalan soğan parçaları denemelerde kullanılmıştır. Soğanlar büyüklüğüne göre dörde ve sekize bölünmüş, 3-5 mm genişliğinde 8-10 mm uzunluğunda ve bazal doku içeren 2 pul yapraklı soğan eksplantları kullanılmıştır. Çiçeklenme döneminde doğal florasından toplanarak laboratuvara getirilen meyveler ile tarla veya serada yetiştirilen bitkinin çiçeklendiği dönemden hemen sonra, koyu yeşil renkte ve orta irilikte tohumlar içeren meyveler (tozlaşmadan yaklaşık 18-20 gün sonra) hasat edilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra kültüre alınmıştır.

### **3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler**

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Doku kültürü çalışmalarında genel olarak, her muamele içerisinde 10 eksplantın bulunduğu 3 ya da 4 tekerrürlü 10x10 cm'lik petri kutularından oluşmuştur. Elde edilen verilere Düzgüneş vd (1983) tarafından bildirildiği şekilde varyans analizi ve Duncan testi uygulanmıştır. Yüzde değerler istatistiki analizden önce açı değerlerine dönüştürülmüş (Snedecorve Cochran, 1967) ve tüm istatistiki analizler, MSTAT-C bilgisayar programında yapılmıştır.

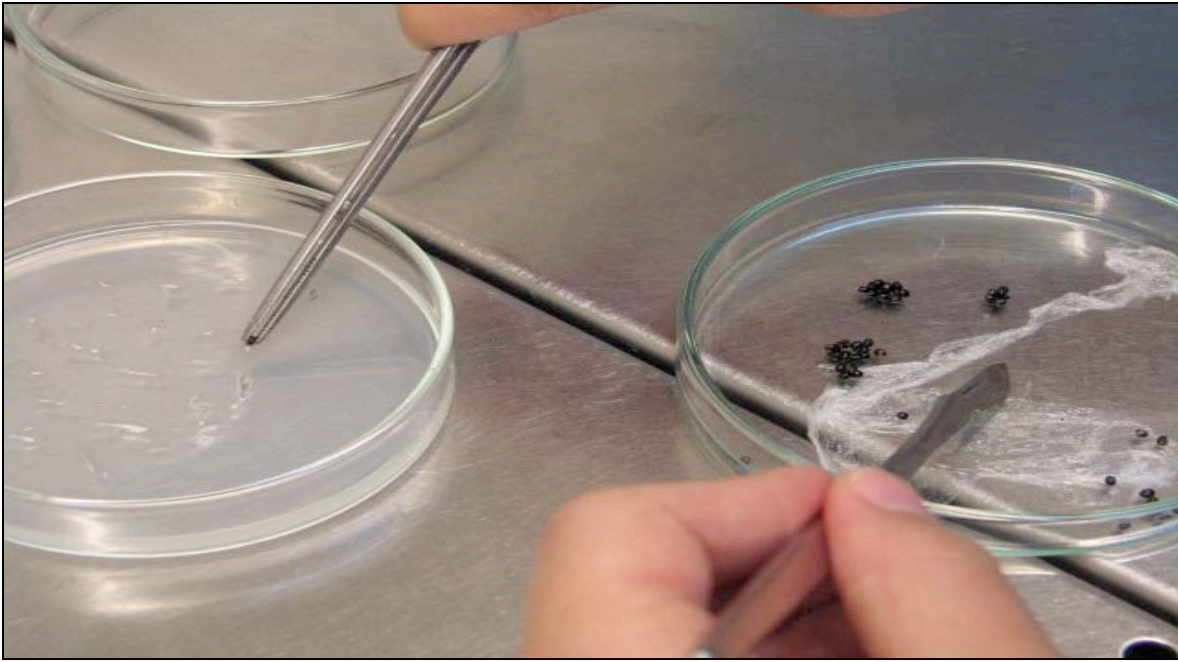
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Yüzey Sterilizasyonu

Çalışmada tüm soğanlar %95'lik etanol'de üç dakika bekletilmiş, %100 çamaşır suyu 40 ve 50 dakikalık sürelerde steril edildikten sonra 5 defa steril su ile durulanmıştır. Soyularak atılacak dış pul yaprak sayısı artırılmış, bulaşıklık oranını daha da azaltmak için her bir soğan için ayrı steril petri (kesim ve parçalama işlemlerinde kullanılmak üzere) kullanılmış, kontaminasyonun ortalama %10'na kadar düştüğü gözlenmiş, erken dönemde kontaminasyon görülen eksplantlar kültürden uzaklaştırılmıştır.

### 4.2. *M. aucheri*'de Olgunlaşmamış Embriolarından *In Vitro* Soğancık Üretimi

Çiçeklenmeyi takiben yaklaşık 30-35 gün sonra araziden toplanan olgunlaşmamış meyvelerden tohumlar çıkarılmış, %95'lik etanol'de 2 dakika bekletilmiş, daha sonra % 40'lık ticari çamaşır suyunda (axion) 20 dakika sterilizasyona tabi tutulmuştur. Tohumlardan çıkarılan embriyolarda hiçbir bulaşıklık problemi görülmemiştir. Yüzey sterilizasyonundan sonra tohumlardan olgunlaşmamış zigotik embriyolar çıkartılarak, kallus teşvik ortamlarına yerleştirilmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil. 4.1.** *M. aucheri* tohumlarından olgunlaşmamış zigotik embriyoların çıkartılarak, kallus teşvik ortamlarına yerleştirilmesi.

İki tip kallus teşvik ortamı kullanılmıştır.

- 1) N<sub>6</sub> mineral tuzları ve vitaminleri, 400 mg/L casein + 40 g/L sukroz + 2 g/l L-proline, 2 mg/L 2,4-D, 1 mg/L aktif kömür ve katılaştırıcı olarak da 2 g/L gelrite kullanılmıştır.
- 2) N<sub>6</sub> mineral tuzları ve vitaminleri, 400 mg/L casein + 40 g/L sukroz + 2 g/l L-proline, 2 mg/L 2,4-D ve katılaştırıcı olarak da 2 g/L gelrite kullanılmıştır.

Her iki ortamda zigotik embriyolar, 24±1°C de karanlıkta 4-6 hafta süreyle inkübe edildikten sonra soğancık oluşturma, geliştirme ve olgunlaştırma ortamlarına alınmıştır. Zigotik embriyolar kültüre alındıktan sonra, 15-20 gün sonra embriyoların etrafında kallus oluşumu başlamış, 4 haftadan sonra kallus büyüklüklerinin bariz bir şekilde arttığı görülmüştür (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

Kallus teşvik ortamına 30-40 adet/petri embryo yerleştirilerek kültür başlangıcından yaklaşık 6 hafta sonra tüm embriyoların kallus oluşturma oranları % olarak belirlenmiş, tamamının kallus oluşturduğu gözlenmiştir. Kalus büyüklüklerinin bariz bir şekilde arttığı görülmüştür. Mikroskop altında somatik embriyo başlangıç safhaları (kalp) tespit edilmiştir.

Her iki ortamda da % 100 kallus oluşumu gözlenmiştir.



**Şekil 4.2.** Zigotik embriyolar kültüre alındıktan 15-20 gün sonra embriyoların etrafında kallus oluşumu



**Şekil 4.3.** Zigotik embriyolar kültüre alındıktan 20-25 gün sonra olgunlaşmamış embriyoların etrafında aktif kömür içeren ortamda kallus oluşumu

2 hafta süreyle ışığa alıştırılan kallusların etrafındaki havlu kağıt çıkarılarak 24°C’de ve 16 saatlik fotoperiod ile beyaz floresanda farklı konsantrasyonlarda sitokinin kaynağı olarak BAP, KIN ve oksin kaynağı olarak IBA içeren MS besin ortamlarında (soğancık teşvik ortamı) kültüre alınmaya devam edilmiştir. Soğancık teşvik ortamında kültüre alındıktan yaklaşık 8-10 hafta sonra kallusların üzerinde somatik embriyolar ve yeşil sürgün uçları görülmeye başlanmıştır (Şekil 4.4). Daha sonra sürgünler soğancığa dönüşmeye başlamıştır (Şekil 4.5). Kültüre alındıktan 6-8 ay sonra olgunlaşmamış *M. aucheri* embriyolarından yoğun soğancık oluşumu gerçekleşmiştir (Şekil 4.6).

*M. aucheri* olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında, farklı KINxBAP ve IBA konsantrasyonlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğan sayısı üzerine etkisi, yapılan varyans analizi sonuçlarına göre 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. BAPxKIN ve IBA konsantrasyonlarının sürgün oluşturan eksplant oranına etkisine ait yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi (% 100) en fazla 1 mg/l KIN, 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA içeren besin ortamında elde edilirken, eksplant başına en yüksek soğan sayısı (18.3 adet) 0.5 mg/l KIN, 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA uygulamasından elde edilmiştir. Eksplant başına en düşük soğan sayısı (4.44 adet) ise en az sürgün oranının olduğu (% 50) 2 mg/l KIN 0.5 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA içeren besin ortamında belirlenmiştir.

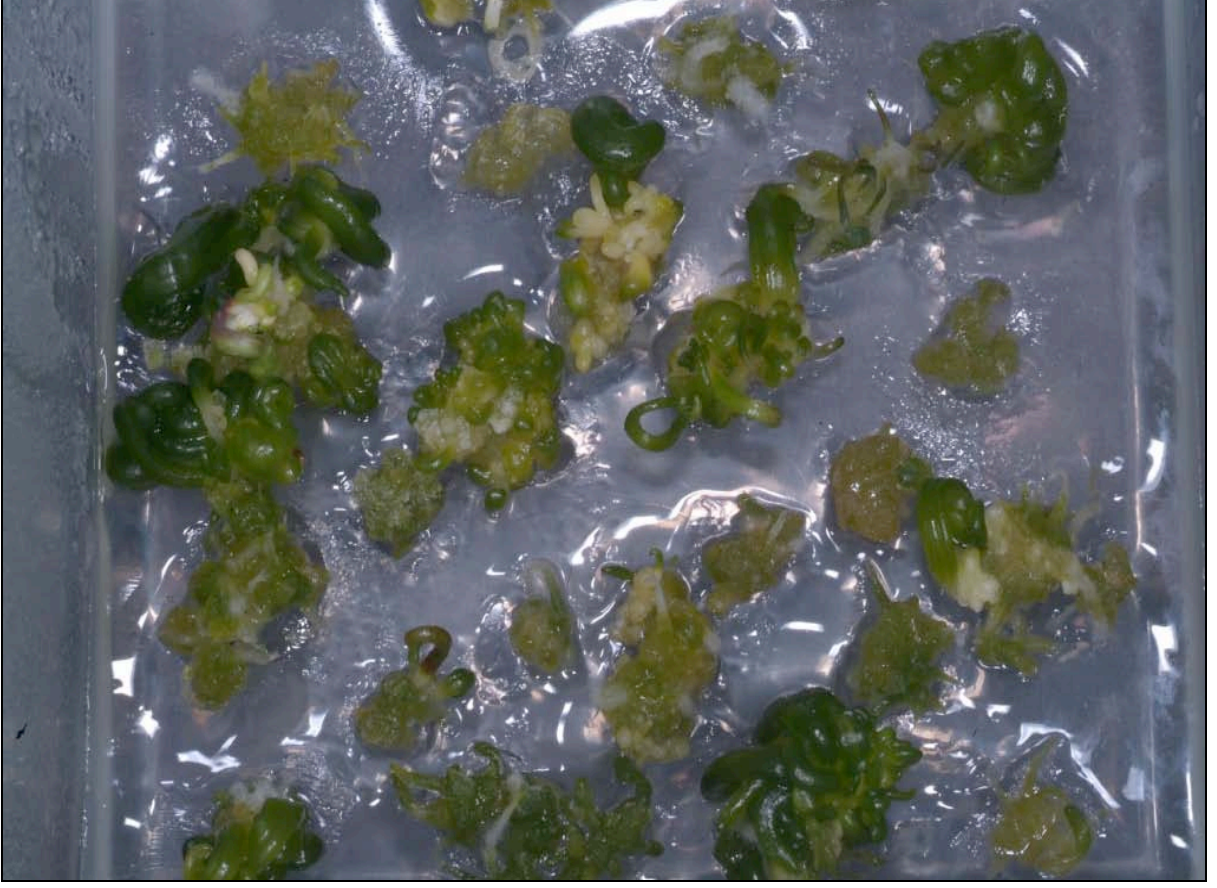
**Çizelge 4.1.** Farklı KINxBAP ve IBA konsantrasyonlarının *M. aucheri*'de olgunlaşmamış embriyo eksplantından sürgün ve soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme düzenleyiciler (mg/l)			Kallus oluşturan Eksplant oranı (%)	Sürgün oluşturan Eksplant oranı (%)	Eksplant başına Soğan sayısı (adet)
KIN	BAP	IBA			
0.5	0.5	0.25	100	75.0 b	8.46 bc*
0.5	1.0	0.25	100	70.0 b	6.33 bc
0.5	2.0	0.25	100	92.5 a	<b>18.3 a</b>
1.0	0.5	0.25	100	75.0 b	11.4 bc
1.0	1.0	0.25	100	72.5 b	12.2 a
1.0	2.0	0.25	100	<b>100.0 a</b>	16.7 a
2.0	0.5	0.25	100	50.0 c	4.44 c
2.0	1.0	0.25	100	62.5 bc	8.75 b
2.0	2.0	0.25	100	95.0 a	11.9 bc

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.01 düzeyinde önemlidir

A.O.F % 1= 6.2





**Şekil 4.4.** Kallus oluşumundan yaklaşık 8-10 hafta sonra *M. aucheri* embriyolarından meydana gelen kalluslar üzerinde yeşil sürgün oluşumu (*Kültür kabı genel görünüm, yukarıdan çekim*)



**Şekil 4.5.** Olgunlaşmamış *M. aucheri* embriyolarından meydana gelen kalluslar üzerinde soğancık oluşumu



**Şekil 4.6.** Kültüre alındıktan 6-8 ay sonra olgunlaşmamış *M. aucheri* embriyolarından yoğun soğancık oluşumu (*Kültür kabı genel görünüm, yukarıdan çekim*)

#### **4.3. *M. aucheri* Soğan Pul Yapraklarının *In Vitro* da Kültüre Alınması ve Embriyonik Kallus ve *In Vitro* Soğancık Oluşumu**

Soğan pul yaprakları, 2 mg/l 2,4-D, 40 g/l mannitol olmak üzere değişik oran ve kombinasyonlarda sitokin (BAP, KIN, TDZ, GA<sub>4</sub>) ve oksin (IAA, IBA) ve katılaştırıcı olarak 2 mg/l agar içeren besi yerlerinde kültüre alınmıştır. Eksplant kaynaklı sterilizasyondan yaşanan problemlerden dolayı denemeler mümkün olduğunca çok tekerrürlü yapılmıştır. Kültüre alındıktan 4-10 gün içinde bulaşıklık görülmeyen eksplantlar benzer ortamlarda kültüre alınmıştır. Eksplant sayısına göre 3 tekerrür altına düşen ortamlar, deneme konusundan çıkarılarak, çalışmalar tekrarlanmıştır.

#### 4.3.1. Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkileri

Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus rejenerasyonu üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının kallus oluşumu üzerine etkisi istatistiki olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.2.** Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi

	Kaynaklar	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F değeri	Olasılık
1	Büyüme düzenleyicileri	2	1334.099	667.050	3.2122	0.0581
2	Konsantrasyon oranları	12	5732.443	477.704	2.300*	0.0398
3	Hata	24	4983.813	207.659		
	<b>Toplam</b>	38	12050.335			

\* İstatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Farklılıkların önem düzeyini belirleyebilmek amacıyla kullanılan tüm ortamlarda, Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkileri

<b>Kallus oluşturan eksplant oranı (%)</b>				
	<b>Büyüme düzenleyici (mg/l)</b>			<b>Ortalama</b>
	<b>KIN</b>	<b>IBA</b>	<b>TDZ</b>	
<b>1</b>	2.0	0.5		<b>100 a*</b>
<b>2</b>	0.5	0.1		<b>100 a</b>
<b>3</b>	0.5	0.2		<b>100 a</b>
<b>4</b>	1.0	0.1		<b>100 a</b>
<b>5</b>	1.0	0.2		<b>100 a</b>
<b>6</b>	2.0	0.1		<b>100 a</b>
<b>7</b>	2.0	0.2		<b>100 a</b>
<b>8</b>		0.1	0.05	<b>100 a</b>
<b>9</b>		0.2	0.05	<b>100 a</b>
<b>10</b>		0.1	0.25	66.7 b
<b>11</b>		0.2	0.25	73.3 ab
<b>12</b>		0.1	0.50	80.0 ab
<b>13</b>		0.2	0.50	66.7 b

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

A.Ö.F. %0.5 = 24.28

Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarında soğan pul yapraklarında, % 66.6-100 arasında kallus oluşumu gözlenmiştir. Bütün KIN konsantrasyonlarında %100 kallus oluşumu saptanırken, 0.25 ve 0.50 mg/l TDZ içeren besin ortamlarında kallus oluşumunun düştüğü gözlenmiş istatistiki olarak 2. grupta yer almıştır.

Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında, sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi, farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkisi, istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.5.'de görüldüğü gibi farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkisine ait ortalamalar verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi

	<b>Kaynaklar</b>	<b>Serbestlik derecesi</b>	<b>Kareler toplamı</b>	<b>Kareler ortalaması</b>	<b>F değeri</b>	<b>Olasılık</b>
<b>1</b>	<b>Büyüme düzenleyicileri</b>	2	1334.099	667.050	2.7023	0.0874
<b>2</b>	<b>Konsantrasyon oranları</b>	12	5481.812	456.818	1.8506	0.0964
<b>3</b>	<b>Hata</b>	24	5924.392	246.850		
	<b>Toplam</b>	38	12740.302			

\* İstatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

**Çizelge 4.5.** Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkileri

<b>Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%)</b>				
	<b>Büyüme düzenleyiciler</b>			<b>Ortalama</b>
	<b>KIN</b>	<b>IBA</b>	<b>TDZ</b>	
<b>1</b>	2.0	0.5		<b>100</b>
<b>2</b>	0.5	0.1		90.0
<b>3</b>	0.5	0.2		<b>100</b>
<b>4</b>	1.0	0.1		<b>100</b>
<b>5</b>	1.0	0.2		<b>100</b>
<b>6</b>	2.0	0.1		95.0
<b>7</b>	2.0	0.2		<b>100</b>
<b>8</b>		0.1	0.05	<b>100</b>
<b>9</b>		0.2	0.05	<b>100</b>
<b>10</b>		0.1	0.25	66.7
<b>11</b>		0.2	0.25	73.3
<b>12</b>		0.1	0.50	80.0
<b>13</b>		0.2	0.50	66.7

Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarında soğan pul yapraklarında % 66.7- 100 arasında sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı gözlenmiştir. Bütün KIN konsantrasyonlarında yüksek oranda sürgün ya da soğan oluşturan eksplanta rastlanırken, TDZ içeren besin ortamlarında sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranının düştüğü gözlenmiş ancak ve oluşan farkların istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur.

Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının yapraklarında, eksplant başına soğan sayısı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Benzer olarak Çizelge 4.6'da da görüldüğü gibi farklı Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının eksplant başına soğan sayısı üzerine etkisi, istatistiki olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.6.** Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında eksplant başına soğan sayısı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi

	<b>Kaynaklar</b>	<b>Serbestlik derecesi</b>	<b>Kareler toplamı</b>	<b>Kareler ortalaması</b>	<b>F değeri</b>	<b>Olasılık</b>
<b>1</b>	<b>Büyüme düzenleyicileri</b>	2	266.383	133.192	3.1696	0.0600
<b>2</b>	<b>Konsantrasyon oranları</b>	12	3255.944	271.329	6.4569*	0.0001
<b>3</b>	<b>Hata</b>	24	1008.515	42.021		
	<b>Toplam</b>	38	4530.842			

\* İstatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında eksplant başına soğan sayısı üzerine etkisine ait ortalamalar verilmiştir.



**Çizelge 4.7.** Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında eksplant başına soğan sayısı üzerine etkileri

<b>Eksplant başına soğan sayısı</b>				
	<b>Büyüme düzenleyiciler</b>			<b>Ortalama</b>
	<b>KIN</b>	<b>IBA</b>	<b>TDZ</b>	
<b>1</b>	2.0	0.5		33.5 d*
<b>2</b>	0.5	0.1		42.7 bcd
<b>3</b>	0.5	0.2		46.2 abc
<b>4</b>	1.0	0.1		37.0 cd
<b>5</b>	1.0	0.2		51.7 ab
<b>6</b>	2.0	0.1		<b>57.0 a</b>
<b>7</b>	2.0	0.2		49.3 abc
<b>8</b>		0.1	0.05	44.0 bcd
<b>9</b>		0.2	0.05	20.5 e
<b>10</b>		0.1	0.25	49.0 abc
<b>11</b>		0.2	0.25	44.7 bcd
<b>12</b>		0.1	0.50	41.3 bcd
<b>13</b>		0.2	0.50	33.3 d

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

A.Ö.F. %0.5 = 10.92

Farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarında soğan pul yapraklarında 20.5-57.0 adet arasında ortalama eksplant başına soğan sayısı gözlenmiştir. Genel olarak bütün KIN konsantrasyonlarında yüksek miktarda eksplant başına soğan sayısı saptanırken, TDZ içeren besin ortamlarında genel olarak eksplant başına soğan sayısı düştüğü gözlenmiş ve besin ortamları arasındaki farklılıklar, istatistiki olarak önemli bulunmuş, 5 farklı grup oluşmuştur.

En yüksek eksplant başına soğan sayısı 2.0 mg/l KIN + 0.1 mg/l IBA içeren ortamda saptanmıştır. Buna karşılık, en düşük eksplant başına soğan sayısı 0.05 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IBA içeren ortamda saptanmıştır.

Çizelge 4.8' de farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarında Kallus oluşturan eksplant oranı (%),Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%),Eksplant başına soğan sayısı (adet) ve petride gelişen toplam soğan sayısı (adet) olarak görülmektedir. Görüldüğü gibi petride gelişen en yüksek soğan sayısı (541.5) 2.0 mg/l KIN ve 0.1 mg/l IBA içeren ortamdan elde edilmiştir.

**Çizelge 4.8.** farklı KIN, TDZ ve IBA konsantrasyonlarında Kallus oluşturan eksplant oranı (%),Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%),Eksplant başına soğan sayısı (adet) ve Petride gelişen toplam soğan sayısı (adet)

	Büyüme düzenleyici (mg/l)			Kallus oluşturan eksplant oranı (%)	Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%)	Eksplant başına soğan sayısı (adet)	Petride gelişen toplam soğan sayısı (adet)
	KIN	IBA	TDZ				
<b>1</b>	2.0	0.5		100	100	33.5	335.0
<b>2</b>	0.5	0.1		100	90.0	42.7	384.3
<b>3</b>	0.5	0.2		100	100	46.2	462
<b>4</b>	1.0	0.1		100	100	37.0	370
<b>5</b>	1.0	0.2		100	100	51.7	517
<b>6</b>	2.0	0.1		100	95.0	57.0	<b>541.5</b>
<b>7</b>	2.0	0.2		100	100	49.3	493
<b>8</b>		0.1	0.05	100	100	44.0	440
<b>9</b>		0.2	0.05	100	100	20.5	205
<b>10</b>		0.1	0.25	66.7	66.7	49.0	326.9
<b>11</b>		0.2	0.25	73.3	73.3	44.7	327.7
<b>12</b>		0.1	0.50	80.0	80.0	41.3	330.4
<b>13</b>		0.2	0.50	66.6	66.7	33.3	222.1

#### 4.3.2. Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkileri

Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus rejenerasyonu üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.9’de verilmiştir. Çizelge 4.9’de görüldüğü gibi, farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının kallus oluşumu üzerine etkisi istatistiki olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.9.** Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi

	Kaynaklar	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F değeri	Olasılık
1	Büyüme düzenleyicileri	2	255.935	127.967	0.2983	
2	Konsantrasyon oranları	11	12705.932	1155.085	2.6923*	0.0231
3	Hata	22	9438.795	429.036		
	<b>Toplam</b>	35	22400.662			

\*İstatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Farklılıkların önem düzeyini belirleyebilmek amacıyla kullanılan tüm ortamlarda, Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.10’da verilmiştir.

**Çizelge 4.10.** Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarında kallus oluşumu üzerine etkileri

<b>Kallus oluşturan eksplant oranı</b>				
	<b>Büyüme düzenleyiciler</b>			<b>Ortalama</b>
	<b>BAP</b>	<b>IAA</b>	<b>GA<sub>4</sub></b>	
<b>1</b>	0.5	0.1		40.0 c*
<b>2</b>	0.5	0.2		93.3 ab
<b>3</b>	1.0	0.1		86.6 abc
<b>4</b>	1.0	0.2		46.6 bc
<b>5</b>	2.0	0.1		73.3 abc
<b>6</b>	2.0	0.2		40.0 c
<b>7</b>		0.1	0.5	60.0 abc
<b>8</b>		0.2	0.5	<b>100 a</b>
<b>9</b>		0.1	1.0	<b>100 a</b>
<b>10</b>		0.2	1.0	<b>100 a</b>
<b>11</b>		0.1	2.0	73.3 abc
<b>12</b>		0.2	2.0	73.3 abc

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

A.Ö.F. % 5 = 35,07

Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarında soğan pul yapraklarında,%40.0-% 100 arasında kallus oluşumu gözlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu, 0.5 mg/l GA<sub>4</sub> + 0.1 mg/l IAA, 1.0 mg/l GA<sub>4</sub> + 0.1 mg/l IAA, 1.0 mg/l GA<sub>4</sub> + 0.1 mg/l IAA içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük kallus oluşumu 2.0 mg/l BAP+ 0.2 mg/l IAA içeren ortamda saptanmıştır. Genel olarak bakıldığında GA<sub>4</sub> içeren besin ortamında kallus oranının arttığı gözlenmiştir.

Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA soğan pul yapraklarında, sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Çizelge 4.11’de görüldüğü gibi farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkisi istatistiki olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.11.** Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi

	<b>Kaynaklar</b>	<b>Serbestlik derecesi</b>	<b>Kareler toplamı</b>	<b>Kareler ortalaması</b>	<b>F değeri</b>	<b>Olasılık</b>
<b>1</b>	<b>Büyüme düzenleyicileri</b>	2	68.324	34.162	0.0787	
<b>2</b>	<b>Konsantrasyon oranları</b>	11	11593.469	1053.952	2.4294*	0.0368
<b>3</b>	<b>Hata</b>	22	9544.353	433.834		
	<b>Toplam</b>	35	21206.146			

\*İstatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Farklılıkların önem düzeyini belirleyebilmek amacıyla kullanılan tüm ortamlarda, Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.12’de verilmiştir.

**Çizelge 4.12.** Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı üzerine etkileri

<b>Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı</b>				
	<b>Büyüme düzenleyiciler</b>			<b>Ortalama</b>
	<b>BAP</b>	<b>IAA</b>	<b>GA<sub>4</sub></b>	
<b>1</b>	0.5	0.1		33.3 b*
<b>2</b>	0.5	0.2		<b>93.3 a</b>
<b>3</b>	1.0	0.1		80.0 ab
<b>4</b>	1.0	0.2		46.7 ab
<b>5</b>	2.0	0.1		46.7 ab
<b>6</b>	2.0	0.2		40.0 b
<b>7</b>		0.1	0.5	60.0 ab
<b>8</b>		0.2	0.5	<b>93.3 a</b>
<b>9</b>		0.1	1.0	<b>93.3 a</b>
<b>10</b>		0.2	1.0	<b>93.3 a</b>
<b>11</b>		0.1	2.0	73.3 ab
<b>12</b>		0.2	2.0	53.3 ab

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

A.Ö.F. % 5 = 35,27

Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarında soğan pul yapraklarında %33.3- %93.3 arasında sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı gözlenmiştir. En yüksek sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı %93.3 ile 0.5 mg/l GA<sub>4</sub> + 0.2 mg/l IAA, 1.0 mg/l GA<sub>4</sub> + 0.1 mg/l IAA, 1.0 mg/l GA<sub>4</sub> + 0.1 mg/l IAA içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı %33.3 ile 0.5 mg/l BAP + 0.1 mg/l IAA içeren ortamda saptanmıştır. Genel olarak bakıldığında GA<sub>4</sub> içeren besin ortamında kallus oranının arttığı gibi sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranında kayda değer bir biçimde arttığı gözlenmiştir.

Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA soğan pul yapraklarında, eksplant başına soğan sayısı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Çizelge 4.13.'de görüldüğü gibi farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının eksplant başına soğan sayısı oranı üzerine etkisi istatistiki olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.13.** Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından eksplant başına soğan sayısı üzerine etkilerine ilişkin varyans analizi

	<b>Kaynaklar</b>	<b>Serbestlik derecesi</b>	<b>Kareler toplamı</b>	<b>Kareler ortalaması</b>	<b>F değeri</b>	<b>Olasılık</b>
<b>1</b>	<b>Büyüme düzenleyicileri</b>	2	318.142	159.071	1.8794	0.1764
<b>2</b>	<b>Konsantrasyon oranları</b>	11	2332.316	212.029	2.5051*	0.0321
<b>3</b>	<b>Hata</b>	22	1862.071	84.640		
	<b>Toplam</b>	35	4512.529			

\*İstatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.



Farklılıkların önem düzeyini belirleyebilmek amacıyla kullanılan tüm ortamlarda, Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.14’de verilmiştir.

**Çizelge 4.14.** Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarının soğan pul yapraklarından eksplant başına soğan sayısı üzerine etkileri

Eksplant başına soğan sayısı				
	Büyüme düzenleyiciler			Ortalama
	BAP	IAA	GA <sub>4</sub>	
<b>1</b>	0.5	0.1		3.7 c*
<b>2</b>	0.5	0.2		<b>33.0 a</b>
<b>3</b>	1.0	0.1		21.7 ab
<b>4</b>	1.0	0.2		22.0 ab
<b>5</b>	2.0	0.1		10.7 bc
<b>6</b>	2.0	0.2		17.0 abc
<b>7</b>		0.1	0.5	8.0 bc
<b>8</b>		0.2	0.5	25.3 ab
<b>9</b>		0.1	1.0	15.1 bc
<b>10</b>		0.2	1.0	21.1 abc
<b>11</b>		0.1	2.0	11.7 bc
<b>12</b>		0.2	2.0	9.3 bc

\* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

A.Ö.F. % 5 = 15,58

Farklı BAP, GA<sub>4</sub> ve IAA konsantrasyonlarında soğan pul yapraklarında 3.37-33.0 adet arasında eksplant başına soğan sayısı olduğu gözlenmiştir. En yüksek eksplant başına soğan sayısı 0.5 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA içeren ortamda saptanmıştır. Buna karşılık, en düşük eksplant başına soğan sayısı 0.5 mg/l BAP + 0.1 mg/l IAA içeren ortamda saptanmıştır.

Çizelge 4.15' de ise farklı BAP, IAA ve GA<sub>4</sub> konsantrasyonlarında Kallus oluşturan eksplant oranı (%), sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%), eksplant başına soğan sayısı (adet) ve petride gelişen toplam soğan sayısı (adet) görülmektedir. Görüldüğü gibi petride gelişen en yüksek soğan sayısı (307.9) 0.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/l IAA içeren ortamdan elde edilmiştir.

**Çizelge 4.15.** Farklı BAP, IAA ve GA<sub>4</sub> konsantrasyonlarında Kallus oluşturan eksplant oranı (%),Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%),Eksplant başına soğan sayısı (adet) ve Petride gelişen toplam soğan sayısı (adet)

	Büyüme düzenleyici (mg/l)			Kallus oluşturan eksplant oranı (%)	Sürgün ya da soğan oluşturan eksplant oranı (%)	Eksplant başına soğan sayısı (adet)	Petride gelişen toplam soğan sayısı (adet)
	BAP	IAA	GA <sub>4</sub>				
1	0.5	0.1		40.0	33.3	3.7	12.3
2	0.5	0.2		93.3	93.3	33.0	<b>307.9</b>
3	1.0	0.1		86.6	80.0	21.7	173.6
4	1.0	0.2		46.6	46.7	22.0	102.7
5	2.0	0.1		73.3	46.7	10.7	50.0
6	2.0	0.2		40.0	40.0	17.0	68.0
7		0.1	0.5	60.0	60.0	8.0	48.0
8		0.2	0.5	100	93.3	25.3	236.0
9		0.1	1.0	100	93.3	15.1	140.9
10		0.2	1.0	100	93.3	21.1	196.9
11		0.1	2.0	73.3	73.3	11.7	85.8
12		0.2	2.0	73.3	53.3	9.3	49.6

Genel olarak bakıldığında tüm denenen besin ortamlarında, soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 6 hafta sonra kallus oluşumu, yapraklarında kültüre aldıktan 10-16 hafta sonra kalluslar üzerinde sürgün ve soğancık oluşumu, 6-8 ay sonra gelişkin soğancık oluşumu meydana gelmiştir (Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9.).



**Şekil 4.7.** Soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 6 hafta sonra kallus oluşumu



**Şekil 4.8.** Soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 10-16 hafta sonra kalluslar üzerinde sürgün ve soğancık oluşumu



**Şekil 4.9.** Soğan pul yapraklarında kültüre aldıktan 6-8 ay sonra gelişkin soğancık oluşumu

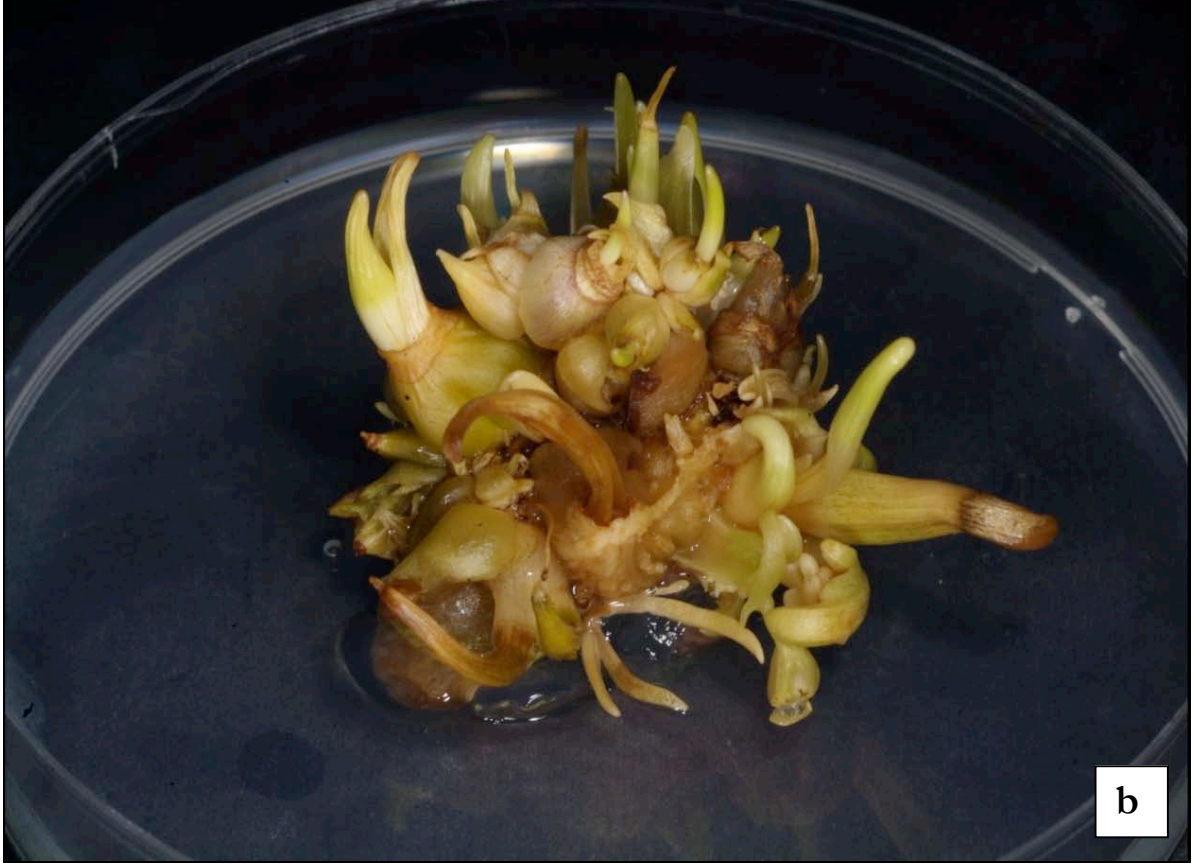
#### **4.4. *M. aucheri* Olgunlaşmamış Embriolarından ve Soğan Pul Yapraklarından Gelişen Soğancıkların, Soğancık Geliştirme Ortamı (SGO) Soğancık Olgunlaştırma Ortamı (SOO) ve Köklendirmeye Alınması ve Aklimatizasyon Çalışmaları**

*M. aucheri* olgunlaşmamış embriolarından yaklaşık 10-18 hafta sonra gelişmeye başlayan soğancıklar 14. haftaya kadar soğancık rejenerasyon ortamında bekletilmiştir. Daha sonra kallus üzerindeki soğancıklar, MS mineralleri ve vitaminleri, 40 g/l sukroz, 500 mg/L casein 8 g/l agar içeren Soğancık olgunlaştırma ortamı (SOO) ortamlarına alınmaya başlamıştır. Burada soğancıkların hacimsel olarak büyüdüğü gözlenmiştir. Bu ortamda 2 haftada bir alt kültür yapılarak büyüyen kültürler parçalanarak ayrı kültür kaplarına dikilmiştir (Şekil 4.10. a ve b). *M. aucheri* olgunlaşmış embriolarından gelişen bazı soğancıklar, 1 mg/l NAA, ve 6 g/l

agar ile katılaştırılan 1/2 MS (yarıya indirgenmiş) besin ortamında köklendirilmeye alınmaya başlamış, yaklaşık 3-4 hafta içinde soğancıkların köklenmeye başladığı görülmüştür.



**Şekil 4.10.** a) Gelişen soğancıkların soğancık olgunlaştırma (SOO) ortamında kültüre alınması ile gelişen soğanlar



**Şekil 4.10.** b) Soğancık olgunlaştırma (SOO) ortamında gelişen ve parçalarak ayrılan soğancıklarda SOO ortamında kahve rengi kabuk oluşumunun başlaması

*M. aucheri* soğan eksplantlarından, farklı temel besin ortamları ve hormon konsantrasyonlarında kültür başlangıcından 3-6 ay sonra yoğun küçük soğancık, 6-9 ay sonra ise yarı gelişkin soğanlar oluşmuştur. Soğancıklar daha sonra MS mineralleri ve vitaminleri, 40 g/l sukroz, 500 mg/L kasein, 8 g/l agar içeren soğancık olgunlaştırma ortamına (SOO) aktarılarak ayda bir bu ortamda alt kültür yapılmıştır. *M. aucheri* soğan pul yapraklarından gelişen bazı soğancıklar, 1 mg/l NAA ve 6 g/l agar ile katılaştırılan 1/2 MS (yarıya indirgenmiş) besin ortamında köklendirilmeye alınmaya başlamış, yaklaşık 5-6 hafta içinde soğancıkların köklenmeye başladığı görülmüştür (Şekil 4.11).





**Şekil 4.11.** Gelişen soğancıkların parçalanarak köklendirme oramlarına hazırlanması ve *M. aucheri* olgunlaşmış ve gelişkin bazı soğancıkların 1 mg/l NAA, ve 6 g/l agar ile katulaştırılan 1/2 MS (yarıya indirgenmiş) besin ortamında köklendirilmesi

Olgunlaşmamış embriyo ve soğan pul yapraklarından oluşan soğanlar, soğancık olgunlaştırma ortamlarından köklendirilen soğancıklar toprağa aktarılmıştır. Daha sonra, birkaç gün yüksek nemde (%70-90) tutularak bitkiciklerin hem şartlara uyumu hem de kök sisteminin gelişmesi beklenmiş, yaşayan bitkiler iklim dolabında, kompost ve torf içeren küçük kültür kaplarında aklimatize edilmiştir (Şekil 4.12). Olgunlaşmamış embriyo ve soğan pul yapraklarından oluşan soğancıkların aklimatizasyonu sonucu yaşayan ve gelişimine devam eden soğan oranı ortalama %17 olmuştur.



**Şekil 4.12. a)** *In vitro*'da gelişen *M. aucheri* soğancıklarının iklim odasında, kompost ve torf içeren küçük kültür kaplarında aklimatizasyonu



**Şekil 4.12. b)** *In vitro*'da gelişen *M. aucheri* soğancıklarının iklim odasında, kompost ve torf içeren küçük kültür kaplarında aklimatizasyonu

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Doku kültürü çalışmalarında başarının temelinde uygun bir yüzey sterilizasyonu yatmaktadır. Yüzey sterilizasyonunda kullanılan dezenfektanın konsantrasyonu ve sterilizasyon süresi, eksplantın canlılığını ve rejenerasyon kapasitesini önemli derecede etkilemektedir (Allan 1991). Bu nedenle doku kültürü çalışmalarında, en kısa süre ve en düşük dezenfektan dozuyla en iyi yüzey sterilizasyonu hedeflenmektedir. Tohum ve eksplant sterilizasyonunda hidrojen peroksit, civa, gümüş nitrat ve antibiyotikler kullanılsa da, dünyada en yaygın ve etkili olarak sodyum hipoklorit (ticari çamaşır suyu) dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Yıldız ve Er (2002) keten bitkisinde yaptıkları bir araştırmada sterilizasyon için en uygun NaOCl'in % 40'lık konsantrasyonunun 10 °C'deki uygulamasından elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Her bitki tohumunun bakteri, mantar ve benzeri mikroorganizmalardan temizlenebilmesi için gerekli dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi farklıdır. Bu nedenle, öncelikle doku kültürü çalışmasına konu olan bitkiye ait en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi gerekir. Yüksek konsantrasyon ve uzun süreli dezenfektan içerisinde bırakılan tohumlarda çimlenme düşüklüğü görülmekte, aynı şekilde yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılan eksplantların dokuları zarar görerek rejenerasyon kapasitesi düşmekte, hatta eksplantlar ölmektedir.

Çalışmada tüm soğanlar % 95'lik etanol'de üç dakika bekletilmiş, % 100 çamaşır suyunda 40 ve 50 dakikalık sterilizasyon süresinde steril edildikten sonra 5 defa steri su ile durulanmıştır. Soyularak atılacak dış pul yaprak sayısı artırılmış, bulaşıklık oranını daha da azaltmak için her bir soğan için ayrı steril petri (kesim ve parçalama işlemlerinde kullanılmak üzere) kullanılmış, kontaminasyon ortalama % 10'na kadar düşürülmüştür.

Bitki türleri ve kültürü yapılacak bitki kısımlarının seçimi adventif sürgün gelişmesi için son derece önemlidir. Doku kültürü çalışmalarında, bitkilerde düşük adventif sürgün rejenerasyonu karşılaşılan en önemli problemlerden biridir. Doku kültüründe, uygun eksplant

seçimi, rejenerasyonu etkileyen önemli faktörlerden olup, her organ ya da dokunun rejenerasyon kapasitesi farklıdır. Bitki büyüme düzenleyicileri *in vitro* kültürde bitki rejenerasyonunu en fazla etkileyen faktörlerin başında gelmekte olup oksin-stokinin dengesi, yüksek oranda bitki rejenerasyonu için şarttır. Bu proje kapsamında da *M.aucheri* türüne ait 4 yapraklı pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyolar kullanılmıştır.

Olgunlaşmamış embriyolar ile yapılan çalışmalarda tüm ortamlarda, %100'lük kallus oluşumu görülmüştür. Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi (%100) en fazla 1 mg/l KIN, 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA içeren besin ortamında elde edilirken, eksplant başına en yüksek soğan sayısı (18.3 adet) 0.5 mg/l KIN, 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l IBA uygulamasından elde edilmiştir. Uranbey vd (2009), farklı soğancık teşvik ortamlarında (BAP x IAA, KIN x IAA, Zeatin x NAA ve TDZ x NAA) kültüre alınan *M. aucheri* embriyolarından en yüksek eksplant başına soğan sayısı (32 adet) 1 mg/l BAP ve 0.50 mg/l IAA uygulamasından elde edilmiştir.

Genel olarak bakıldığında, olgunlaşmamış embriyoların son derece uygun embriyonik kallus oluşturduğu ve bu kalluslar üzerinde somatik embryogenesis yoluyla çok sayıda sürgün ve soğancık meydana geldiği görülmüştür. Yüksek oranda *in vitro* soğancık üretimi için olgunlaşmamış embriyoların çok uygun eksplant olduğu söylenebilir. Benzer olarak, olgunlaşmamış embriyolar kullanılarak yüksek oranda bitki rejenerasyonu buğday (Vasil vd 1993), bezelye (Özcan vd 1993), Korunga (Özcan vd 1996), macar fiği (Sancak vd 2000) ve mısır (Özcan 2002) gibi birçok bitki türünde rutin olarak elde edilebilmektedir. *Sternbergia candida* ve *S. fischeriana* türlerinde tek bir olgunlaşmamış embriyo eksplantından 1 yıl içerisinde ortalama 80 adet soğancık üretimi gerçekleştirilebilmiştir (Arslan vd 2002; Mirici vd 2005).

Soğan pul yaprakları, 2 mg/l 2,4-D, 40 g/l mannitol olmak üzere değişik oran ve kombinasyonlarda sitokin (BAP, Kinetin, TDZ), GA<sub>4</sub> ve oksin ( IAA, IBA ) ve katılaştırıcı olarak 2 mg/l agar içeren besin yerlerinde kültüre alınmıştır. Bütün besin ortamlarında pul yaprak eksplantların tamamının kallus oluşturduğu görülmüştür. Eksplant başına en yüksek soğan sayısı (51.7 adet) 2.0 mg/l KIN + 0.2 mg/l IBA içeren ortamda

saptanmıştır. Uranbey vd (2009), *M.aucheri*'de ise en yüksek eksplant başına soğancık sayısı (34.5 adet) iki pul yapraklı eksplantlardan 1 mg/l KIN içeren MS besin ortamından elde ederken, dört pul yapraklı eksplantlardan ise en yüksek eksplant başına soğancık sayısı (41 adet) 2 mg/l KIN içeren MS besin ortamında elde etmişlerdir.

*Muscari* türleri ile dünyada sınırlı sayıda doku kültürü çalışması vardır. Saniewski ve Puchalski (1987) düşük konsantrasyonlu Jasmonik acitin *Muscari italika* türlerinde büyümeyi geciktirdiği, buna karşılık yüksek konsantrasyonlardaki BAP'ın soğan büyüklüğünü artırdığı belirlenmiştir. Kromer ve Kukulczanka (1992), *M.botryoides*'de yaptığı çalışmada, rejenerasyon ve soğan sayısı bakımından en iyi besin ortamını 0.2-2 mg/l IBA ve 1-2 mg/l BAP kombinasyonu olduğunu ve % 56 rejenerasyon sağladığını bildirmiştir. Suzuki ve Nakano (2001) *Muscari armeniacum*'da 2-4,D, NAA ve pikloram içeren ortamda yüksek oranda kallus oluşumu meydana geldiğini bildirmişlerdir. Büyük, sarımsı ve nodular kallus oluşu 4.5 µM 2-4,D, 54 mM NAA içeren ortamda başlamış, nodular kalluslar 0.44-44 µM IBA içeren ortama transfer edildiğinde, yüksek oranda sürgün oluşumu meydana gelmiştir.

Özel (2008), *M. muscarimi*, *M. macrocarpum*, *M. neglectum* ve *M. adilii* türlerinin *in vitro* çoğaltımı için yaptığı çalışmada, *M. muscarimi*'de en fazla soğan 19 adet ile 4 mg/l BAP ve 2 mg/l NAA içeren MS ortamında, *M. macrocarpum*'da en fazla soğan eksplant başına 6 adetle 2 mg/l KIN ve 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında, *M. neglectum*'da en fazla soğan 8,25 adetle 0,1 mg/l TDZ ve 2 mg/l NAA içeren MS ortamında, *M. adilii*'de ise, en çok soğan 15,75 adet ile 4 mg/l BAP ve 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde etmiştir. Görüldüğü gibi, BAP ve KIN ile diğer oksin kaynaklarının oluşturulan kombinasyonlarda pul yapraklardan yüksek oranda soğancık oluşumunun meydana geldiği pek çok çalışmada rapor edilirken, bu çalışmada da paralel sonuçlar elde edilmiştir.

Genel olarak bakıldığında her iki türde de pul yaprakları, olgunlaşmamış embriyolardan daha kısa sürede ve daha yüksek frekansta soğnacık ürettiği görülmüştür. Bitkilerde rejenerasyon kabiliyeti genotip ile yakından ilişkilidir. Ewing vd (1985) ve Shimamoto vd (1989) doku

kültüründe kullanılan eksplant ile genotipin adventif sürgün rejenerasyonu üzerinde büyük bir varyasyon meydana getirebileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, *M. aucheri* 'de doku kültürü teknikleriyle bu türler üzerinde yapılan *in vitro* hızlı çoğaltım çalışmaları yapılarak ve olgunlaşmamış embriyolar ve soğan pul yaprakları kullanılarak yüksek frekansta *in vitro* soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar daha sonra köklendirilerek aklimatize edilmiş, tarla şartlarına aktarılmaya başlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, endemik ve tehlike altında bulunan ve süs bitkisi potansiyeli olan *M. aucheri* türü için son derece önemlidir.

## KAYNAKLAR

Allan, A., 1991. Plant cell culture In: Stafford A, Warren G (eds) Plant cell and tissue culture. Open University Press, Milton Keynes, UK

Anonim, 2009. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Kayıtları.

Anonim, 2009. Türkiye süs bitkileri ihracat raporu. T.C Başbakanlığı Dış Ticaret Müs. Antalya İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği S-1-8.

Arslan, N., Gürbüz, B., Özcan, S., Koyuncu, M., Gümüşçü, A., Mirici, S., Parmaksız, İ., 2002. *Stenbergia candida* ve *Stenbergia fischeriana* Türlerinin Kültüre Alınması ve Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. TUBİTAK projesi. Proje No: Tarp-2182.

Arslan, N., Gürbüz B., Özcan S., Mirici S., Gümüşçü A., Parmaksız İ . Temmuz-2003. *Sternbergia candida* ve *Sternbergia fischeriana* türlerinin kültüre alınması ve çoğaltılması üzerine araştırmalar. Proje No: TOGTAG- 1843. Ankara.

Ault, J.R. 1995. *In Vitro* Propagation of *Eucomis autumnalis*, *E. comosa*, and *E. zambesiaca* by Twin-scaling. *Hort. Sci.* 30; 1441-1442.

Ayabe, M., Sumi, S. 1998. Establishment of a novel tissue culture method, stem-disc culture, and its practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.), *Plant Cell Pep.* 17; 773-779.

Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., 2001. Bitki Biyoteknolojisi I. *Doku Kültürü Uygulamaları*. Ders Kitabı, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.

- Baktır, İ ., Uysal, S., ve Özel, S. 2003. Doku kültürü yöntemi ile Miszambak (*Lilium candidum* L.) yetiştiriciliği Üzerine bir araştırma. Türkiye IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 08-12 Eylül, Antalya.
- Bhagyalakshmi, N. 1999. Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron, *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 58; 205-211.
- Chu, C.C., Wang, C.C., Sun, C.S., Hsu, C., Yin, K.C., Chu, C.Y., Bi, F.Y., 1975. Establishment of an Efficient Medium for Anther Culture of Rice through Comparative Experiments on The Nitrogen Sources. *Sci. Sin.*, 18; 659-668.
- Cuming, B. G. Peck, D.E. 1984. Tissue Culture of Grape Hyacinth. *HortScience*. 19, 723-724 .
- Davis, P.H. ( edit.) 1984, 1988. Flora of Turkey. Vol 8 and 10 . Edinburg
- Düzgüneş, O., Kesici T., Gürbüz, F., 1983. İstatistik Metotları 1. A.Ü. Zir.Fak. Yay. No: 862, Ankara.
- Ewing, E., Higgins, A., Simpson J., 1985. Cutting as Simplified Models of the Potato Plant. In Li. P.H. Ed.) *Potato Physiology*. Academic Press. Orlando. pp: 153-207.
- Günaydın, S. 2004. *Sternbergia clusiana* (Ker-Gawl) bitkisinin Ker Gawl *in vitro* koşullarında hızlı çoğaltımı. Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C., 2000. Flora of Turkey (Supplement II), Vol.11, Edinburgh. Pp: 656.



- Johnson, K.A., Burchett, M. 1991. *In vitro*-propagation of *blanfordia-grandiflora* (Liliaceae). *J. Hort.Sci.*, 66(4); 389-394.
- Khawar, K.M., Çöçü, S., Parmaksız, I., Sarihan, E. O., Sancak, C., Ozcan, S. 2005. Mass proliferation of Madona Lilly (*Lillium candidum* L.) under *in vitro* conditions. *Pak. J.Bot.*, 37(2); 243-248.
- Kromer, K. 1989. The effect of light conditions on regeneration and level of endogenous growth regulators in *Muscari racemosum* L. Mill. Bulb-scale sections cultured *in vitro*. *Acta Hort. (ISHS)* 251; 173-182.
- 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.
- Mathew, B., Baytop, T., 1984. *The Bulbous Plants of Turkey*. London.
- Melanie, R.U., Fred, T.D.J., Young, C.K., Sharon, A.D., Jonatton, N.E. 1999. Micropropagation of *Crinum* 'Ellen Bosanquet' by tri-scales. *Sci. Hortic.*, 82; 95-102.
- Mirici, S., Parmaksız, İ., Özcan, S., Sancak, C., Uranbey, S., Sarihan, E.O., Gümüşcü, A., Gürbüz, B., Arslan, N. 2005. Large Scale *in vitro* Bulblet Production from Immature Embryos of Endangered *Sternbergia fischeriana*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 80; 239-246.

- Moran, G.P., Colque, R., Vilodomat, F., Bastid, 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 bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15; 473-497.
- Nasırcılar, A.G., Karagüzel, Ö. 2006. *Galanthus elwesii* Hook. f. bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarından *in vitro* soğan üretimi. *Akdeniz Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 19 (2); 159-164.
- Nayak, N.R., Patnaik, S., Rath, S.P. 1997. Direct shoot regeneration from foliar explants of an epiphytic orchid, *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and McCann, *Plant Cell Rep.* 16; 583-586.
- Nhut, D.T. 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo-bulblet culture. *Plant Cell Rep.* 17; 913-916.
- Özcan, S. 2002. Effect of Different Genotypes and Auxins on Efficient Somatic Embryogenesis from Immature Zygotic Embryo Explants of Maize. *Biotechnology & Biotechnological Equip.*, 16 (2), 51-57.
- Özcan, S., Özgen, M. 1996. Bitki Genetik Mühendisliği. *Kökem Dergisi.* 1; 69-95.
- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S., Draper, J. 1993 Efficient Adventitious Shoot Regeneration and Somatic Embryogenesis in Pea. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cul.*, 34; 271-277.

- Özel, A. Ç. 2008. Farklı *Muscari* Türlerinde *In Vitro* Soğancık Üretimi. Gazi Üniversitesi Fen Bilim. Ens. Doklora Tezi. S.1-181.
- Özel, C.A. Khawar, K.M. 2007.*In vitro* bulblet regeneration potential of *Ornithogalum oligophyllum* E. D. Clarke using twin scale bulb explants. Prop. Ornamental Plants. 2; 82-88.
- Özhatay, N. 2003. Bir Renk Masalı. *Skylife Dergisi*, Mayıs Sayısı, 1-5.
- Parmaksız, İ., Çöçü, S., Uranbey, S., Mirici, S., Özcan S, Sancak, C., Sarıhan, EÖ., İpek, A., Kaya, MD., Arslan, N. 2005. Tehlike altındaki endemik *Muscari muscarimi* türünde olgunlaşmamış embriyolardan *in vitro* hızlı soğancık üretimi. 14. Biyoteknoloji Kongresi. 31 Ağustos- 2 Eylül Eskişehir.
- Sancak, C., Mirici, S., Özcan, S. 2000. High Frequency Shoot Regeneration from Immature Embryo Explants of Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Crantz). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 61; 231-235.
- Saniewski, M., Puchalski, J. 1987.The Effect of Methyl Jasmonate and Abscisic Acid on Differentiation of Benzyladenine Induced Bulblets in *Muscari* Bulbs.*Biologia Plantarum*. 29; 63-65.
- Saniewski, M., Pytlewski, C. 1979.Regeneration of Plantlets on Leaves and Inflorescence Stalk of *Muscari* through Tissue Culture.*Bulletin De L' Academie Polonaise des Sciences*. 27; 519-521.

- Sevimay, C.S., Khawar, K.M., Parmaksiz. I., Cocu, S., Sancak, C., Sarihan, E.O. Ozcan, S. 2005. Prolitic *in vitro* bulblet formation from bulb scales of Meadow Lily (*Lillium candidum* L.). *Proid. Biologurum*. 107 (1); 107-111.
- Shimamoto, K., Terada, R., Izawa, T., Fujimoto, H., 1989. Fertile Transgenic Plants Regenerated from Transformed Protoplasts. *Nature*, 338; 274-276.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G., 1967. *Statistical Methods*. The Iowa State University.
- Suzuki, S., Nakano, M. 2001a. Organogenesis and Somatic Embryogenesis from Callus Cultures in *Muscari armeniacum* Leicht.ex Bak. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 37;382-387.
- Suzuki, S., Nakano, M. 2001b. *Agrobacterium*-mediated Production of Transgenic Plants of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak., *Plant Cell Rep.*, 44; 232-240.
- Tırdamaz, R., Ellialtıoğlu Ő, akırlar H. 1999. Kardelenin (*Galanthus ikariae* Baker.) doku kültürü yoluyla çoğaltımı: eksplant tipi, ortam pH'sı ve karbonhidrat kaynağının soğancık oluşumuna etkisi. *Tr. J. Agriculture and Forestry* 23 Ek sayı 4; 823-830.
- Türkiye süs bitkileri ihracat raporu 2009. T.C Başbakanlığı Dış Ticaret Ms. Antalya İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği S-1-8.
- Tymoszuk, J., Saniewski, M., Rudnicki, R.M. 1979. A possible use of the infiltration method for application of growth regulators in to bulbs. *Acta Hort. (ISHS)* 91;179-184.

Ulrich, MR, Jr. Davies FT, Koh YC, Duray SA, Egilla JN. 1999. Micropropagation of *Crinum* 'Ellen Bosanquet ' by tri-scales. *Scienta Horticulturae*. 82; 95-102.

Uranbey vd 2009. Endemik ve tehlike altında bulunan *Muscari azureum* ve *Muscari aucheri*'nin kültüre alınması ve *In Vitro* Hızlı Çoğaltımı. Tübitak sonuç raporu (106 0 034) (Basılmamış).

Vasil, V., Srivastava, V., Castillo, A.M., Fromm, M.E., Vasil I.K. 1993. Rapid Production of Transgenic Wheat Plants by Direct Bombardment of Cultured Immature Embryos. *Biotechnology*. 1553–1558.

Wawrosch, C., Malla, P.R., Kopp, B. 2001. Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, a threatened medicinal plant of Nepal, *Plant Cell Rep.* 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.

[www. pathfastpublishing.com](http://www.pathfastpublishing.com) from Eurstat, USDA & Customs and Excise.

Yıldız, M., Er, C. 2002. The effect of sodium hypochlorite solutions on *in vitro* seedling growth and shoot regeneration of flax (*Linum usitatissimm*). *Naturwissenschaften*, 89;259-261.

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Adı Soyadı** :Parizad ALLAHVERDİKİKHAN VAZİRİ

**Doğum yeri** :Tebriz, İran

**Doğum Tarihi** :11.03.1982

**Medeni Hali** :Bekar

**Yabancı Dili** :İngilizce

**Eğitim Durumu** :

**Lise** :Tohid lisesi

**Lisans** :Tebriz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi

**Yüksek Lisans:** Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü

**Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:**

Tebriz Üniversitesinin yürüttüğü aşağıdaki milli projelerle işbirliği (1999-2000) :

1. Protein markerları ve kantitatif özellikleriyle Korunga popuasyonlarının genetik değişimi.
2. Farklı bitki sıklığının Azerbaycan Korunga populasyonuna etkisi.
3. Yonca ve Korungada cinsler arası melezleme.
- 4.Soya fasulyesi ve Sorgum bitkilerinin ekolojisi
- 5.10 farklı sınırlı sulama şeklinin verim ve verim öğeleri yönünden karşılaştırması.

Biyoloji öğretmenliği (Roşenger ve Maede Liselerinde 2002-2007)

Geoloji öğretmenliği (Roşenger ve Maede Liselerinde 2003-2007)

İngilizce öğretmenliği (Zabansara Dersanesi 2003-2007)

**Yayınlar** :

Kolza çiçek ve meyvelerinin fizyolojik olarak değerlendirilmesi.

Poster ( Biyoteknoloji Enstitüsünün 1. Araştırma ve Kariyer günlerinde)