

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**BAZI YABANI *Tulipa* TÜRLERİNDE *In Vitro*
SOĞANCIK ÜRETİMİ**

**Uzman Biolog
Dilek DOĞAN KALYONCU**

**Danışman Öğretim Üyesi
Prof: Dr. Sebahattin ÖZCAN**

ANKARA

2007

Bazı Yabani *Tulipa* Türlerinde *In Vitro* Soğancık Üretimi

ÖZET

Türkiye’de yaklaşık 10.014 adet civarında bitki türü bulunmakta olup bunlardan 3.000 kadarı da endemiktir. Bu tür zenginliği içinde yer alan ve ihraç edilen geofit (soğanlı-yumrulu) bitkilerinin yeri büyüktür. *Liliaceae* familyasında bulunan bir geofit olan *Tulipa* (lale) ise gösterişli çiçekleri sebebiyle süs bitkisi olarak tarihten günümüze kadar artan bir ilgiye sahiptir. Geofitlerin düşük üretim hızları, kültüre alınarak geniş alanlarda üretilmelerinin önündeki en büyük engeli teşkil etmektedir. Bu çalışmada öncelikli olarak Türkiye’de doğal olarak yetişen gösterişli çiçeklerinden dolayı süs bitkisi olarak önemli bir potansiyele sahip endemik *Tulipa sintenisii* Baker ve *Tulipa armena*’nın olgunlaşmamış embriyolarından ilk kez *in vitro* soğancık üretimi yapılmıştır. Olgunlaşmamış embriyolar farklı oranlarda oksin ve sitokinin içeren MS (tek aşamalı protokol) ve N₆ (4 aşamalı protokol) besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 16 ay sonra 4 aşamalı protokolda *T. sintenisii* türünde eksplant başına ortalama 22.67 adet, *T. armena*’da ise 16.42 adet soğancık üretimi gerçekleşmiştir. *T. sintenesii* türünde tek aşamalı protokol kullanılarak ise 27.10 adet soğancık elde edilebilmiştir. Ayrıca *T. humulis* ve *T. karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*)’da soğan pul yapraklarında *in vitro* çoğaltım denenmiş, enfeksiyon sorunu çözülememiştir. Bu çalışma sonucunda *Tulipa sintenisii* ve *Tulipa armena* türlerinde olgunlaşmamış embriyonun *in vitro* çoğaltım için en uygun eksplant olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: (1) *Tulipa* (2) geofit (3) mikroçoğaltım (4) olgunlaşmamış embriyo(5) soğancık

***In Vitro* Bulblet Production In Some Wild *Tulipa* Species**

ABSTRACT

There are nearly 10.014 plant species in Turkey and about 3000 of these species are endemic. Beautiful flowering bulbous (geophytes) plants form an important part of this rich biodiversity. *Tulipa* belongs to *Liliaceae* family and their importance is constantly on increase with the passage of time. Low propagation rate inhibits large-scale cultivation of flowerbulbs. The present study is the first report for *in vitro* bulblet production from immature embryos of endemic *Tulipa sintenisii* Baker and *Tulipa armena* which have great potential as ornamental plants because of their attractive and beautiful flowers. Immature embriyos were cultured on MS (one step protocol) and N₆ (4 step protocol) medium supplemented with different auxins and cytokinins. High number of bulblets regeneration in *T. sintenisii* with 22.67 and *T. armena* with 16.42 bulblets per explant was recorded after 16 months using 4 step culture. However prolific bulblet regeneration in *T. sintenesii* was obtained from one step culture (27.10 bulblets/explant). *T. humulis* and *T. karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) were tried to be propagated with bulb scale explants, but contamination could not be eliminated. In present study immature embryos were found to be the best explant for micropropagation in *Tulipa sintenisii* and *Tulipa armena* species.

Keywords: Key words: (1) *Tulipa* (2) geophytes (3) micropropagation, (4) immature embryo (5) bulblets

TEŞEKKÜR

Bazı Yabani *Tulipa* Türlerinde *In vitro* Soğancık Üretimi ve Tarla Şartlarına Adaptasyonu amacına yönelik olarak gerçekleştirilen bu çalışma, TÜBİTAK tarafından 105 O 242. No'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Bana araştırma olanağı sağlayan ve çalışmanın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren danışman hocam, Sayın Prof.Dr. Sebahattin ÖZCAN ile TİK üyeleri Prof.Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU ve Prof. Dr. Cengiz SANCAK'a, materyal temininde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Neşet ASLAN ve Dr. Arif İPEK'e arkadaşlarıma ve eşim Hüseyin Cevahir KALYONCU'ya teşekkür ederim.

Dilek DOĞAN KALYONCU

Ankara, Kasım 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1 Besin Ortamı ve Kültür Koşulları.....	20
3.2.1.1. Soğan pul yaprakları kültüründe kullanılan ortamlar.....	21
3.2.1.2. Olgunlaşmamış embriyoların kültüründe kullanılan besin ortamı.....	22
3.2.2. Doku Kültürü Tekniğinin Yapılışı.....	23
3.2.2.1. Soğan pul yapraklarının kültürü.....	23
3.2.2.2. Olgunlaşmamış embriyoların kültürü.....	23
3.2.3. Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organları Kültürü.....	24
3.2.3.1. Yaprak ve yaprak sapı kültürü.....	24
3.2.3.2. Çiçek ve çiçek organları kültürü.....	25
3.2.4. Tohumların <i>in vitro</i> çimlendirilmesi.....	26
3.2.5. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültürü (2006 yılı denemeleri).....	26
3.2.6. Köklendirme çalışmaları.....	27
3.2.7. <i>In vitro</i> 'da üretilen soğancıkların dış koşullara alıştırılması.....	28
3.2.8. İstatistik analizler.....	28

4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	29
4.1. <i>Tulipa sintenisii</i> ve <i>Tulipa armena</i> 'da 2005 yılında yapılan çalışmalar.....	29
4.1.1. <i>Tulipa sintenisii</i> nin olgunlaşmamış embriyoların kültürü.....	29
4.1.2. <i>Tulipa armena</i> 'da olgunlaşmamış embriyoların kültürü.....	38
4.1.3 <i>Tulipa sintenisii</i> 'de tek aşamalı 2. protokol ile soğancık üretimi.....	48
4.1.4. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de süspansiyon kültürü denemesi.....	55
4.2. 2006 Yılında Yapılan Çalışmalar.....	56
4.2.1. Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organları Kültürü.....	56
4.2.2. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de olgunlaşmamış embriyo kültürü.....	58
4.2.3. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de Olgunlaşmış Embriyo Kültürü.....	64
4.2.4. <i>Tulipa sintenisii</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesi.....	67
4.3. Soğan Pul Yapraklarının Kültürü.....	68
4.3.1. <i>Tulipa karamanica</i> (= <i>Tulipa cinnabarina</i>) 'da soğan pul yapraklarının kültürü.....	68
4.3.2. <i>Tulipa humulis</i> 'de soğan pul yapraklarının kültürü.....	69
4.3.3. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de soğan pul yapraklarının kültürü.....	71
4.4. Köklendirme Çalışmaları.....	72
4.5. <i>In vitro</i> 'da üretilen soğancıkların dış koşullara alıştırılması.....	77
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	78
5.1. Olgunlaşmamış Embriyolardan Soğancık Oluşumu.....	78
5.2. Soğan Pul Yapraklarından Soğancık Oluşumu.....	81
5.3. Yaprak, yaprak sapı, Çiçek ve Çiçek Organları Kültürü.....	82
5.4. <i>Tulipa sintenisii</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesi.....	83
5.5. Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma.....	83
5.6. Sonuç.....	84
KAYNAKLAR.....	85
ÖZGEÇMİŞ.....	90

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BAP	6 Benzilaminopürin
4-CPA	p-klorofenoksi asetik asit
Dikamba	3,6-Dikloro-2-methoksibenzoik asit
g, mg, µg	gram, milligram, mikrogram
IBA	İndol Butirik Asit
IAA	İndol 3 Asetik Asit
KNA	Naftalen asetik asitin potasyum tuzu
K.O.	Kareler Ortalama
l, ml, µl	litre, milli litre, mikro litre
M	Molar
mm	millimetre
MS	Murashige ve Skoog Besin Ortamı
NAA	Naftalen Asetik Asit
Ort.	ortalama
Pikloram	4-amino-3,5,6-trikloro pikolinik asit
PPM	PPM (Plant Preservative Mixture)
SOO	Soğancık Olgunlaştırma ortamı
SGO	Soğancık Geliştirme Ortamı
S.D.	Serbestlik Derecesi
TDZ	Thidiazuran (1 fenil-3-(1,2,3-thidiazol -5-yl) üre)
V.K.	Varyasyon Kaynakları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Taşkent-Sarıveliler yöresinde doğal yetişme alanlarında gelişen <i>T. karamanica</i> bitkileri.....	18
Şekil 3.2 A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen <i>Tulipa sintenisii</i>	18
Şekil 3.3 A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen <i>Tulipa humulis</i> bitkileri.....	19
Şekil 3.4. Ankara Yakacıkta doğal yetişme ortamında <i>Tulipa armena var. lycica</i>	19
Şekil 4.1. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 1 ay sonra 1 mg/l pikloram içeren ortamda embriyodaki ilk gelişim(aydınlık muamele).....	30
Şekil 4.2. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 5 ay sonra 0.5 mg/l pikloram içeren ortamda sürgün gelişimi(aydınlık muamele).....	31
Şekil:4.3. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 14 ay sonra 2 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık oluşumu (karanlık muamele).....	31
Şekil 4.4. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra 6 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık oluşumu (karanlık muamele).....	38
Şekil 4.5. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 2 ay sonra 1 mg/l pikloram içeren ortamda embriyodaki ilk gelişim (karanlık muamele).....	41
Şekil 4.6. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 5 ay sonra 1mg/l 2-4 D içeren ortamda embriyodaki sürgün gelişim.....	41
Şekil 4.7. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 14 ay sonra 1mg/l 2-4 D içeren ortamda embriyodaki soğancık oluşumu (karanlık muamele).....	45
Şekil 4.8. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 14 ay sonra 1mg/l pikloram içeren ortamda soğancık gelişimi (aydınlık muamele).....	45
Şekil 4.9. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 16 ay sonra 2 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık gelişimi (karanlık muamele).....	46
Şekil 4.10. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 5 ay sonra 4 mg/l BAP,ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün gelişimi.....	49
Şekil 4.11. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 9 ay sonra 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün gelişimi.....	51
Şekil 4.12. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 14 ay sonra sürgün gelişimi 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında.....	52

Şekil 4.13. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğancık ve sürgün oluşumu.....	54
Şekil 4.14. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra 4 mg/l BAP 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu.....	54
Şekil 4.15. <i>Tulipa sintenisii</i> ' ye ait 2 mg/l pikloram içeren ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantından 3 ayda gelişen kalluslar.....	55
Şekil 4.16. <i>Tulipa sintenisii</i> ' süspansiyon kültürü.....	56
Şekil.4.17. <i>T. sintenesii</i> de 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında çiçek sapı kültürü.....	57
Şekil4.18. <i>T. sintenesii</i> 'de 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında pistil kültürü.....	57
Şekil 4.19. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 8 ay sonra B5 vit, 4 mg/l BAP 1 mg/l NAA, 30g/l sukroz içeren MS besin ortamında sürgün, soğancık ve stolon oluşumu.....	59
Şekil 4.20. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 8 ay sonra 0,1 mg/l Kinetin, 0.5 mg/l 2.4-D, % 0.75 PEG (4000), 30g/l sukroz içeren MS besin ortamında sürgün, soğancık ve stolon oluşumu.....	59
Şekil 4.21. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 12 ay sonra 0.1 mg/l Kinetin 0.5 mg/l 2.4-D, % 0.75 PEG (4000), 30g/l sukroz içeren MS besin ortamında sürgün ve soğancık oluşumu.....	63
Şekil 4.22. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 12 ay sonra 2 mg/l Dikamba, 60 mg/l sukroz içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu.....	63
Şekil 4.23. <i>Tulipa sintenisii</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesi.....	67
Şekil 4.24. <i>Tulipa karamanica</i> (= <i>Tulipa cinnabarina</i>)'da kültür başlangıcından 8 ay sonra 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l KNA içeren MS besin ortamında soğan pul yaprağından sürgün gelişimi.....	69
Şekil 4.25. <i>Tulipa humulis</i> 'te kültür başlangıcından 1 hafta sonra gözlenen bulaşıklık.....	70
Şekil 4.26. <i>Tulipa humulis</i> 'te kültür başlangıcından 12 ay sonra 2 mg/l Zeatin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğan pul yaprağından sürgün ve soğancık oluşumu.....	71

Şekil 4.27. <i>Tulip sintenesii</i> 'de 1 mg/l IBA içeren 1/2 MS besin ortamında köklenen soğancıklar.....	74
Şekil 4.28. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında köklenen soğancıklar.....	74
Şekil 4.29. <i>Tulipa armena</i> 'da 0.5 mg/l NAA içeren ½ MS besin ortamında köklenen soğancıklar.....	76
Şekil 4.30. <i>Tulipa armena</i> 'da 0.5 mg/l IBA içeren 1/8 MS besin ortamında köklenen soğancıklar.....	76
Şekil 4.31. <i>Tulipa sintenisii</i> 'ye ait soğancığın dış koşullara alıştırılması.....	77
Şekil 4.32. . Saksıya aktarılan <i>Tulipa sintenisii</i> soğancıklarında yeni kök gelişimi.....	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan besin ortamlarının içeriği (mg/l).....	21
Çizelge 3.2 Kullanılan büyüme düzenleyici ve kimyasalların çözücüleri ve saklama koşulları.....	22
Çizelge 4.1. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının sürgün oluşum oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	30
Çizelge 4.2. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	32
Çizelge 4.3. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	33
Çizelge 4.4. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisini.....	33
Çizelge 4.5. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi.....	34
Çizelge 4.6. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi.....	35
Çizelge 4.7. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi.....	36
Çizelge 4.8. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi.....	37

Çizelge 4.9. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	39
Çizelge 4.10. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının sürgün oluşum yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	40
Çizelge 4.11. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	42
Çizelge 4.12. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	42
Çizelge 4.13. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi.....	43
Çizelge 4.14. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi.....	44
Çizelge 4.15. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi.....	46
Çizelge 4.16. <i>Tulipa armena</i> 'da kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi.....	47
Çizelge 4.17. <i>Tulipa sintensis</i> 'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında BAP ve NAA içeren ortamlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	48
Çizelge 4.18. <i>Tulipa sintensis</i> 'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1mg/l NAA içeren ortamlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	49
Çizelge 4.19. <i>Tulipa sintensis</i> 'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	50

Çizelge 4.20. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	50
Çizelge 4.21. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	51
Çizelge 4.22. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	52
Çizelge 4.23. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi.....	53
Çizelge 4.24. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamların eksplant başinasürgün ve soğancık sayısına etkisi.....	53
Çizelge 4.25. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan ekplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi.....	58
Çizelge 4.26. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşum yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	60
Çizelge 4.27. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 12 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamlarla birlikte JA ve NAA'in eksplant başına sürgün sayısı ve eksplant başına soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi.....	61
Çizelge 4.28. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de kültür başlangıcından 12 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamlarla birlikte JA ve NAA'in eksplant başına sürgün sayısı ve eksplant başına soğancık sayısına etkisi.....	62
Çizelge 4.29. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de olgunlaşmış embriyoda kültür başlangıcından 8 ay sonra farklı ortamların sürgün oluşturan ekplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi.....	64

Çizelge 4.30. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de olgunlaşmış embriyoda kültür başlangıcından 8 ay sonra farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi.....	65
Çizelge 4.31. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de olgunlaşmış embriyoda kültür başlangıcından 12 ay sonra farklı ortamların eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ait varyans analizi.....	66
Çizelge 4.32. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de olgunlaşmış embriyoda kültür başlangıcından 12 ay sonra farklı ortamların eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi.....	66
Çizelge 4.33. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de farklı MS konsanstrasyonları, IBA ve NAA'ın köklenme üzerine etkisine ait varyans analizi.....	72
Çizelge 4.34. <i>Tulipa sintenisii</i> 'de farklı MS konsanstrasyonları, IBA ve NAA'ın köklenme üzerine etkisine.....	73
Çizelge 4.35. <i>Tulipa armena</i> 'da farklı MS konsanstrasyonları, IBA ve NAA'ın köklenme üzerine etkisine ait varyans analizi.....	75
Çizelge 4.36. <i>Tulipa armena</i> 'da farklı MS konsanstrasyonları, IBA ve NAA'ın köklenme üzerine etkisi.....	75

1. GİRİŞ

Türkiye; gerek farklı iklimlere sahip olması gerekse üç floristik bölgenin kesişme noktasında bulunması sebebiyle bitki türlerinin çokluğu bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Ülkemiz Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerin kesiştiği bir konumdadır. Anadolu'nun büyük yükseklik farklarına, zengin su kaynaklarına orman, bozkır, bataklık- sulak alan, kumul gibi çok farklı habitatlara sahip olması bu çeşitliliğin artmasında önemli rol oynamıştır. Bunun sonucu olarak en son yapılan çalışmalara göre ülkemizde yaklaşık üçte biri endemik olmak üzere toplam 10.014 adet bitki taksonu (tür, alttür, varyete vb.) bulunmaktadır (Güner vd 2000). Yılın büyük bir kısmını toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi organları ile geçiren ve geofit adı verilen soğanlı-yumrulu bitkilerde bu bitki çeşitliliğinin önemli bir kısmını oluştururlar. Son derlemelere göre ülkemizde 688 adet geofit bulunmakta olup (Özhatay vd 2003) ve ülkemiz florasının % 6'dan fazlasını teşkil etmektedir. Bu yüzden olsa gerek, bazı yabancı kaynaklarda Anadolu, geofitlerin anavatanı olarak adlandırılmaktadır (Schacht 1955).

Toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi organları bulunan ve bunlarda çeşitli maddeleri depo eden, aynı zamanda güzel ve gösterişli çiçekleri olan otsu bitkiler olarak tanımlanabilecek geofitler; gerek içerdikleri kimyasal bileşikler, gerekse gösterişli çiçekleri nedeniyle yüzyıllardan beri doğada yetiştikleri yerlerden sökülerek iç ve dış piyasaya sunulmaktadır. Özellikle ihracat yoluyla yıllar içerisinde artan talebi karşılama için yapılan sökümler, bu değerli bitki türlerinin doğadaki stoklarını azaltmış ve birçoğunda neslinin tehlike altına girmesine neden olmuştur. Doğal çiçek soğanlarının sökümü, bu nedenle yasalarla kontrol altına alınmış, birçok türde ihracat yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır.

Geofitler yabancıların ilgisini çekmiş; ilk önce İstanbul bahçelerini süslemek amacı ile doğadan toplanan bazı soğanlı bitkiler Avrupa'ya götürülmüştür (Mathew ve Baytop 1984). Sonraki yıllarda bu iş düzenli bir ticarete dönüştürülmüş ve günümüze kadar devam etmiştir. Bunların miktar ve sayıları yıllara göre önemli değişimler göstermiştir. Bir

tebliğde ihracatı yapılan geofit sayısını 25 cins ve 62 tür olarak verilmiştir (Demiriz 1987). Eski ihracat katalogları ve endemik olmasına rağmen bugün bazı türlerin Avrupa pazarlarında satılması bunu doğrulamaktadır. Ancak, 1974-1989 arasında yönetmeliksiz, 1989'dan sonra ise çıkarılan bir yönetmelikle yapılan düzenlemelerle çok önemli gelişmeler sağlanmış, bugün ihraç edilen doğal çiçek soğanları 14 cins ve 18 tür ile sınırlandırılmıştır. Geofitlerin çok büyük bir kısmı *Liliaceae*, *Iridaceae* ve *Amaryllidaceae* familyalarına dahildir. Geofitlerin her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahiptir. *Liliaceae* familyasında bulunan diğer bir geofit olan *Tulipa* (lale) ise gösterişli çiçekleri sebebiyle süs bitkisi olarak tarihten günümüze kadar artan bir ilgiye sahiptir. Doğal florada *Tulipa* Doğu ve Merkezi Asya ile Japonya, Kuzey Afrika ve Avrupa'da yayılış gösterir.. Hollanda ile beraber anılmasına rağmen orjini ülkemiz olup, lale soğanları Avrupa'ya Türkiye'den gitmiştir.

Lale, adını Farsça "Toliban: turban" sözcüğünden almış soğanlı bitkidir. *Tulipa* cinsi monokotiledondur. Zambakgiller (*Liliaceae*) ailesinden olup, genellikle 2-8 yapraklı olan laleler 10-30 cm boylarında olup uzun bir sap üstünde yer alan çanak şeklindeki çiçekleri, Mart-Mayıs arasında açmaktadır. Yaprakları etlidir. Çiçek sap ucunda çoğunlukla bir, bazen iki adettir. Çiçek örtüsü 6 parçalı ve serbest olup sarı, kırmızı veya beyaz ve ara tonlardadır. Her bir parçanın dip kısmında genellikle koyu renkli olan bir leke bulunmaktadır. Ancak kültüre alınan varyeteleri hemen hemen her renkte ve çeşitli desenlerde olabilmektedir. Erkek organları koyu renkli ve 6 adettir. Soğan üzerindeki kabuk, derimsi ya da zar biçimdedir. Kabuğun iç kısmı sık ya da seyrek tüylü veya çıplaktır. Yüzlerce çeşidi vardır. Kesme çiçekçilikte, saksı bitkisi ve dış mekan bitkisi olarak kullanılmaktadır. Asıl orijini Merkezi Asyadır. Tien Şan ve Pamir-Alai'den, Kuzey ve Kuzeydoğu Asya'ya (Siberya, Mogolistan ve Çin), güneyde Kaşmir ve Hindistan, batıda Afganistan, İran ve Türkiye'ye kadar geniş bir yayılış gösterir. 125 tür içerdiği halde, fakat çok az sayıda türü ticari olarak üretilir. Türler iki alt gruba (kısmı) ayrılır. Eriostemones ve Leiostrimonos. Eriostemones: 30 tür içerir. Zayıf gelişirler, dar yapraklara sahiptirler. Günümüz bahçe laleleri ise Leiostrimonos grubuna aittir. Bu türler 16. yüzyılda Türkiye'den Avrupa'ya götürülmüş ve tanıtılmışlardır. 11. yüzyılda Selçuklular tarafından yetiştirilen lale, Osmanlı İmparatorluğu döneminde özellikle 16-18. yüzyıllar arasında süs bitkisi ve süsleme motifi olarak büyük önem kazanmıştır. Laleye gösterilen ilgiden dolayı 1718-1730 yılları arasındaki döneme Lale Devri adı verilmiştir. Bu dönemde yabancı lale türlerinden seçme ve melezleme yoluyla

İstanbul'da elde edilen lale varyetelerinin sayısı 2.000'i bulmuştur ve o yıllarda "Mahbup" adı verilen bir lale soğanının 500 altına satıldığı ifade edilmiştir.

Türkiye'de lalenin yabani olarak yetişen 14 türü bulunmaktadır. Bu türlerden parlak kırmızı renkli *Tulipa armena* ve *T. julia*'nın orijinin Anadolu olduğu kabul edilmektedir. Bu iki tür özellikle Erzurum, Tortum, Hoşap ve Van çevresinde doğal olarak yayılış göstermektedir. Lalelerin doğal yetişme ortamları her zaman dağlık bölgelerdir. Özellikle yüksek rakımlarda yetişen laleler, kışı karın altında geçirerek aşırı soğuklardan kendilerini korumaktadırlar. Ancak Hollanda'da yapılan melezleme çalışmaları sonucunda bugün sayıları 5.500'ü aşan lalelerin kültür varyeteleri hemen her türlü ortamda yetişebilmektedir. Bugün Hollanda topraklarının yaklaşık dörtte birinde lale yetiştirilmektedir. Bu büyük miktarda üretim sonucunda her yıl yaklaşık 3 milyar lale soğanı üretilmekte ve bunun 2 milyarı diğer ülkelere ihraç edilmektedir. Hollanda lalelerini alan ülkelerin başında A.B.D, Japonya ve Almanya gelmektedir. Ülkemizde ise doğal alanların tahrip edilmesi sonucunda yabani lale türleri ve bunların soğanlarının sayıları hızla azalmıştır. Laleyi dünyaya tanıtan bir ulus olarak, onların doğal ırklarını koruyup gelecek nesillerin de onları tanımalarını sağlamamız gerekmektedir.

Üretilen yeni melez türlerde; yeni renk tonları, yeni formlar, farklı çiçeklenme periyotları daha dayanıklı ve uzun süreli çiçek açabilecek özellikler geliştirilmektedir. Ancak ticari olarak piyasada bulunan müdahale edilmemiş türlerde ise en doğal halleri ile üretilmeye çalışılmaktadır. Melez türlerdeki diğer bir özellik de ticari kaygılardan ötürü soğanların daha sonraki yıllardaki çoğalma özelliğinin engellenmesidir. Lale soğanları yumrulama şeklinde çoğalmaktadır.

Ülkemizin doğal bitki örtüsü de lale türleri açısından oldukça zengindir. *Tulipa humulis* Herbert, Adana, Hakkari, İçel, Konya, Van'da yayılış göstermektedir. Çiçekleri leylak ve pembemsi-leylak veya sarı lekeli pembe mor veya mavi-mor renktedir. Kayalık kireçli alanlarda volkanik eğimlerde, dağ steplerinde, *Abies*, *Juniperus* ormanlarında 1150-3400 metrede yetişir. *Tulipa armena* Amasya, Uşak, Konya, Kayseri, Muş, Bitlis, Van, Antalya, Isparta, Muğla ve İçel, Hatay, da yayılış göstermektedir ve endemiktir. Halk arasında bölgesel olarak Halep lalesi, Türk lalesi, Bodur lale, Çoban lalesi, Amasya lalesi, Trakya lalesi (Baytop 1997) olarak bilinir. Çiçekleri koyu kırmızı veya kırmızı, sarı ya da açık pembemsidir. Kayalık eğimlerde, bataklıklarda 1000 -2700 metrede yetişir. Endemik *Tulipa*

türlerinden olan *Tulipa sintenisii* Baker, Erzurum, Kayseri, Muş, Ağrı, Maraş, Gaziantep, Siirt, Hakkari ve Konya'da yayılış göstermekte olup Muş lalesi olarak anılır. Kırmızı çiçek açar. Endemik tür olan *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*), Karaman'ın Sarıveliler ilçesinde doğal florada yetişmektedir. Kırmızı ve pembe renkte çiçek açar.

Gösterişli çiçeklerinden dolayı *Tulipa humulis* soğanları özellikle Avrupa'da talep görürken, *Tulipa sintenisii*, *Tulipa armena* ve *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) da yine gösterişli çiçeklerinden dolayı süs bitkisi olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Bu türlere ait ıslah çeşitleri de yurt dışındaki bahçe düzenlemelerinde ve süs bitkisi yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yabani *Tulipa* türleri kültür çeşitlerinin geliştirilmesinde kullanıldığı gibi, *Fusarium solgunluğu* etmeni (*Fusarium oxysporum*) ve çeşitli virüslere dayanıklı çeşitlerin elde edilmesinde de önemli bir potansiyele sahiptirler.

Geofitlerin tohumla üretiminde önemli problemlerle karşılaşmaktadır. Tohumun ekiminden ancak 5-6 yıl sonra çiçek oluşturabilecek büyüklükte bitkiler elde edilebilmektedir. Ana soğanlarla üretimde ise her bir soğan 3 yıllık bir dönemde ancak 1-3 yavru soğan üretebilmektedir. *Tulipa* türleri ise ticari olarak tohumla çoğaltılamamakta ve doğal vejetatif çoğaltım yavru soğanlarla olmaktadır. Geofitlerin bu düşük üretim hızları kültüre alınarak geniş alanlarda üretilmelerinin önündeki en büyük engeli teşkil etmektedir. Bundan dolayı geofitlerin kültüre alınabilmeleri için alternatif hızlı çoğaltım tekniklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Son yıllarda *in vitro* teknikler birçok bitkinin mikro üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır.

In vitro mikroçoğaltım, bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip bitki kısımlarından (embriyo, tohum, gövde, sürgün, kök, kallus, tek hücre ya da polen tanesi vb.) yapay besin ortamlarında ve aseptik koşullar altında yeni bitkilerin elde edilmesi olarak tanımlanabilmektedir. Eğer bitkilerin uygun besin maddeleri ihtiyacı, hormon ve kültür istekleri yeterince biliniyorsa, mikroçoğaltım teknikleri kullanılarak tüm bitkilerin üretilmesi mümkündür (Hartman ve Kester 1975). Çoğunlukla üretimde tek-boğum yöntemi, aksiller dallanma, adventif sürgün ya da tomurcukların rejenerasyonu, kallus, hücre ve protoplastlardan bitki rejenerasyonu gibi yöntemler kullanılmaktadır. Mikroçoğaltımın genel olarak bitki yetiştiriciliği ve genetiği yönünden önemi ve avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- a. Hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal elde edilmesi
- b. Kitlesele üretimde,
 - üretilen bitkilerde feneotipik ve genotipik benzerlik (homojenite) sağlanması,
 - alışılğelen yöntemlerden daha kısa kültür süresine sahip olma,
 - zor üretilen türlerin daha kolay üretimi,
 - seçilen belirli/üstün genotiplerin hızlı üretimi,
 - üretimde daha az anaç kullanılması,
- c. Somaklonal varyasyondan dolayı yeni çeşitlerin/genotiplerin elde edilmesi.

Mikroçoğaltımın başarısı eksplantların alındığı anaç bitkinin genotipi, sağlık durumu ve yetişme koşulları (beslenme, ışık, bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanması, yetişme mevsimi) ile doğrudan ilişkilidir. Bu aşama, esas olarak kontaminasyon problemlerinin (özellikle funguslar) en aza indirilmesi amacıyla, eksplant kaynağı bitkilerin hijyenik koşullar altında yetiştirilmesini kapsamaktadır. Fakat endojen ve eksojen bakteriler ayırt edilemediğinden çoğunlukla bakteriyal kontaminasyonla ilgili sorunlar oluşmaktadır. Bu nedenle, eksplantın alınacağı bitkiler kontrollü koşullara sahip seralarda yetiştirilmelidir. Ayrıca soğan, yumru, rizom ve diğer organlar düşük ya da yüksek sıcaklık yanında dormansiyi kırarak özel bir uygulamaya ihtiyaç duyarlar.

Mikroçoğaltımda kullanılan eksplantlar aseptik koşullara konulmadan önce tam anlamıyla steril edilmelidir. Sterilizasyon yöntemleri anaç bitkinin yetiştiği ortamın ve eksplantın alındığı organa göre farklılık göstermektedir. Kullanılacak dezenfektan maddenin cinsi, konsantrasyonu ve uygulama süresi sterilizasyonun başarısını etkilemektedir. Ayrıca bitki dokularının zarar görmemesine dikkat edilmelidir.

Genel olarak başlangıç için kullanılan ortamlar çoğaltım aşamasında da kullanılmakla birlikte, bazı durumlarda değişiklik yapılabilmektedir. Bitki dokularından organ farklılaşmasında oksin ve sitokinler önemli rol oynamaktadır. Sitokin/oksin oranının yüksek olması sürgün oluşumunu, oksin/sitokin oranının yüksek olması kök veya kallus oluşumunu desteklemektedir. Bitkilerin hızlı çoğaltılması onların totipotensi özelliğine bağlıdır. Kallustan sürgün çoğaltılmasının en hızlı yöntem olmasına karşın bitkilerin mikroçoğaltımında bazı çekinceler bulunmaktadır. Bunun en önemli nedeni hücrelerin stabil olmaması ve birçok tür için uygulanamaz olmasıdır. Aksiller tomurcuklar genellikle yaprak

koltuklarında bulunur ve her tomurcuk bir sürgün geliştirme potansiyeline sahiptir. Mikroçoğaltımda, aksiller sürgün oluşumunun artırılması, uygun konsantrasyonda ve tipte bir sitokinin içeren besin ortamında yapılır. *In vitro* şartlarda oluşan sürgünler taze ortamlara aktarılarak yan dal oluşumu ile sürgün çoğaltılması sürdürülür. Böylece bir adet bitkiden, örneğin çilek ve karanfilden, bir yılda milyonlarca bitki elde edilebilir (Bhojwani ve Razdan, 1983). Sürgünler belirli bir uzunluğu eriştikten sonra köklenmeleri amacıyla köklendirme ortamına alınırlar. Türlerin çoğunda köklenmenin desteklenmesi için NAA ve IBA (0.1-1 mg/l)'ya ihtiyaç duyulur. Ayrıca (% 3 -4) şeker konsantrasyonlarında köklenmeyi ve bitki kalitesini artırır. Steril koşullarda, düşük ışık yoğunluğunda, yüksek nem içeren ve tüm besin maddelerinin bulunduğu bir ortamda geliştirilen bitkilerin, daha düşük nem, daha yüksek ışık düzeyi ve steril olmayan koşullara sahip dış koşullara aktarılması dikkat isteyen bir işlem olup bunun aşamalı olarak yapılması gerekmektedir. Alıştırma işlemine, bitkiler *in vitro*'da iken üstten soğutma ile kültür kaplarına ait kapakların iç yüzlerindeki üzerindeki nemin azaltılmasıyla başlanabilir. Besin ortamından çıkartılmadan önce bitkiler serada kültür kapları içerisinde tutulabilir. Bitkilerin dış ortama aktarılmasında dikkat edilmesi gereken en önemli gereksinim yüksek nemdir (% 90- 100). Bu nedenle ilk 10 -15 gün bitkiler temiz plastik ile kaplanmalı ya da çiselenmelidir. Ardından, aşamalı olarak plastiklerde küçük delikler açılarak hava sirkülasyonu sağlanmalı, daha sonra ise seralarda özel alanlara taşınan bitkiler birkaç gün gölgede tutulmalıdır. Yaklaşık 4-6 hafta süren bu çalışmalardan sonra bitkiler normal sera koşullarında yetiştirilmeye hazır duruma gelmektedir (Preece ve Sutter, 1993).

In vitro kültür yoluyla yapılan mikroüretim, günümüzde sağlıklı karanfil, gerbera, krizantem, orkide ve gül gibi süs bitkilerinin klonal üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Waithaka, 1987). Bu tez çalışmasının amacı da endemik ve ticari önemi olan yabani lale türlerinde *in vitro* çoğaltım teknikleriyle soğancık üretimi için en uygun koşulların belirlenmesi ve üretilen soğancıkların toprağa aktarılma aşamasının başarıyla tamamlanmasıdır. Ayrıca geliştirilen bu yöntemin diğer geofit türleri için de kullanımı amaçlanmaktadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Soğanlı bitkiler üzerine çok sayıda doku kültürü çalışması olmasına ve bunların özellikle süs bitkilerinde yoğunlaşmasına rağmen, üzerinde çalıştığımız endemik *Tulipa* türlerinde yapılan bir *in vitro* çalışmaya hiç rastlanmamıştır. Ayrıca, soğanlı bitkilerde birçok eksplant tipi kullanılmış olmasına rağmen, olgunlaşmamış embriyo eksplantı kültürü üzerine *Tulipa* cinsinin haricinde başka bazı cinslerde ve oldukça az sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

Alderson vd (1983), 17 °C’de kuru olarak depolanan lale soğanlarından hazırladıkları pul yaprağı ve yan tomurcuk eksplantlarını, 0-5 mg/l NAA ve 0-10 mg/l BA ile kazein hidralizat ilave ettikleri MS ortamında kültüre almışlar, buradan kallus ve sürgün oluşumu gözlemlemişlerdir.

Nishiuchi (1986), tam olgunlaşmamış lale soğanlarının yaprak pullarını başlangıç materyali olarak 0.3 mg/l NAA ve 0.03 mg/l kinetin içeren ortamlarda kültüre alarak meristematik primordium oluşturan dokuları MS ortamına transfer etmiştir. Yeni ortam üzerinde soğancık oluşumunun uyarıldığını bildiren araştırmacı; soğan materyalinin 30-35 °C de 1-2 hafta süreyle depolanmasının soğancık oluşum hızı üzerinde olumlu etkisinin bulunduğunu belirtmiştir

Taeb ve Alderson (1990), lalenin Merry Widow çeşidinin gövde eksplantlarından 1 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Eksplantlar bu ortamda 12 veya 16 hafta 20 °C ’de inkübe edildiğinde, eksplantın taban kısmında soğan primordiumları oluşmaya başlamıştır. Primordiumların gelişmesi ve artırılması için kültür kaplarına 1 ve 10 ppm etilen veya 1, 10 ve 100 µM ACC (1-aminocyclopropane-carboxylic acid) eklenmiştir. Gövde eksplantlarında içsel ACC’nin düzeyi 7 günlük inkübasyondan sonra artmış, fakat kültür kaplarındaki atmosferde etilen artışı olmamıştır. Araştırmacılar, çiçekli gövde eksplantlarının inkübasyonunun ilk döneminde

dokuların ACC'den etilene dönüşüm için gerekli olan enzimleri içermediğini bildirmişlerdir.

Squires vd (1991), nergisin hızlı çoğaltımında transplantasyon safhalarını araştırmışlardır. Çalışmada, hormon içermeyen ortamda alt kültüre alınan sürgünlerin oluşturduğu soğanlar kullanılmıştır. Transplantasyonun en başarılı olduğu ortam aktif karbon içeren ortam olarak belirlenmiştir. Sürgünler önce 20 °C de kültüre alınmış oluşan soğancıklar dış ortama aktarılmadan önce dormansinin kırılması için 5 °C'de depolanmıştır. Transplantasyon başarısının büyük çapta çeşide bağlı olduğu ve % 47.8 ile % 81.2 arasında başarı sağlandığı bildirilmiştir. En yüksek başarı 0.2 g dan daha ağır olan soğancıklardan elde edilmiş, ancak soğancıkların boyutlarındaki artış çok düşük bulunmuştur.

Hulscher ve Krijghsheld (1992), lale için mikroçoğaltım yöntemi tanımlanmıştır. Sürgünler gövde eksplantından ve aksiller tomurcuktan temin edilmiştir. NAA, N⁶ –[2-isopentenyl] adenine (2iP) ve BAP veya Zeatin içeren ortamlarda kültüre alınmışlardır. Meristem içeren sürgünler seçilmiştir. Bu sürgünlerin çoğaltımı boylamasına kesilmeleriyle mümkün olmuştur. Soğuk muamelesinden sonra % 70'lik sukroz içeren ortamda bitki büyüme düzenleyiciler olmadan soğancık oluşumu sağlanmıştır. Bunlar başarıyla toprağa aktarılmıştır.

Çakırlar vd (1994), *Galanthus elwesii* ve *G. ikariae*'nin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılması için en uygun eksplant tipini ve besin ortamını araştırmışlardır. Soğan parçası ile tek veya çift yapraklı soğan pul yapraklı eksplantların en iyi soğancık oluşturma yeteneğinde olduklarını belirlemişlerdir. MS ortamının *Galanthus* (Kardelen) doku kültürüne uygun olduğunu, Gamborg ortamının da soğancık oluşumunu önemli düzeyde artırdığını belirlemişlerdir. Bu araştırmada, % 6 oranında kullanılan sakkarozun en yüksek soğancık sayısını verdiğini ortaya konmuştur.

Ault ve James (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. Her üç türden de elde edilen sürgünler 0, 2.7, 5.4 ve 10.8 µM NAA içeren ortamlarda köklendirmeye alınmış olup sırasıyla % 95, % 98, % 100 köklenme başarısı bildirilmiştir.

Hannweg vd (1996), Güney Afrikada önemli bir ticari çiçek soğanı olan *Bowiea volubilis* (Liliacea)'nin çiçek sapı parçalarından organogenik bitki regenerasyonu elde etmişlerdir. 10 mm uzunluğunda çiçek sapları 30 g/l sukroz, 10 g/l agar, 1 mg/l 2.4-D ve BAP içeren MS besin ortamında 6-8 hafta süreyle karanlıkta kültüre alınmıştır. Daha sonra eksplantlar büyüme düzenleyiciler olmayan yeni ortama aktarılmıştır. Bu ortamda sürgün ve soğan oluşumu meydana gelmiş, bunun ardından köklenme 4-5 hafta içerisinde gerçekleşmiştir. Eksplant başına 4.6 adet bitki elde edilmiştir.

Borochoy vd (1997)'ne göre dormansi bitki dünyasında oldukça yaygın bir fenomendir. Bunun örnekleri tohumda, apikal ve lateral vejetatif tomurcukta, soğan, korm ve yumruda görülmektedir. Dormansi birçok geofitin yıllık yaşam döngüsünün önemli bir parçasıdır. Ağaçlardaki çiçek tomurcukları ve tohumun tam tersine geofitler tüm tip dormansilere sahiptirler; endodormansi, paradormansi ve ekodormansi gibi. Dormansinin mekanizmasının anlaşılması çok önemlidir. Çünkü dormat bitkiler strese diğer bitkilere göre daha dayanıklıdır. Absisik asitin dormansinin başlamasında ve devamındaki rolü, gibberellilerin de dormansiyi kırdığı açık olarak bilinmektedir. Bazı çalışmalarda etilenin benzer rolünü desteklemektedir. Geofitlerdeki dormansi moleküler düzeyde çok az bilinmektedir.

Kuijpers ve Langens (1997), lale için bir çoğaltım metodu geliştirilmişlerdir. Sürgünler, gövde eksplantından 5 µM zeatin ve 5 µM NAA içeren ortamda rejenere olmuştur. Bu sürgünlerin % 90'ı meristem taşımadığı için çoğaltım için kullanılmamıştır. Gövde eksplantından meristem oluşumu gümüş tiyosülfat ve paklobutrazol veya metiljasmonat

katkısıyla geliştirilmiştir. Standart besin ortamlarında 10 hafta içinde çoğaltım oranı 1.5 olmuş ve sıvı ortamda da kültüre alındığında daha artmıştır.

Gude ve Dijkema (1997)'na göre doğal şartlarda lalenin çoğaltım oranı oldukça düşük olduğu için, modern ıslah yöntemleri hızlı *in vitro* çoğaltım yöntemi gerektirmektedir. Hali hazırda tespit edilmiş en iyi metot gövde eksplantından adventif sürgün rejenerasyonudur. Süspansiyon kültürü başlatmak için, friable kallus oluşumu 2,4-D ve Pikloram (0.5-50 µM) içeren ortamda soğan pul yaprakları ve sap eksplantları kültüre alınmıştır. Farklılaşmamış ve meristematik tip kallus oluşumu soğan pul yaprakları eksplantından elde edilmiştir.

Bonnier ve Van Tuyl (1997), zambanın genetik materyal olarak uzun dönem korunması için *in vitro*'da rejenere olan 10 zambak genotipinin soğanlarını 28 ay -2 °C ve 25 °C de farklı dört ortamda (1/4 MS veya tam MS , % 9 veya % 6 sukroz) saklamışlar ve filiz büyümesi ile soğan büyümesini belirlemişlerdir. Bütün zambak genotiplerinde filizlenme ve soğan büyümesi açısından en iyi sonucun, ¼ kuvvetindeki MS ve % 9 sukroz içeren ortamda 25 °C de 28 ay depolanan uygulamadan elde edildiği bildirilmiştir.

Nayak vd (1997), orkide (*Acampe praemorsa* Roxb.)'in sürgün tomurcuklarından alınan yaprak eksplantlarının bazal kısımlarını BA, KN, veya TDZ içeren MS ortamlarında kültüre almışlardır. TDZ içeren ortamda oluşan sürgünler 2 mg/l NAA ve 0,5 mg/l BA içeren ortama transfer edilmiştir. Araştırmacılar BA, KN veya TDZ içeren MS ortamlarına düşük konsantrasyonlarda NAA eklenmesinin sürgün rejenerasyonuna olumlu bir etkisinin olmadığını ancak, sürgün uzamasına ve yaprakların gelişmesine olumlu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sürgünler 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmiştir.

Marinangeli ve Curvetto (1997), *Lilium* (Zambak) türlerinde ve hibritlerinde çalışmışlardır. Genotip farklılığının soğanların ürettiği biomas ve sayısında önemli bir farklılığa neden olduğu analıdır. bildirilmiştir. Aynı değişiklik TA (traumatic acid) ile muamele edildikten sonra da tesbit edilmiştir. TA uygulaması soğan sayısını % 20'den % 40'a ve

soğanların ağırlığını da % 20'den % 60'a çıkarmıştır. Düşük kaliteli soğanların kullanılması soğanların biomasına ve sayısına olumsuz etki yapmış ve TA kullanımı bu olumsuzluğu ortadan kaldıramamıştır.

Ayabe ve Sumi (1998), sarımsak (*Allium sativum* L.) dişlerinden alınan gövde disklerinin hızlı çoğaltım için uygun bir eksplant olduğunu bildirmişlerdir. Bu eksplantlar hem hormon içermeyen LS (Linsmaier ve Skoog) ortamına hem de 0,1 mg/l NAA ve 0,1 mg/l BA içeren ortamda kültüre alındığında 2 hafta sonra her bir eksplanttan çok sayıda sürgün ucu geliştiği belirtilmiştir. Ancak, hormon içermeyen ortamın belirgin şekilde hormon içeren ortamdaki daha fazla (bir eksplanttan 15'den fazla sürgün) sürgün verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, sürgünlerin % 90'ından fazlasının soğan oluşturduğu ve rejenerasyon çalışmasından önce soğanların yaklaşık 8 hafta 4 °C' de ön muamele yapılmasının hem sürgün oluşumunu hem de soğan oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Nhut (1998), zambak (*Lilium longiflorum*)'ın gövde boğumlarında çıkarılan sürgün uçlarının ½ MS içeren ortamda kültüre alındığında oluşan sürgünlerin geliştirildiği, bunun ardından tek boğum içeren gövde segmentlerini 1,0 µM BA içeren ½ MS ortamına yerleştirdikten 1 ay sonra her bir boğum üzerinde yavru soğancıklar oluştuğunu bildirmiştir. Ayrıca, yavru soğanları 2,3 µM BA içeren ortama aldığı anda çok sayıda sürgün oluştuğunu ve bu sürgünleri 1,1 µM NAA içeren ortamda köklendirebildiğini belirtmiştir.

Bhagyalakshmi (1999), *Crocus sativus* L.'un ovaryum eksplantından doğrudan adventif sürgün rejenerasyonu üzerine ortamın, inkübasyon koşullarının ve eksplant yaşının etkisini incelemiştir. En iyi kallus oluşumunun ve en fazla sürgün oluşumunun, ovaryum başına 1,5 adet ile 53,7 µM NAA ve 4,4 µM BAP içeren MS ortamında karanlıkta 20 °C'de inkübe edilen ovaryumlardan geliştiğini bildirmiştir.

Selles vd (1999), bir nergis türü olan *Narcissus confusus*'un iki hattının olgunlaşmamış tohumlarındaki alkaloid üretimi kapasitelerini karşılaştırmıştır. Bunun için, hatların olgunlaşmış embriyo eksplantlarında kallus oluşumu, somatik embriyogenesis ve organogenesis kapasiteleri belirlenmiştir. Alkaloid içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Belirli kallusların az miktarda galantamin ürettiği ve galantamin miktarının doku farklılaşmasının derecesiyle arttığı bildirilmiştir. Rejenere olan bütün bitkilerin morfolojik karakterler bakımından normal olduğu da belirtilmiştir.

Slabbert ve Niederwieser (1999), *Lachenalia* cinsine ait üç varyetede *in vitro* soğan oluşumu ve oluşan soğanların toprağa aktarılmasında etkili bir metod geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, yaprak eksplantından elde ettikleri sürgünleri düşük ısıda (4-15 °C) bıraktıktan 2 hafta sonra soğan oluşumunun başladığını bildirmişlerdir. Ayrıca, adventif sürgünlerin yaşının soğan oluşumu için çok önemli olduğunu, 4 mm'den küçük sürgünlerin soğan oluşturmadığını ve soğan oluşumu için % 3 sukroz ile % 6 sukroz içeren ortamlar karşılaştırıldığında % 6'nın daha iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Soğanların toprakta yaşama şanslarının da onların boyutları ile doğrudan bağlantılı olduğu bulunmuştur.

Santos ve Salema (2000), *Narcissus triandrus* nergis türünde sadece jasmonik asitli (JA), JA+ (2-iP), JA+ NAA ya da sadece NAA içeren ortamlarda soğancık elde etmişlerdir. Çalışmada JA+2-iP ve JA+NAA içeren ortamlar yaprak oluşumunu hızlandırmışlardır. JA +2-iP ortamında daha yüksek yaprak oluşumu sağlanmıştır. Sadece JA'in olduğu ortamda ise yaprak oluşum oranı daha düşük bulunmuştur. JA'in olduğu ortamlar yaprak tabanından farklı büyüklüklerde soğan oluşumunu sağlamıştır. JA+ NAA içeren ortamda soğan sayısı JA+2-iP içeren ortamdan çok olduğu gibi, büyüklüğü de 5 mm'ye ulaşmıştır. Fakat en fazla soğan oluşumu sadece JA'in olduğu ortamda olmuştur. Sadece NAA bulunan ortamda ise çok az sayıda ve küçük soğan elde edilmiştir. Sadece JA'in olduğu ortamda soğanlar en yüksek büyüklüğe ulaşmışlardır. Gelişme ortamında bulunan soğanların neredeyse tamamı köklenmiştir. *Narcissus triandrus* bitkisinde JA'in soğan oluşumunda ve soğan büyüklüğünün artmasında önemli rol oynayabileceği gösterilmiştir.

Sage vd (2000), iri çiçekli bir nergis türü olan *Narcissus pseudonarcissus*' a ait olan "Golden Harvest" çeşidinin yaprak eksplantlarından sürgün rejenerasyonu ve soğan

eksplantlarından somatik embriyo elde etmişlerdir. Denemelerde somatik embriyogenesis için yaprak ayası, yaprak tabanı, soğan pul yaprakları gibi eksplantlar kullanılmıştır. Somatik embriyogenesis için 5 µM 2,4-D ve 0,5 µM 2,4-D veya 5 µM BAP içeren ortamların başarılı olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca, yaprak eksplantlarında 2,4-D'nin etkili olduğunu pikloramin ise etkisiz olduğu tesbit edilmiştir. Somatik embriyolar 4 °C'de 4,9 µM IBA içeren ortamda bitkiciklere dönüştürülmüş ve bu bitkiler dış koşullara alıştırılarak toprağa aktarılmıştır.

Hussey (2000), 12 türün *in vitro*'da soğan oluşturmaya verdikleri tepkiyi karşılaştırmıştır. 9 türde hiç kallus oluşmadan direkt olarak gövde dokusundan, 5 türde ovaryumdan, 4 türde ise yaprak dokusundan bitki gelişimi olmuştur. *Gladiolus*, *Hyacinthus*, *Muscari*, *Ornithogalum* ve *Scilla* cinslerinde MS ortamına büyüme düzenleyici ilave edilmeksizin bitkicik elde edilmiştir. *Hippeastrum*, *Schizostylis*, *Sparaxis* ve *Ipheion*'da ortama oksin eklenerek olumlu sonuç elde edilmiştir. *Freesia*, *Tulipa* ve *Narcissus*'da ise eksplant üzerinden doğrudan bitki elde edilememiştir. 10 adet türde soğan ve korm parçaları kullanılarak soğancık elde edilmiş olsa da bunlarda bulaşıklık önemli bir engel teşkil etmiştir. *Tulipa* ve *Hippeastrum* dışındaki bitkilerde ise kallus elde edilmiştir. *Gladiolus*, *Sparaxis* ve *Schizostylis* dışındaki türlerde ise kallustan bitki oluşmuştur.

Shibli ve Ajlouni (2000), endemik *Iris*'te somatik embriyogenesisi kallus, süspansiyon ve protoplast kültüründen elde etmişlerdir. Kallusların alt kültürü 4.5 µM 2,4-D, 0.5 µM Kinetin, 4.5 µM NAA ve 300 mg/l Prolin içeren ortamda, karanlık koşullarda yapılmıştır. Rejenerasyon ortamı olarak BA, 2IP, Zeatin ve TDZ (0, 4, 5, 9 ve 13.5 µM)'nin 0.49 µM IBA ve 0.45 µM 2,4-D ile kombinasyonu ile hazırlanan ortamlar kullanılmıştır. Maksimum embriyogenesis 4.5 µM BA'da elde edilmiştir. Zeatin ve TDZ'nin embriyogenesis üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür. 0.2 M Sukroz; Glukoz ve Fruktoz ile karşılaştırıldığında daha etkili olduğu bulunmuştur. 4.5 µM 2,4-D içeren ortamda 4 hafta içinde süspansiyon kültüründen gelişen hücreler 0.2 M sukroz, 4.5 µM BA içeren ortama transfer edildiğinde oldukça iyi sonuçlar (3568 embriyo/g hücre) elde edilmiştir. Çalışma sonucunda gelişen embriyoların % 90'ı köklenerek tam bir bitki haline gelmişlerdir. Üretilen bitkilerin ise % 95'i dış koşullara aktarılmıştır.

Ziv ve Lilien-Kipnis (2000), geofitlerin doku kültürü çalışmalarında genelde eksplant kaynağı olarak soğan, korm ve diğer depo organlarının kullanıldığı bildirilmektedir. Depo organlarındaki kontaminasyonu yenmek için bu çalışmada çiçek sapıda alternatif eksplant olarak kullanılmıştır. *Allium*, *Dichelostemma*, *Eucrosia*, *Gladiolus*, *Haemathus*, *Hyacinthus*, *Narcissus*, *Nerine* ve *Ornithogalum* da çiçek sapı eksplantı *in vitro* kültür için kullanılmıştır. Çiçek sapının regenerasyon kabiliyeti soğan ikili pul yaprağı veya corm'dan izole edilen apikal tomurcuğun regenerasyon kabiliyeti ile karşılaştırılmıştır. *Gladiolus* (glayöl) eksplantları çiçek açmadan alınan çiçek sapından izole edilmiştir. NAA (1 mg/l) ve Kinetin (1 mg/l) içeren ortamda oldukça iyi regenerasyon sağlanmıştır. Yine *Nerine* BA (10 µM) ve 2,4-D (5 µM) varlığında oldukça iyi sonuç elde edilmiştir. *Narcissus* (nergis)'da ise yine henüz çiçek açmamış yapraksız çiçek sapından alınan eksplantlar 15 °C'de NAA, BA, fosfat, adenin sülfat ve aktif karbonun varlığında tomurcuk regenerasyonu meydana gelmiştir.. Tüm türlerde genel olarak çiçek sapından alınan eksplantların, soğan ve korm eksplantlarından daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Chauvin vd (2000) *Tulipa gesneriana* L. türünde süspansiyon kültürü yolu ile kallus oluşumu üzerinde çalışmışlar, ancak başarılı sonuç elde edememişlerdir.

Chang vd (2000), bir zambak türü olan *Lilium speciosum* Thunb.var. *gloriosoides* Baker'da çiçek eksplantı kullanılarak 3 mg/l 2,4-D ve 0.25 mg/l BA içeren MS ortamında totipotent kalluslar elde etmişlerdir. Kalluslar önce soğancığa, sonra da 0.1 mg/l NAA, 1g/l Aktif karbon, 170 mg/l NaH₂PO₄ içeren MS besin ortamında bitkiciğe dönüşmüşlerdir. Sonuç olarak 9 ay içinde 6000 bitkicik üretilmiştir. 200 bitki seraya aktarılmış, bunların da % 98'i hayatta kalmıştır. 2 yıl içinde bu bitkiler normal gelişimlerini sürdürüp çiçeklenmişlerdir.

Famelaer vd (2000), *Tulipa praestans* lale türünde soğuk, karanlık, ışık gibi uygulamalar yoluyla kallus oluşumu başarmışlardır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyoların soğuk ile muamelesin sonucu farklı tipte kallus oluşumları gözlenmiştir.

Wawrosch vd (2001), çok pahalı bir tıbbi bitki olan Nepal zambağı (*Lilium nepalense* D.Don) için bir hızlı çoğaltım protokolü geliştirmişlerdir. Araştırmacılar Çalışmalarında, olgunlaşmamış soğanlardan hazırlanan çift soğan pul yaprak eksplantlarından 20 µM Zeatin içeren MS ortamında sürgünler elde etmişlerdir. Çalışmada, bir eksplanttan dört hafta sonra

yedi sürgünden fazla sürgün olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, köklendirmenin ½ MS ortamında MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir.

Paek ve Murty (2002), *Fritillaria thunbergii*'nin soğan pul yaprakları ile yaptıkları rejenerasyon çalışmasında en iyi sonucun 1,62 µM NAA ve 4,65 µM KN içeren MS ortamından (% 13,7) elde edildiğini bildirmişlerdir. Elde edilen soğanlar kültür sonunda 5 °C' de beş hafta bekletilerek torf, vermikülit ve perlit (1:1:1) içeren ortama aktarıldığında 10 mm çapındaki soğanların % 100'ünün sürgün verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, rejenerasyon çalışmasına başlamadan önce soğanları 10 °C de 6 hafta bekletmenin rejenerasyonu olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir.

Arslan vd (2003), *in vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia candida* ve *S. fischeriana* türlerini 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. Öte yandan, *S. candida*'nın olgunlaşmamış zigotik embriyolarının 6 mg/l pikloram içeren besin ortamında kültüre alınmasıyla 1.5 yıl sonunda eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar büyüklüklerine göre sınıflandırılarak 5 °C de muhafaza edilmiştir. Soğancıklar bu şartlarda 5 hafta bekletildikten sonra toprağa aktarılmışlardır.

Karaoğlu (2004), göl soğanı(*Leucojum aestivum* L.) bitkisinde *in vitro* hızlı çoğaltım için soğan pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyo eksplantlarını değişik BAP ve NAA içeren ortamlarda kültüre almıştır. En fazla soğancık oluşumu soğan pul yaprağı eksplantında, 1 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında elde etmiştir. Elde edilen soğancıklar 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir. Köklenen soğancıklar dış koşullara başarılı bir şekilde aktarmıştır.

Naik ve Nayak (2005), *Ornithogalum virens*' te soğan pul yaprağı kullanılarak kallus oluşumu ve indirekt organogenesis elde etmişlerdir. Sürgün oluşumu 1 mg/l NAA ve 2 mg/l BA içeren ortamda sağlanmıştır. Soğan pul yaprağı ile 2 mg/l 2,4-D içeren MS besin ortamında kültüre alınan soğan pul yapraklarından kallus elde edilmiştir. Kallustan sürgün regenerasyonu ise 2 mg/l NAA ve 0.5 mg/l BA içeren ortamda en iyi olmuştur. Sürgünlerden kök oluşumu hormonsuz MS ortamında sağlanmıştır. Rejenere olan bitkiler MS sıvı ortamında geliştirilmiştir. Saksılara başarılı olarak aktarılmıştır. Regenerantlardan oluşan soğancıklar sukrozu artırılmış (45-90 g/l) MS besin ortamına alınmışlardır. Direkt soğancık oluşumu ise soğan pul yaprağından 1 mg/l NAA, 2 mg/l BA ve 60 g/l sukroz içeren ortamda gerçekleşmiştir. Soğan büyüklüğü ise ½ MS'de arttırılmıştır. *In vitro*' da oluşan soğancıklar direkt olarak saksıya aktarılmıştır.

Mirici vd (2005), *in vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia fischeriana*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarını farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre alınmışlardır. Soğancık oluşturan eksplant sayısı 4 mg/l BA ve 0.25 mg/l NAA ya da 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlamıştır. Üretilen soğancıklar büyüklüklerine göre sınıflandırılarak 5 °C'de muhafaza edilmiştir. Araştırmacılar bu şartlarda 5 hafta tutulduktan sonra soğancıkları toprağa aktardıklarını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak *Liliaceae* familyasına ait ve ülkemiz doğal florasında yayılış gösteren yabancı *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*), *Tulipa sintenisii*, *Tulipa humulis* ve *Tulipa armena* türlerinin (Şekil 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4) farklı organ eksplantları (soğan, tohum ve olgunlaşmamış embriyo, çiçek, yaprak, yaprak sapı) kullanılmıştır. Eksplantlar bu türlerin doğal yayılış gösterdiği alanlardan toplanmıştır. Bitkisel materyalin toplanması sırasında kullanılacak olan eksplantın fizyolojik döneminin *in vitro* kültüre uygunluğuna dikkat edilmiştir. *Tulipa* türlerinin çiçeklenme ve meyve bağlama dönemleri Nisan ayı başlarından Mayıs ayı sonlarına kadar devam etmektedir. Bundan dolayı 1-2 Nisan tarihlerinde Pozantı-Adana-Hatay ve yöresine gidilerek bir arazi çalışması yapılmıştır. Ancak bu dönemde çiçekli bitkilere rastlanmadığından dolayı türler teşhis edilememiştir. Yine 22 -23 Nisan tarihlerinde Taşkent-Sarıveliler yöresinde yapılan arazi çalışmasında *Tulipa armena*, *Tulipa humulis* ve *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) türlerinin çiçekli dönemde oldukları saptanmış,, buldukları yerler GPS cihazı ile belirlenmiştir. Ayrıca, bu türlere ait soğan ve çiçek sapı eksplantları toplanarak laboratuvara getirilmiştir. Yine, toplanan soğanlardan bir kısmı da saksılara dikilerek gelişmeye bırakılmıştır. Mayıs ayı ortalarında bu bölgeye meyve toplamak için tekrar bir arazi çalışması düzenlenmiştir. *Tulipa armena*'ya ait meyveler toplanmıştır. İkinci yıl 12–13 Mayıs 2006 tarihlerinde Adana-İçel (Pozantı-Taşkent-Sarıveliler), 02–04 Haziran 2006 tarihlerinde Muğla-Manisa ve 23–24 Haziran 2006 tarihlerinde de Konya-İçel yöresine yapılan arazi çalışmasında hem türlerin teşhisi yapılmış, hem de soğan materyali toplanmıştır. *Tulipa sintenisii*'ye ait tüm eksplantlar tez çalışması boyunca A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme tarlasından temin edilmiştir



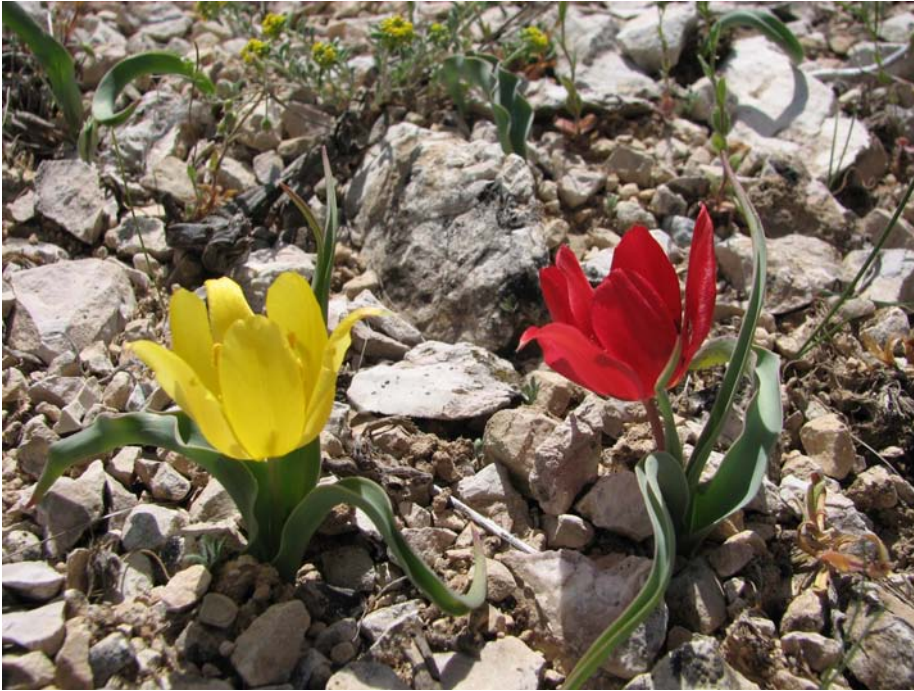
Şekil 3.1. Taşkent-Sariveliler yöresinde doğal yetişme alanlarında gelişen *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) bitkileri



Şekil 3.2. A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen *Tulipa sintenisii* bitkisi



Şekil 3.3. A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen *Tulipa humulis* bitkileri



Şekil 3.4. Ankara Yakacık'ta doğal olarak yetişen *Tulipa armena* var *lycica* bitkileri

3.2. Yöntem

3.2.1 Besin Ortamı ve Kültür Koşulları

Denemelerde temel besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog 1962), N₆ (Chu vd 1975), SH (Schenk ve Hildebrandt 1972) ve B5 (Gamborg vd 1968) besin ortamı, mineral tuzları ve vitaminleri kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bu temel besin ortamlarına kullanılan eksplant tipine ve amaca göre farklı oranlarda büyümeyi düzenleyiciler, şekerler, vitaminler ve katılaştırıcılar ilave edilmiştir.

Besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak pH 5.6'ya ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121°C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir. Tüm kültürler beyaz floresan ışığı altında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta veya tamamen karanlıkta, farklı sıcaklık (18-24 °C) uygulamalarında tutulmuştur. Denemelerde farklı eksplant tipleri (soğan pul yaprakları, tohumlar, olgunlaşmamış embriyolar ve *in vitro* gelişen fidelerden izole edilen eksplantlar) farklı besin ortamlarında ve uygulamalarla kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan besin ortamlarının içeriği (mg/l)

Bileşikler		MS (mg/l)	N6 (mg/l)	B5(mg/l)	SH(mg/l)
Makro besin elementleri	NH ₄ NO ₃	1650	463	-	-
	KNO ₃	1900	2830	2500	2500
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440	166	150	200
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370	185	250	400
Mikro besin elementleri	KH ₂ PO ₄	-	400	-	-
	KI	0.83	0.8	0.75	1.00
	H ₃ BO ₃	6.2	1.6	3	5
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3	3.33	-	-
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6	1.5	2	1
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	-	0.25	1.00
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	-	0.025	0.20
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	-	0.025	0.10
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8	27.85	27.8	15.00
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3	37.25	73.3	56.0
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	2.5	-	-	-
Vitaminler	İnositol	100	100	100	1000
	Nikotik Asit	0.5	1	1.00	5.00
	Piridoksin-HCl	0.5	0.5	1.00	0.50
	Thiamin-HCl	0.1	0.1	10.00	5.00
	Glisin	2	-	-	-

3.2.1.1. Soğan pul yaprakların kültüründe kullanılan ortamlar

Soğan pul yapraklarından izole edilen eksplantların kültüründe MS besin ortamına 0.25-0.5 mg/l KNA, 1-4 mg/l BAP, 0.2-0.4 mg/l TDZ, 0.25 mg/l NAA ve 20-60 g/l sukroz ilave edilmiş, 6 g/l agar ile katılaştırılmıştır. Soğancık oluşumu üzerine karbon kaynağının etkisi bilindiğinden, farklı şekerler (% 6 glukoz ve fruktoz vb.) de denenmiştir. Kullanılan büyüme düzenleyiciler ve kimyasalların çözücü ve saklama koşulları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan büyüme düzenleyicileri ve kimyasalların çözücüleri ve saklama koşulları

Büyüme Düzenleyicileri Oksinler ve Sitokinler	Çözücü	Saklama Koşulları (°C) (stok solüsyon)
2,4-D	Etanol	0-5
IBA	Etanol	0
NAA	NaOH	0-5
4- CPA	Etanol	0-5
Pikloram	DMSO	0-5
TDZ	Etanol	0-5
BAP	NaOH	0-5
Kinetin	NaOH	0
Zeatin	NaOH	0
Gibberellik asit	Su	0
Jasmonic asit	Etanol	0

3.2.1.2. Olgunlaşmamış embriyoların kültüründe kullanılan besin ortamı

Temel besin ortamı olarak, N₆ veya MS mineral tuzları ve vitaminleri kullanılmış, amaca göre % 2-6 oranında sukroz katılıp, % 0.6'lık agar ile katı hale getirilmiştir. Ayrıca, bu ortama soğancık oluşumunu teşvik etmek için; 2,4-D, pikloram, L-proline, kazein hidrolizat ve mannitol gibi kimyasallar da ilave edilmiştir. Olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumu 4 farklı ortam üzerinde ve 4 ayrı aşamada yürütülmüştür. Bu ortamlar;

Protokol 1 (4 aşamalı protokol)

- Kallus teşvik ortamı (KTO): N₆ mineralleri ve vitaminleri, 2.3 g/l L-proline, 200 mg/l kazein hidrolizat, 20 g/l sukroz, farklı oranlarda 2,4-D veya pikloram, 6 g/l agar
- Soğancık oluşturma ortamı (SOO): Kallus teşvik ortamı ve 30 g/l mannitol

- c) Soğancık geliştirme ortamı (SGO): MS mineralleri ve vitaminleri, 60 g/l sukroz, 6 g/l agar
- d) Soğancık olgunlaştırma ortamı (SOGO): MS mineralleri ve vitaminleri, 20 g/l sukroz, 6 g/l agar

Protokol 2 (*Tek aşamalı protokol*)

Bu protokolda yüzey sterilizasyona tabi tutulan meyvelerden olgunlaşmamış embriyolar izole edilerek farklı oranlarda 4 mg/l BAP ile 1-0.5 mg/l NAA, içeren MS ortamında. 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperyotta kültüre alınmıştır. Eksplantlar 4 haftada bir aynı ortamda alt kültüre alınarak gelişimleri gözlenmiştir

3.2.2. Doku Kültürü Tekniğinin Yapılışı

3.2.2.1 Soğan pul yapraklarının kültürü

Soğanlar birkaç damla deterjanlı su ile yıkanıp daha sonra 2-3 saat çeşme suyu altında tutulmuştur. Kabin içine alınan materyal 3 dakika saf etil alkolde bekletilmiştir. Daha sonra yüzey sterilizasyonuna geçilmiştir. 20 dakika % 35'lik sodyum hipokloritle steril edilmiş ve 3 kez 5 dakika olmak üzere saf su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra steril kabin içerisinde soğanların dış pul yaprakları çıkartılıp atıldıktan sonra kalan soğan kısmı denemelerde kullanılmıştır. En uygun eksplant şekli ve büyüklüğünü belirlemek için; dörde bölünmüş, çift veya dört pul yapraklı 4-5 mm genişliğinde 8-10 mm uzunluğunda ve 2 mm kadar bazal doku içeren soğan eksplantları kullanılmıştır.

3.2.2.2. Olgunlaşmamış embriyoların kültürü

Olgunlaşmamış tohumları içeren meyveler % 80'lik ticari çamaşır suyunda 20 dakika süreyle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra soğan eksplantlarında olduğu gibi 3 kez 5'er dakika steril saf su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra meyve kabuğu kesilerek içerisinden tohumlar çıkartılmıştır. Pens ve bisturi yardımıyla

tohumlardan çıkartılan olgunlaşmamış zigotik embriyolar, kök-sürgün eksenini aşağı gelecek şekilde KTO ortamına (kallus teşvik ortamı) yerleştirilmiştir. Her petri kutusunda eksplantların elverişlilik durumuna göre 5-10 adet zarar görmemiş zigotik embriyo (yaklaşık 1 mm çapında) kültüre alınmıştır. Bu ortamda zigotik embriyolar 25 ± 1 °C’de karanlıkta 2 hafta süreyle inkübe edildikten sonra, gelişen kalluslar SOO (soğancık oluşturma ortamı) ortamına aktarılmıştır. Bu ortamda 2 haftada bir alt kültür yapılmıştır. Daha sonra soğancıkları taşıyan kalluslar SGO (soğancık geliştirme ortamı) ortamına aktararak, yavaş yavaş ışıklı ortama alıştırmıştır. Son olarak kültürler SOGO (Soğancık olgunlaştırma ortamı) ortamına aktararak 2 ayda bir bu ortamda alt kültüre alınmıştır.

3.2.3. Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organları Kültürü

3.2.3.1. Yaprak ve yaprak sapı kültürü:

Tulipa armena, *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) ve *Tulipa sintenisii*’nin tarlada ilk çıkan yapraklarından deneme kurulmuştur. Bu denemede yapraklar toplandıktan sonra magnetik balık kullanılmadan şişe içinde çalkalanıp % 80’lik çamaşır suyunda 5 dakika daha sonra % 50 lik çamaşır suyunda 10 dakika sterilizasyon yapılmıştır. Durulama 3 defa 5 dakika steril saf suyla yapılmıştır. Yaprak boyuna ortadan kesilip daha sonra 0.5 cm lik küçük parçalara bölünmüştür. Yaprak sapından da 0.5 cm’lik parçalara kesilerek kullanılmıştır. Tüm eksplantlar karanlıkta kültüre alınmıştır. Bu eksplantlar için kullanılan ortamlar aşağıda verilmiştir:

SH besin ortamı

2 ve 4 mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l Kinetin, 5 g/l Prolin, 10g/l KCl, 30 g/l sukroz ve 6 g/l Agar (Aynı ortamların Prolin ve KCl ‘siz olanlarıda hazırlanmıştır).

MS besin ortamı

2-4 mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l Kinetin, 5 g/l Prolin, 10 g/l KCl, 30 g/l sukroz ve 6 g/l Agar

N6 besin ortamı

2-4 mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l Kinetin, 5 g/l Prolin, 10g/l KCl, 30 g/l sukroz, 6 g/l Agar

3.2.3.2. Çiçek ve Çiçek Organları Kültürü:

Tulipa armena, *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) ve *Tulipa sintenisii*'ye ait bu eksplantlar çiçek açmadan tomurcuk halinde iken temin edilmiştir. Bu denemede tomurcuklar toplandıktan sonra magnetik balık kullanılmadan şişe içinde çalkalanıp % 80 lik çamaşır suyunda 5 dakika daha sonra % 50 lik çamaşır suyunda 10 dakika sterilizasyon yapılmıştır. Durulama 3 defa 5 dakika steril saf suyla yapılmıştır. Pistil hariç diğer eksplantlar yüzey sterilizasyondan etkilenmişlerdir. Bütün eksplantlar karanlıkta kültüre alınmıştır. Pistil, çiçek tabanı, anter ve filamentler eksplant olarak kullanılmıştır. Çiçek sapı ve pistil 0.5 cm'lik diskler halinde kesilip ortama gelişim yönüne uygun şekilde yerleştirilmiştir. Çalışmada yaprak ve yaprak sapı için hazırlanan ortamlarla beraber aşağıdaki ortamlarda kullanılmıştır.

1. ortam: 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA, 30 g/l sukroz ve 6 gr/l Agar (MS)
2. ortam: 1 mg/l 2,4-D, 1 mg/l BAP, 30 g/l sukroz ve 6gr/l Agar (MS)
3. ortam: 1 mg/l NAA, 2 mg/l Kinetin, 30 g/l sukroz ve 6gr/l Agar (MS)
4. ortam: 1 mg/l NAA, 2 mg/l BAP, 500 mg/l NaH₂PO₄, 100 mg/l Adenin, 30 g/l sukroz , 2.5 mg/l Aktif karbon ve 6 gr/ Agar (MS)
5. ortam: 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 60 g/l fruktoz, 6 gr/ Agar (MS),
6. ortam: 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 60 g/l sukroz, 6 gr/ Agar (MS),
7. ortam: 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 60 g/l glukoz, 6 gr/ Agar (MS)
8. ortam: 100 mg/l myo-inositol, 0.5 mg/l niacin, 0.5 mg/l pyridoxin HCl, 0.1 mg/l thiamine HCl, 2 mg/l glicine, 1 g/l kazein hydrolysate, 3 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l BAP, 30 g/l sukroz, ve 6 gr/l Agar (MS)

3.2.4. Tohumların *In Vitro* Çimlendirmesi

Tulipa sintenisii'ye ait tohumlar + 4 °C 'de yaklaşık 3 hafta bekletilmiştir. Sterilizasyon % 80'lik ticari çamaşır suyunda 20 dakika yapılmıştır. Durulama 3 defa 5 dakika steril saf su ile yapılmıştır. Bu işlemten sonra farklı yöntemler kullanılarak çimlendirme denemeleri kurulmuştur.

3.2.5. *Tulipa sintenisii*'de olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültürü (2006 yılı çalışmaları)

Oldukça fazla miktarda meyve temin edilen bu türde çok daha iyi sonuç alabilmek için embriyolar 23 farklı ortamlar kullanılmıştır. Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolar bu ortamlarda 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperyot ve karanlıkta kültüre alınmıştır. Bu çalışmada kullanılan ortamlar aşağıda verilmiştir:

- 1. ortam:** MS temel besin ortamı, Gamborg's B5 vitaminleri, 5 mM Asparagin, 5 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz ve 6g/l agar
- 2. ortam:** SH mineral ve vitaminleri, 0.5 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz ve 6g/l agar
- 3. ortam:** SH mineral ve vitaminleri, 2 mg/l 4 CPA, 30 g/l sukroz ve 6g/l agar
- 4. ortam:** N6 mineral ve vitaminleri 0.5 mg/l Kinetin, 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar
- 5. ortam:** SH mineral ve vitaminleri, 2 mg/l TDZ, 5 mg/l Dicamba, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar
- 6. ortam:** MS temel besin ortamı, Gamborg's B5 vitaminleri, 1 mg/l NAA, 4 mg/l BAP, 30 g/l sukroz ve 6g/l agar
- 7. ortam:** MS temel besin ortamı, Gamborg's B5 vitaminleri, 0.5 mg/l Kinetin, 0.1 mg/l 2,4-D, 0.75 g/l KCl, 30 g/l sukroz ,ve 6g/l agar
- 8. ortam:** MS, 6 mg/l 2,4 D, 2 mg/l BAP, 500 mg/l Prolin ve Kazein hidrolizat, 30 g/l sukroz ve 6g/l agar
- 9. ortam:** MS temel besin ortamı, Gamborg's B5 vitaminleri, 2 mg/l 2,4-D, 60 g/l sukroz ve 6 g/l Agar
- 10. ortam:** MS temel besin ortamı, Gamborg's B5 vitaminleri, 2 mg/l Dicamba, 60 g/l sukroz ve 6 g/l agar
- 11. ortam:** MS temel besin ortamı, 20 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar
- 12. ortam:** MS temel besin ortamı, 20 mg/l 2,4-D, 5 mM Asparajin, 30 g/l sukroz ve

6 g/l agar

13. ortam: MS temel besin ortamı, 20 mg/l 2,4 D, 15 mM Glutamin, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar

14. ortam: MS temel besin ortamı, 1 mg/l BAP, 1 mg/l pikloram, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar

15. ortam: MS temel besin ortamı, Gamborg's B5 vitaminleri, 400 mg/l Glutamin, 100 mg/l Asparajin, 1 mg/l Kinetin, 1 mg/l 2,4-D, 60 g/l sukroz ve 6 g/l agar

16. ortam: 1/2 MS, 3 mg/l 2,4-D, 600 mg/l Prolin, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar

17. ortam: MS temel besin ortamı, 0.1 mg/l Kinetin, 0.5 mg/l 2,4 D, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar

18. ortam: MS temel besin ortamı, 100 mg/l askorbik asit 2g/l Aktif karbon, 1 mg/l yeast ekstrakt, 2 mg/l pikloram, 60 g/l sukroz ve 6g/l agar

19. ortam: MS temel besin ortamı, 100 mg/l myo-inositol, 0.5 mg/l niacin, 0.5 mg/l pyridoxin HCl, 0.1 mg/l thiamine HCl, 2 mg/l glicine, 1 g/l kazein hidrolizat, 3 mg/l 2,4-D ve 0.5 mg/l BAP, 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar

20. ortam: MS temel besin ortamı, 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 60 g/l glukoz ve 6g/l agar

21. ortam: MS temel besin ortamı, 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 60 g/l fruktoz ve 6g/l agar

22. ortam: MS temel besin ortamı, 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 60 g/l sukroz ve 6g/l agar

23. ortam: MS temel besin ortamı, 100 mg/l inositol, 10 mg/l nicotinic acid, 2 mg/l B1 vitamini ve, 1 mg/l B6 vitamini, 500 mg/l kazein hidrolizat, 250 mg/l Prolin ve 1 mg/l 2,4-D ve 1 mg/l Kinetin 30 g/l sukroz ve 6g/l agar

3.2.6. Köklendirme çalışmaları

Elde edilen soğancıklar $1/1$, $1/2$ ve $1/8$ kuvvete MS, 0.5-1 mg/l NAA veya 0.5-1 mg/l IBA, 0,5 g/l aktif kömür ve 30-60 g/l sukroz içeren ve 6 g/l agar ile katılaştırılan besin ortamında köklendirilmeye alınmıştır. Köklendirme denemeleri 3 aşamalı şekilde yürütülmüştür. Denemenin bir kısmında kültürler 24 °C'de bir kısmı 15 °C'de bir kısmı ise ön üşütmeye (+4 °C'de 3 hafta) tabi tutulduktan sonra yine 15 °C de kültüre alınmıştır.

3.2.7. *In vitro*'da üretilen soğancıkların dış şartlara alıştırılması

Soğancıkların bir kısmı köklendirilerek bir kısmı da köklendirilmeden toprağa aktarılmıştır. Torf, vermikülit ve perlit 1:1:1 oranında karıştırılarak kullanılmıştır. Bu karışım önce hafif nemlendirilim sonra steril edilerek kullanılmıştır. Torf organik maddece zengin karışım olarak, perlit toprak dokusunu yoğunlaştırmak için (dolgu maddesi olarak), vermikülit ise karışımdaki suyun buharlaşmasını ve çabuk kaybolmasını önlemek için kullanılmıştır. Saksılar iklim dolabına yerleştirirken üstleri ince plastiklerle kaplanmış üzerlerine küçük hava delikleri yapılmıştır. Bu şekilde 3-4 gün bekletildikten sonra bu ince plastikler alınmış iklim dolabındaki şartlara alıştırmak üzere bırakılmıştır. İklim dolaplarında yüksek nem oranında (% 90) ve 15 °C de dış şartlara alıştırmıştır.

3.2.8. İstatistik Analizler

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup her muamele içerisinde 5-10 adet eksplantın bulunduğu, 3-4 tekerrürlü 100 x 10 mm'lik petri kutuları veya Magenta kaplarından oluşmuştur. İstatistik analizinden önce yüzde değerlere, Arcsin dönüştürme işlemi yapılmıştır. (Snedecor ve Cochran 1967). Muameleler arasındaki önemlilik varyans analizi (ANOVA) ile belirlenerek ve ortalamalar arasındaki farklılık ise MSTAT-C Bilgisayar Programı kullanılarak (Michigan State Üniversitesi) Duncan Testi ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. *Tulipa sintenisii* ve *Tulipa armena*'da 2005 yılında yapılan çalışmalar

4.1.1. *Tulipa sintenisii*'nin olgunlaşmamış embriyoların kültürü

1. protokol:

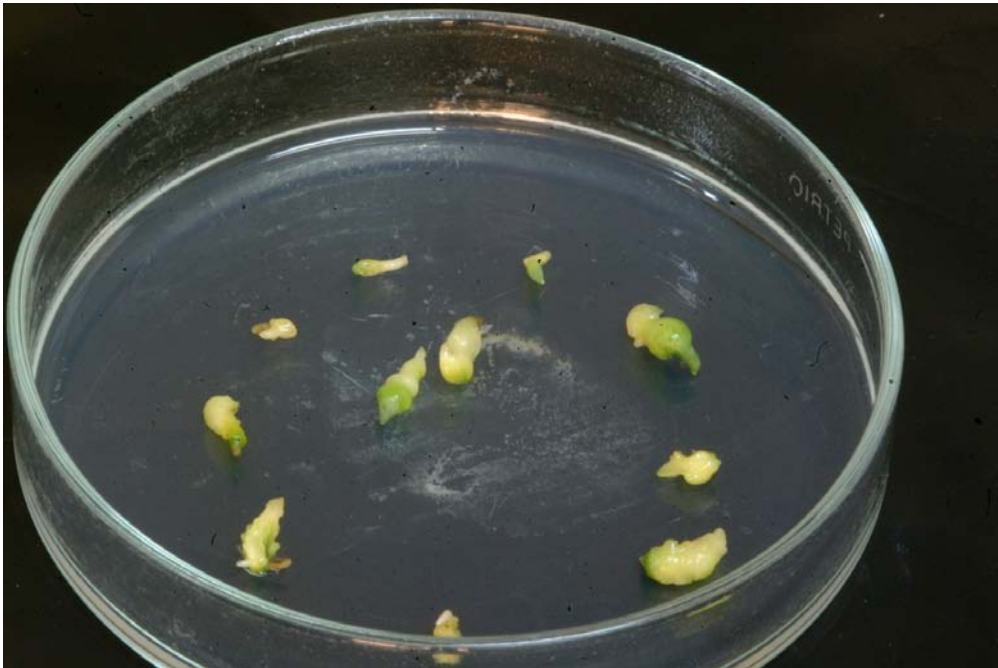
Doğal yetiştirme alanlarından toplanan *Tulipa sintenisii* ve *T. armena*'ya ait meyveler yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra yaklaşık 1-2 mm büyüklüğündeki olgunlaşmamış embriyolar tohumlardan çıkartılarak 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l 2,4-D ile 0.5, 1, 2, 4, 6 ve 8 mg/l pikloram içeren 6 g/l agar ile katılaştırılan KTO (kallus teşvik ortamı) ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 1 hafta sonra embriyoların hacimlerinde bir artış gözlenmiş olup, 20-30 gün sonra da kallus (küçük ve sert) oluşumu başlamıştır (Şekil 4.1). Bu ortamda zigotik embriyoların bir kısmı 25 ± 1 °C de karanlıkta 8 hafta süreyle inkübe edildikten sonra, gelişen kalluslar SOO (soğancık oluşturma ortamı) ortamına aktarılmıştır. Bu ortamda sürgün uçları da oluşmaya başlamış ve 2 haftada bir alt kültür yapılmıştır. Daha sonra sürgünler SGO (soğancık geliştirme ortamı) ortamına aktarılarak, yavaş yavaş ışıklı ortama alıştırmıştır. SGO ortamına aktarıldıktan 8 hafta sonra eksplantlarda yavaş yavaş sürgün oluşumu başlamıştır. Yine bir başka denemede ise 1-2 hafta süreyle +4 °C de bekletilen meyvelerden elde edilen embriyolarda aynı ortamlarda kültüre alınarak ayrı bir deneme kurulmuştur. Ayrıca kültüre alınan embriyoların bir kısmında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperyotta kültüre alınmıştır. Çalışmada 14. ayda sayım yapıldıktan sonra soğancık sayısı çok az olduğu için soğancık sayısına olumlu etki ettiği bilinen soğuk uygulaması yapılmıştır. Kültürler 1 ay süreyle + 4 °C de bekletilmiştir (Şekil 4.2 ve 4.3). Daha sonra çıkan kültürler 60 g/l sukroz ve 100 µM Jasmonik asit içeren MS ortamında 1 ay kültüre alınmıştır. 16. ay sonunda sürgünlerin çoğunun soğancığa dönüştüğü görülmüştür. Yapılan bu denemeler için 5. ve 9. aylarda sürgün; 14. ve 16. aylarda sürgün/soğancık sayımı yapılmıştır. 16. ayda bazı ortamlarda sürgünlerin tamamı soğancığa dönüşmüş bazı ortamlarda ise hem soğancık hem de sürgün sayımı ayrı ayrı yapılmıştır. 16 aydan sonra oluşan soğancıklar bir süre 20 mg/l sukroz içeren MS'te bekledikten sonra köklendirmeye alınmıştır. Çalışmaların tamamına ait analizler çizelgelerde sıra ile verilmiştir Muamele 1 karanlık, muamele 2 fotoperyot, muamele 3 ise soğuk uygulamaya (meyvenin soğukta bekletilmesi) karşılık gelmektedir. Kültür başlangıcından 5 ay sonra sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans sonuçları Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Sürgün oluşturan eksplant oranı			Eksplant başına sürgün sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	89	-	-	-	-
Ortam	9	1137.04	7.61**	37.55	5.492**
Muamele	2	1949.96	13.05**	74.348	10.88**
Ort.*muamele	18	484.43	3.24**	20.10	2.94**
Hata	60	149.45	-	6.84	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.1 incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ortamların, muamelenin ve ortam x muamele interaksyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 1 ay sonra 1 mg/l pikloram içeren ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantı (fotoperyot muamele)



Şekil 4.2. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra 0.5 mg/l pikloram içeren ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantında sürgün gelişimi (fotoperiyot muamele)



Şekil.4.3. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 2 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık oluşumu (karanlık muamele)

Çizelge 4.2. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg/l	Sürgün oluşturan eksplant oranı (%)				Eksplant başına sürgün sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	ort
0.5 2,4-D	60.0DE b	100.0 A a	86.67AB a	82.22	6.25 BC a	4.85 ABC ab	1.32A b	4.14
1 2,4-D	93.33AB a	93.33A a	86.67AB a	91.11	6.78 B a	6.37AB a	1.00A b	4.72
2 2,4-D	93.33AB a	86.67AB a	93.33A a	91.11	15.37 A a	7.00A b	2.50A c	8.29
4 2,4-D	100.0A a	100.0A a	100.0A a	100.00	1.00D a	1.00C a	1.00A a	1.00
0.5 pikloram	73.33BCDb	100.0A a	80.0ABC b	84.44	1.00D b	7.12A a	3.47A ab	3.86
1 pikloram	53.33DE a	66.67B a	60.0C a	60.00	1.00D b	6.42AB a	2.11A b	3.18
2 pikloram	40.0E c	93.33A a	66.67BC b	66.67	2.00 CD a	3.75ABC a	1.89A a	2.55
4 pikloram	86.67ABCa	100.0A a	40.0D b	75.56	1.00D a	3.60ABC a	1.00A a	1.87
6 pikloram	66.67CD b	93.33A a	66.67BC b	75.56	2.42BCD a	3.77ABC a	1.00A a	2.40
8 pikloram	93.33AB a	86.67AB a	93.33A a	91.11	4.13 BCD a	1.70 BC a	1.00A a	2.28
Ortalama	76.00	92.00	77.33		4.01	4.56	1.63	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Tulipa sintenisii'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı pikloram ve 2,4-D dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi Çizelge 4.2' de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi farklı 2,4-D ve pikloram dozları, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısını etkilemiştir. Farklı 2,4-D ve pikloram dozları birlikte değerlendirildiğinde her ikisi de benzer bir etki göstermiştir. Ancak yüksek dozda 2,4-D sürgün oluşumunu azaltmıştır. Tüm çizelge genel olarak değerlendirildiğinde ise, en yüksek sürgün sayısı 15.37 adet ile 2 mg/l 2,4-D içeren ortamda karanlık uygulamadan elde edilmiştir.

Kültür başlangıcından 9 ay sonra yine eksplant başına oluşan sürgün sayıları kayıt edilmiştir. Bu sonuçlara ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Sürgün oluşturan eksplant sayısı		
	S.D	K.O	F
Genel	89	-	-
Ortam	9	12.62	4.44**
Muamele	2	49.75	17.51**
Ort.*muamele	18	12.64	4.45**
Hata	60	2.84	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.3 incelendiğinde, eksplant başına sürgün sayısına ortamların, muamelenin ve ortam x muamele interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg/l	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	ortalama
0.5 2,4-D	4.67 C a	3.80ABC a	2.03A a	3.50
1 2,4-D	9.53A a	5.00AB b	1.00A c	5.18
2 2,4-D	7.67Ab a	4.73AB b	1.00A c	4.47
4 2,4-D	1.00D a	1.00C a	1.00A a	1.00
0.5 pikloram	1.00D b	4.80AB a	3.47 A ab	3.01
1 pikloram	1.00D b	5.93A a	2.11A b	3.09
2 pikloram	1.33D a	4.20AB a	1.89A a	3.01
4 pikloram	1.00D b	4.40AB a	1.00A b	2.47
6 pikloram	2.42CD ab	3.95ABC a	1.00A b	2.13
8 pikloram	5.13BC a	2.22BC b	1.00A b	2.78
Ortalama	3.45	4.00	1.55	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.4’de *Tulipa sintenisii*’de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi incelenmiştir. Büyüme düzenleyiciler ve uygulanan muameleler birlikte düşünüldüğünde eksplant başına en fazla sürgün sayısı 9.53 adet ile 1 mg/l 2,4-D içeren ortamda karanlık muameleden elde edilmiştir. Karanlık uygulamasında yüksek dozda pikloram içeren ortamlarda sürgün sayısının arttığı gözlenmiştir. Soğuk muamelesinde ise her iki büyüme düzenleyicide sürgün sayısının daha az olduğu gözlenmiştir.

Kültür başlangıcından 14 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancıklar oluşmuştur. Eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ilişkin değerlere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5’te verilmiştir

Çizelge 4.5. *Tulipa sintenisii*’de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	89	-	-	-	-
Ortam	9	33.70	4.74**	5.28	2.90**
Muamele	2	324.90	45.70**	14.44	7.927**
Ort. *muamele	18	37.61	5.29**	5.47	3.00**
Hata	60	7.11	-	1.82	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.5’te görüldüğü gibi eksplant başına sürgün ve soğan sayısına ortamın, muamelenin ve ortam x muamele interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg /l	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)				Eksplant başına soğancık sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.
0.5 2,4-D	5.67A a	4.40CDE a	4.00A a	4.69	0.00A a	2.33BC ab	1.67A a	1.33
1 2,4-D	8.33A a	12.67A a	1.67A b	7.22	0.00A b	3.33B a	0.00A b	1.11
2 2,4-D	5.00A b	9.67AB a	0.00A c	4.89	0.00A a	0.00C a	0.00A a	0.00
4 2,4-D	0.00B a	0.00E a	0.00A a	0.00	0.00A a	0.00C a	0.00A a	0.00
0.5 pikloram	0.00B b	11.00A a	1.67A b	4.22	0.00A b	0.00C b	1.67A a	0.56
1 pikloram	0.00B b	11.67A a	0.00A b	3.89	0.00A b	6.67A a	0.00A b	2.22
2 pikloram	0.00B b	6.00BC a	0.00A b	2.00	0.00A b	1.00C a	0.00A b	0.33
4 pikloram	0.00B b	7.35ABC a	0.00A b	2.45	0.00A a	0.00C a	0.00A a	0.00
6 pikloram	0.00B b	10.03AB a	0.00A b	3.34	0.00A a	0.00C a	0.00A a	0.00
8 pikloram	9.00A a	0.00D b	0.00A b	3.00	0.00A a	0.00C a	0.00A a	0.00
Ortalama	2.80	7.18	0.73		0.00	1.33	0.33	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

Tulipa sintenisii'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi Çizelge 4.6' da verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısına, uygulanan muamele ve büyüme düzenleyicilerin etkisi incelendiğinde en yüksek sürgün sayısı fotoperyot muamele için 12.67 adet ile 1 mg/l içeren ortamda, karanlık muamele için ise 9.00 adet ile 8 mg/l pikloram içeren ortamda elde edilmiştir. Eksplant başına soğan sayısı için uygulanan muameleler, 2,4-D ve pikloramın farklı dozları birlikte değerlendirildiğinde ise yüksek sonuç 6.67 ile 1 mg/l pikloram içeren ortamda fotoperyot muamelede alınmıştır. Karanlıkta ise soğancık oluşumu gözlenmemiştir.

Kültür başlangıcından 16 ay sonra sürgünlerin çoğu soğancığa dönüşmüştür. Eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ilişkin değerlere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7’te verilmiştir.

Çizelge 4.7. *Tulipa sintensisii*’de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	89	-	-	-	-
Ortam	9	21.89	4.95**	113.09	4.57**
Muamele	2	26.64	6.02 **	457.70	18.50**
Ort.*muamele	18	23.75	5.37**	75.62	3.06**
Hata	60	4.43	-	24.74	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.7 incelendiğinde, eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ortamın, muamelenin ve ortam x muamele interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4- D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg/	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)				Eksplant başına soğancık sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.
0.5 2,4-D	6.33A a	3.00BC ab	2.67A b	4.00	22.67A a	10.50AB b	3.00A b	12.06
1 2,4-D	0.00B b	2.67BC a	0.00A b	0.89	0.00 B b	8.83ABC a	0.00A b	2.94
2 2,4-D	0.00B a	0.00C a	0.00A a	0.00	0.00B b	15.00A a	0.00A b	5.00
4 2,4-D	0.00B a	0.00C a	0.00A a	0.00	0.00B a	0.00C a	0.00A a	0.00
0.5 pikloram	0.00B b	0.00C b	1.67A a	0.56	0.00B b	0.00C b	1.67A a	1.11
1 pikloram	0.00B b	11.12A a	0.00A a	3.72	0.00B b	13.83A a	0.00A b	4.61
2 pikloram	0.00B a	0.00C a	0.00A a	0.00	0.00B b	10.50AB a	0.00A b	3.50
4 pikloram	0.00B a	5.33B a	0.00A b	1.78	0.00B b	4.50BC a	0.00A b	1.50
6 pikloram	0.00B b	1.00A a	0.00A b	0.33	0.00B b	14.67A a	0.00A b	4.89
8 pikloram	8.00A b	0.00C a	0.00A b	2.67	0.00B a	0.00C a	0.00A a	0.00
Ortalama	1.43	2.32	0.433		2.27	7.95	0.47	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.8'de eksplant başına sürgün sayısı için uygulanan muamele ve büyüme düzenleyicilerin etkisi birlikte incelendiğinde en yüksek değer fotoperyot için 11.12 ile 1 mg/l pikloram içeren ortamda elde edilmiştir. Eksplant başına soğan sayısı incelendiğinde ise en yüksek değer 22.67 ile 0.5 mg/l 2,4-D içeren ortamda karanlıkta elde edilirken, fotoperyotta ise hem pikloram, hem de 2,4-D içeren ortamlarda değişen sayılarda soğancık oluşumu gözlenmiştir. Soğuk uygulamanın ise sürgün ve soğancık sayısını azalttığı gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantından 6 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık oluşumu (karanlık muamele)

4.1.2. *Tulipa armena*'nin olgunlaşmamış embriyolarının kültürü

Yapılan bu denemeler için *Tulipa sintenisii*'de olduğu gibi 5. ve 9. aylarda sürgün 14. ve 16. aylarda sürgün/soğancık sayımı yapılmıştır. 16. ayda bazı ortamlarda sürgünlerin tamamı soğancığa dönüşmüş bazı ortamlarda ise hem soğancık hem de sürgün sayımı ayrı ayrı yapılmıştır. 16 aydan sonra oluşan soğancıklar bir süre 20 mg/l sukroz içeren MS'te bekletildikten sonra köklendirmeye alınmıştır. Çalışmaların tamamına ait analizler çizelgelerde sırasıyla verilmiştir. Muamele 1 karanlık, muamele 2, 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperyota, muamele 3 ise soğuk uygulamaya (meyvenin soğukta bekletilmesi) karşılık gelmektedir. Kültür başlangıcından 5 ay sonra sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir

Çizelge 4.9. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Sürgün oluşturan eksplant oranı			Eksplant başına sürgün sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	89	-	-	-	-
Ortam	9	1090.45	5.84**	10.98	1.83
Muamele	2	39206.88	210.06**	489.23	81.36**
Ort.*muamele	18	626.52	3.35**	14.05	2.34**
Hata	60	186.65	-	6.01	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.9 incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant oranına ortamın, muamelenin ve ortam x muamele interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuş iken eksplant başına sürgün sayısına ortamın etkisi istatistiksel olarak önemsiz çıkmıştır. Muamele, muamele x ortam interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi

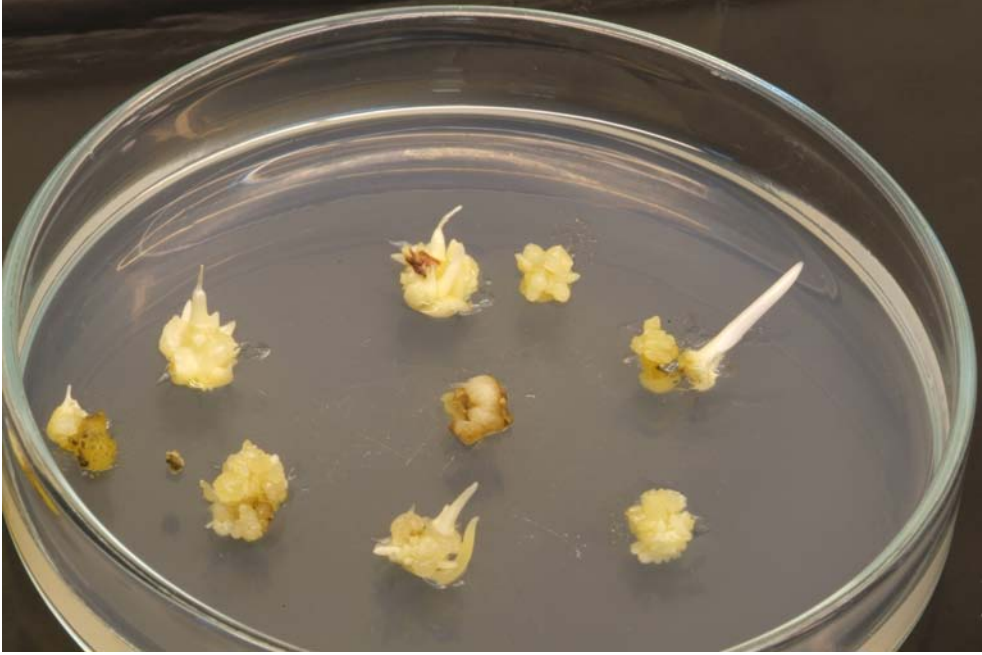
Büyüme düzenleyiciler mg/l	Sürgün oluşturan eksplant oranı (%)				Eksplant başına sürgün sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	ort
0.5 2,4-D	80.00 AB a	73.33BCD a	0.00A b	51.11	9.87A a	7.25ABC a	0.00 A b	5.70
1 2,4-D	93.33Ab a	46.67EF b	0.00A c	46.67	7.60ABC a	3.05CD b	0.00 A b	3.55
2 2,4-D	33.33D a	40.00F a	0.00A b	24.44	9.08A a	4.94BCD b	0.00 A c	4.67
4 2,4-D	73.33BC a	73.33BCD a	0.00A b	48.89	9.30A a	4.08BCD b	0.00 A c	4.47
0.5 pikloram	53.33CD a	60.00DEF a	0.00A b	37.78	9.61A a	4.44BCD b	0.00 A c	4.68
1 pikloram	100.00A a	73.33BCD b	0.00A c	57.78	9.30A a	5.75BCD a	0.00 A b	5.23
2 pikloram	100.00A a	100.00A a	0.00A b	66.67	8.44A ba	8.67Ab a	0.00 A b	5.70
4 pikloram	100.00A a	66.67CDE b	0.00A c	55.56	3.47C a	2.50D a	0.00 A a	1.99
6 pikloram	86.67Ab a	86.67ABC a	0.00A b	57.78	4.32BC b	10.82A a	0.00 A c	5.04
8 pikloram	86.67AB a	93.33Ab a	0.00A b	60.00	5.40ABC a	8.00AB a	0.00 A b	4.47
Ortalama	80.67	71.33	0.00		7.71	5.95	0.00	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir

Tulipa armena'da kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi Çizelge 4.10'da verilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer karanlıkta 1, 2 ve 4 mg/l pikloram, fotoperyotta ise 2 mg/l pikloram içeren ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı için ise uygulanan muamele ve büyüme düzenleyicilerin etkisi birlikte düşünüldüğünde, en yüksek sürgün sayısına 10.82 adet ile 6 mg/l pikloram içeren ortamda ulaşılmıştır. Pikloram ve 2,4-D içeren ortamlarda her iki uygulamada da sürgün elde edilirken soğuk uygulamada sonuç alınamamıştır (Şekil 4.5. ve 4.6.).



Şekil 4.5 *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 2 ay sonra 1 mg/l pikloram içeren ortamda embriyodaki gelişim (karanlık muamele)



Şekil 4.6. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 1 mg/l 2,4-D içeren ortamda sürgün gelişim (karanlık muamele)

Kültür başlangıcından 9 ay sonra yine eksplant başına oluşan sürgün sayıları kayıt edilmiştir. Bu sonuçlara ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı pikloram ve 2,4-D dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı		
	S.D	K.O	F
Genel	89	-	-
Ortam	9	18.11	2.08*
Muamele	2	460.56	52.81**
Ort.*muamele	18	32.07	3.68**
Hata	60	8.72	

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyine önemli

Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi eksplant başına sürgün sayısına ortamın etkisi 0.05 düzeyinde bulunurken, muamelenin ve ortam x muamele interaksyonu ise 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelgede 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg/l	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	ortalama
0.5 2,4-D	9.87Ab a	8.08BC a	0.00A b	5.98
1 2,4-D	4.60BCD a	3.05CD a	0.00A a	2.55
2 2,4-D	6.35ABCD a	4.94CD a	0.00A b	3.76
4 2,4-D	10.53A a	4.08CD b	0.00A b	4.87
0.5 pikloram	7.55ABCD a	4.33CD ab	0.00A b	3.96
1 pikloram	9.31ABC a	8.38BC a	0.00A b	5.89
2 pikloram	3.87CD b	15.67A a	0.00A b	6.51
4 pikloram	9.98Ab a	4.67CD b	0.00A b	4.88
6 pikloram	2.42D b	10.75B a	0.00A b	4.39
8 pikloram	6.47ABCD a	0.33D b	0.00A b	2.27
Ortalama	7.01	6.43	0.00b	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Tulipa armena'da kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi Çizelge 4.12'de verilmiştir. Farklı 2,4-D ve pikloram dozları birlikte değerlendirildiğinde her ikisinde benzer

bir etki göstermiştir. Çizelgede görüldüğü gibi en yüksek sürgün sayısı 15.67 adet ile fotoperyot muamelede elde edilirken, soğuk uygulamasından her iki büyüme düzenleyicide de sonuç alınamamıştır.

Kültür başlangıcından 14 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancıklar oluşmuştur. Eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ilişkin değerlere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğan sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	S.D	K.O	S.D
Genel	89	-	-	-	-
Ortam	9	39.211	5.76**	12.84	5.37**
Muamele	2	148.23	21.77**	9.52	3.98*
Ort.*muamele	18	35.44	5.21**	6.28	2.63**
Hata	60	6.81	-	2.39	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyine önemli

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi, eksplant başına sürgün sayısına ortamın, muamele ve ortam x muamelenin interaksiyonun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına soğan sayısına ortamın etkisi 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Muamelenin etkisi 0.05 düzeyinde önemli, ortam x muamelenin interaksiyon etkisi ise 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D pikloram ve dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg/l	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)				Eksplant başına soğancık sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.
0.5 2,4-D	3.00CD a	0.00B a	0.00A a	1.00	0.00B a	0.00B a	0.00A a	0.00
1 2,4-D	6.00BC a	0.00B b	0.00A b	2.00	3.33A a	0.00B a	0.00A a	1.11
2 2,4-D	0.00D a	0.00B a	0.00A a	0.00	0.00B a	0.00B a	0.00A a	0.00
4 2,4-D	0.33D a	0.00B a	0.00A a	0.11	0.33B a	0.00B a	0.00A a	0.11
0.5 pikloram	9.83AB a	0.00B b	0.00A b	3.28	0.00B a	0.00B a	0.00A a	0.00
1 pikloram	7.63AB a	2.33B b	0.00A b	3.32	5.83A a	5.00A a	0.00A a	3.61
2 pikloram	5.83BC b	13.25A a	0.00A c	6.36	0.00B b	5.00A a	0.00A b	1.67
4 pikloram	11.67A a	0.00B b	0.00A b	3.89	0.00B a	0.00B a	0.00A a	0.00
6 pikloram	0.00D a	0.00B a	0.00A a	0.00	0.00B a	0.00B a	0.00A a	0.00
8 pikloram	0.00D a	3.33B a	0.00A a	1.11	0.00B a	0.00B a	0.00A a	0.00
Ortalama	4.43	1.89	0.00		0.95	1.00	0.00	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Tulipa armena'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı pikloram ve 2,4-D dozlarının eksplant başına sürgün ve soğan sayısına etkisi Çizelge 4.14'te verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi soğuk uygulaması sürgün ve soğancık oluşumunu engellemiştir. Karanlık uygulamada ise pikloramın farklı dozlarında sürgün oluşumu gözlenmiştir. Eksplant başına en yüksek sürgün oluşumu 13.25 adet ile 2 mg/l pikloram içeren besin ortamda fotoperyot uygulamada elde edilirken, en yüksek soğancık üretimi ise 5.83 adet ile 1 mg/l pikloram içeren ortamda karanlık uygulamasından elde edilmiştir (Şekil 4.7 ve 4.8).



Şekil 4.7. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 1mg/l 2,4-D içeren ortamda soğancık oluşumu (karanlık muamele)



Şekil 4.8. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 1 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık gelişimi (fotoperyot muamele)

Kültür başlangıcından 16 ay sonra eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ilişkin değerlere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir.

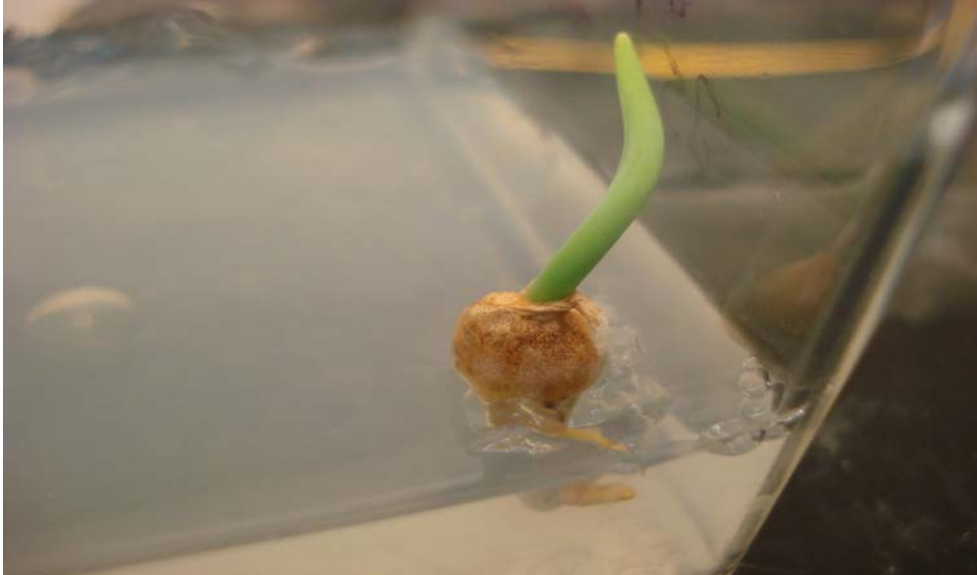
Çizelge 4.15. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğan sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	89	-	-	-	-
Ortam	9	60.73	7.53**	38.50	3.29**
Muamele	2	245.85	30.46**	55.17	4.71*
Ort.*muamele	18	49.54	6.14**	46.79	3.99**
Hata	60	8.07	-	11.71	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyine önemli

Çizelge 4.15'de görüldüğü gibi eksplant başına sürgün sayısına ortamın, muamele ve ortam x muamele interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Eksplant başına soğan sayısına ortamın etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına soğan sayısına muamelenin etkisi ise 0.05 düzeyinde önemli, ortam x muamelenin interaksiyon etkisi ise 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Gözlenen farklılığının önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.16'da verilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 2 mg/l pikloram içeren ortamda soğancık gelişimi (karanlık muamele)

Çizelge 4.16. *Tulipa armena*'da kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi

Büyüme düzenleyiciler mg/l	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)				Eksplant başına soğancık sayısı (adet)			
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	Muamele 3 (Soğuk)	Ort.
0.5 2,4-D	3.00C a	0.00A a	0.00A a	1.00	1.33C a	0.00Ba	0.00A a	0.44
1 2,4-D	16.67A a	0.00A b	0.00A b	5.56	5.00BC a	0.00B a	0.00A a	1.67
2 2,4-D	0.00C a	0.00A a	0.00A a	0.00	0.00C a	0.00B a	0.00A a	0.00
4 2,4-D	0.33C a	0.00A a	0.00A a	0.11	0.33C a	0.00B a	0.00A a	0.11
0.5 pikloram	1.33C a	0.00A a	0.00A a	0.44	8.43AB a	0.00B b	0.00A b	2.81
1 pikloram	19.07A a	2.89A b	0.00A a	7.32	11.30A a	2.17B b	0.00A b	4.49
2 pikloram	3.33C a	3.33A a	0.00A a	2.22	0.00C b	16.42A a	0.00A b	5.47
4 pikloram	8.67B a	0.00A b	0.00A b	2.89	0.00C a	0.00B a	0.00A a	0.00
6 pikloram	0.00C a	0.00A a	0.00A a	0.00	0.00C a	0.00B a	0.00A a	0.00
8 pikloram	0.00C a	0.00A a	0.00A a	0.00	0.00C a	0.00B a	0.00A a	0.00
ortalama	5.24	0.62	0		2.64	1.86	0.00	

Aynı sütunda büyük harfler ve aynı satırdaki küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Tulipa armena'da kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı 2,4-D ve pikloram dozlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi Çizelge 4.16'da verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı için uygulanan muameleler ve farklı 2,4-D ve pikloram dozları birlikte düşünüldüğünde en yüksek sürgün sayısı 19.07 adet ile 1 mg/l pikloram içeren ortamda karanlık muamelede elde edilmiştir. Fotoperyot muamelede ise sürgün sayısının çok az olduğu görülmektedir. Eksplant başına soğancık sayısı incelendiğinde ise karanlık muamelede soğancık oluşumu gözlenmede en yüksek soğancık oluşumu 16.42 adet ile 2 mg/l pikloram içeren ortamda fotoperyot muamelede elde edilmiştir. Soğuk uygulamasında ise sürgün ve soğancık oluşumu gözlenmemiştir

4.1.3. *Tulipa sintenisi*'de tek aşamalı 2. protokol ile soğancık üretimi

Tulipa sintenisi'de embriyoların bir kısmı protokol 1'deki gibi kültüre alınmış, diğer kısmı ise 4 mg/ l BAP ve 0.5 -1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. İlk 2 ay karanlıkta daha sonra 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperyotta kültüre alınmış ve 4 haftada bir alt kültüre alınarak gelişimleri gözlenmiştir. Çalışmada 14. ayda sürgün sayım yapıldıktan sonra soğancık oluşumunda olumlu etki ettiği bilinen soğuk uygulama yapılmıştır. Kültürler 1 ay + 4 °C de bekletilmiştir. Daha sonra çıkan kültürler 60 g/l sukroz ve 100 µM Jasmonik asit içeren MS ortamında 1 ay kültüre alınmıştır. 16. ay sonunda sürgünlerin çoğunun soğancığa dönüştüğü görülmüştür. Kontrol olarak normal kültür ortamında bırakılan eksplantlarda ise 16. ay sonunda soğancık oluşumu gözlenmemiştir. Yapılan bu denemeler için 5. ve 9. 14. aylarda sürgün ve 16. ayda soğancık sayımı yapılmıştır. 16 aydan sonra oluşan soğancıklar bir süre 20 g/l sukroz içeren MS ortamında bekletildikten sonra köklendirmeye alınmıştır. 5. ay sonunda sürgün oluşturan eksplant oranı her iki ortam için de % 100 olduğu için analiz yapılmamıştır (Şekil 4.10). Buna göre *Tulipa sintenisi*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. *Tulipa sintenisi*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı		
	S.D	K.O	F
Genel	5	-	-
Ortam	1	10.14	2.99
Hata	4	3.39	

Çizelge 4.17'de görüldüğü gibi eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizinde ortam önemsiz bulunmuştur. Sürgün sayısına ait sayısal değerler ise Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.18. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamların eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Ortam	Eksplant başına sürgün Sayısı (adet)
4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA	6.33
4 mg/l BAPve 1 mg/l NAA	9.33

Çizelge 4.18. incelendiğinde her iki ortamında sürgün sayısını benzer oranda etkilediği görülmektedir. Buna göre en yüksek sonuç 9.33 adet ile 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir.



Şekil 4.10. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 5 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda sürgün gelişimi

Kültür başlangıcından 9 ay sonra yine eksplant başına oluşan sürgün sayıları kayıt edilmiştir. Bu sonuçlara ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.19'da verilmiştir.

Çizelge 4.19. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 9 ay sonra 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı		
	S.D	K.O	F
Genel	5	-	-
Ortam	1	196.82	10.37*
Hata	4	18.02	

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.19'da eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi incelendiğinde ortam 0.05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan t testi sonuçları Çizelge 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.20. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Ortam	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)
4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA	9.00 b
4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA	22.16 a

Tulipa sintenisii'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi Çizelge 4.20'de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde en yüksek sürgün sayısı 22.16 ile 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda sürgün gelişimi

Kültür başlangıcından 14 ay sonra yine eksplant başına oluşan sürgün sayıları kayıt edilmiştir. Bu sonuçlara ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.21'de verilmiştir

Çizelge 4.21. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı		
	S.D	K.O	F
Genel	5	-	-
Ortam	1	166.43	2.53
Hata	4	65.69	-

Çizelge 4.21'de görüldüğü gibi eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizinde ortam önemsiz bulunmuştur. Sürgün sayılarına ait sayısal değerler Çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Ortam	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)
4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA	11.40
4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA	21.93

Çizelge 4.22'de *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi incelenmiştir. Her iki ortamda sürgün sayısına benzer oranda etkilemiştir. 14 ay sonunda en yüksek sürgün sayısı 21.93 adet ile 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda sürgün gelişimi

Kültür başlangıcından 16 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancıklar oluşmuştur. Eksplant başına oluşan sürgün ve soğancık sayıları kayıt edilmiştir. Bu sonuçlara ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.23'te verilmiştir

Çizelge 4.23. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1mg/l NAA içeren ortamlarının eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	F		
Genel	5	-	-		
Ortam	1	64.68	0.59	80.67	7.35*
Hata	4	109.80	-	9.67	

Çizelge 23'de eksplant başına sürgün sayısına ait varyans tablosu incelendiğinde ortam önemsiz çıkmıştır. Eksplant başına soğancık sayısı incelendiğinde 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün ve soğancık sayısına ait sonuçlar ise Çizelge 4.24'de verilmiştir

Çizelge 4.24. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5-1 mg/l NAA içeren ortamların eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi

Ortam	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	Eksplant başına soğancık sayısı (adet)
4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA	20.53	14.67b
4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA	27.10	22.00a

Çizelge 4.24'de görüldüğü gibi eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde en yüksek sonuç 27.10 adet ile 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda, eksplant başına en yüksek soğancık sayısı da yine 22.00 adet ile aynı ortamda elde edilmiştir (Şekil 4.13 ve 4.14).



Şekil 4.13. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda soğancık ve sürgün oluşumu



Şekil 4.14. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 16 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamda soğancık oluşumu

4.1.4. *Tulipa sintensis* 'de süspansiyon kültürü denemesi

Farklı konsantrasyonlarda 2,4-D ve pikloram içeren kültür ortamlarında olgunlaşmamış embriyo eksplantı yaklaşık 3 ay kadar kallus oluşumu için beklenmiş bunların içinden yumuşak ve belli büyüklükteki kalluslar seçilip sıvı B5 ortamı ve yine oksinle birlikte kültüre alınmıştır. 10 gün bu ortamda büyütüldükten sonra BOİ2Y ortamına ekimler yapılmıştır. Ekim yapılırken dipten hücrelerin geliştiği yerden pastör pipetiyle alınıp petriye ekim yapılmış petrideki fazla sıvı ortam alınıp atılmış ve gelişimleri takibe alınmıştır. Çok fazla yoğun bir süspansiyon kültürü elde edilemediğinden bu çalışmada kayda değer bir sonuca ulaşılammıştır (Şekil 4.15 ve 4.16).



Şekil 4.15. *Tulipa sintensis*' ye ait 2 mg/l pikloram içeren ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantından 3 ayda gelişen kalluslar

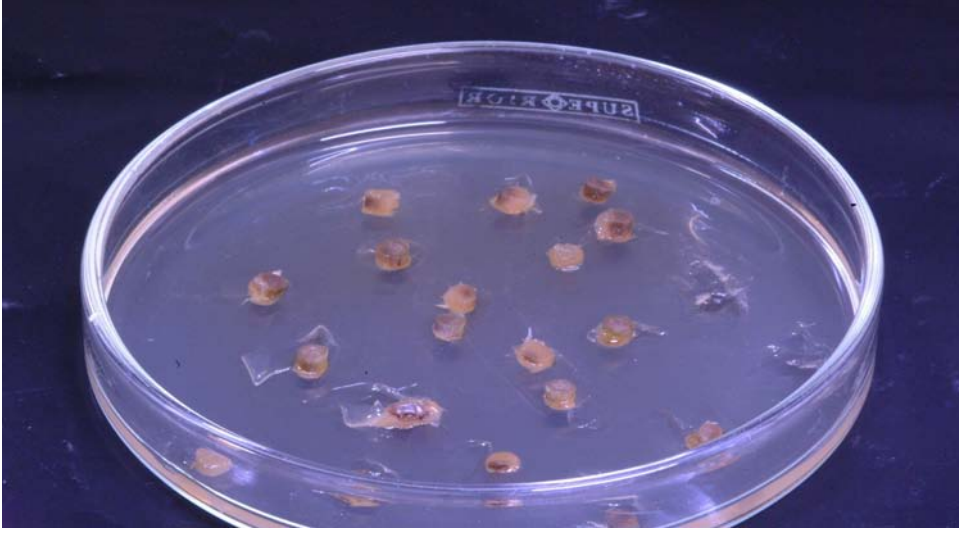


Şekil 4.16. *Tulipa sintensisii* 'de süspansiyon kültürü

4.2. 2006 Yılında Yapılan Çalışmalar

4.2.1. Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organları Kültürü

Tulipa armena, *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*) ve *Tulipa sintensisii*'nin tarlada ilk çıkan yapraklarından deneme kurulmuştur. Bu denemede yapraklar toplandıktan sonra magnetik balık kullanılmadan % 80 lik çamaşır suyunda 5 dakika, % 50 lik çamaşır suyunda 10 dakika sterilizasyon yapılmıştır. 3 defa 5 dakika steril saf suyla durulama yapılmıştır. Şişe içinde çalkalanıp karanlıkta kültüre alınmıştır. Ayrıca yaprak sapı, yaprak tabanı pistil, çiçek sapı, anter de kültüre alınmıştır. Bu eksplantlar çiçek açmadan tomurcuk halinde iken temin edilmiştir Çiçek sapı ve pistil diskler halinde kesilip ortama gelişim yönüne uygun şekilde yerleştirilmiştir. Bu çalışmada eksplantlar önce karanlıkta sonra fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Pistil hariç diğer eksplantlar yüzey sterilizasyondan etkilenmişlerdir. Pistil eksplantında kültür başlangıcında oldukça iyi sonuçlar alınmıştır. Kültürler 16/8 saat fotoperiyota alındıktan sonra kararmalar meydana gelmiştir (Şekil 4.17 ve 4.18).



Şekil 4.17. *T. sintenisii*'de 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında çiçek sapı kültürü



Şekil 4.18. *T. sintenisii*'de 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında pistil kültürü

4.2.2 *Tulipa sintenisii*'de olgunlaşmamış embriyo kültürü

Oldukça fazla miktarda meyve temin edilen bu türde çok daha iyi sonuç alabilmek için farklı ortamlarda kültüre alınmıştır. Denemede materyal-yöntem kısmında verilmiş olan 23 adet ortam kullanılmıştır Bu ortamlar kullanılarak embriyolar karanlık ve 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperyotta kültüre alınmışlardır. Kültürde kullanılan 23 adet ortamdan

sadece 12 ortamda sonuç alınmıştır. Bu çalışmada 8. ayda sürgün ve 12. ayda sürgün ve soğancık sayımları yapılmıştır. Kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi Çizelge 4.25’de verilmiştir.

Çizelge 4.25. *Tulipa sintenisii*’de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Sürgün oluşturan eksplant oranı			Eksplant başına sürgün sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	71	-	-	-	-
Ortam	11	2691.26	5.90**	13.618	1.15
Muamele	1	1147.12	2.51	56.02	4.73*
Ort.*muamele	11	1759.18	3.85**	16.12	1.36
Hata	48	456.57	-	11.86	-

Çizelge 4.25’de görüldüğü gibi kültür başlangıcından 8 ay sonra, sürgün oluşturan eksplant oranında ortam 0.01 düzeyinde önemli iken muamele tek başına önemsiz, muamele ve ortam arasında 0.01 önem düzeyinde interaksiyon bulunmuştur. İki muamele arasındaki farkı belirlemek için t testi yapılmış ve t değerleride tabloya eklenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde sadece muamele 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bunlara ait Duncan ve t-testi sonuçları Çizelge 4.26’da verilmiştir. İki muamele arasındaki farkı belirlemek için yine t testi yapılmış t değeride (2.092**) 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur.



Şekil 4.19. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında B5 vit, 4 mg/l BAP, 1 mg/l NAA ve 30g/l sukroz içeren MS besin ortamında sürgün, soğancık ve stolon oluşumu



Şekil 4.20. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 0.1 mg/l Kinetin, 0.5 mg/l 2.4-D, % 0.75 PEG (4000), ve 30 g/l sukroz içeren MS besin ortamında sürgün, soğancık ve stolon oluşumu

Çizelge 4.26. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Ortamlar	Sürgün oluşturan eksplant oranı (%)		t değeri	Ort.	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Ort.
	Muamale 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)			Muamale 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)	
1-SH, 0.5 mg/l, 2,4-D, 30 g/l sukroz	86.67AB	86.67A	0.293	86.67	2.67	6.84	4.76
2-SH, 2 mg/l 4 CPA, 30 g/l sukroz	93.33 AB	86.67A	0.707	90.00	2.38	11.25	6.82
3-N6, 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2.4-D, 30 g/l sukroz	53.33BCD	80.00A	1.736	66.5	2.89	7.03	4.96
4-SH, 2 mg/l TDZ, 5mg/l dikamba,30 g/l sukroz	80.00 AB	100.00A	1.897*	90.00	3.70	3.20	3.45
5-MS, B5 vit, 4 mg/l BAP 1 mg/l NAA, 30g/l sukroz	60.00ABC	13.33B	2.567	36.66	2.20	3.70	2.95
6-MS, B5 vit, 0.1 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l kinetin, 30 g/l sukroz	26.67CDE	60.00A	0.881	43.34	2.17	4.33	3.25
7-MS, 2 mg/l 2.4-D, 60 g/l sukroz,	20.00DE	73.33A	7.732*	46.67	5.00	5.78	5.39
8-MS, 2 mg/l Dikamba, 60 g/l sukroz	93.33 AB	66.67A	0.676	80.00	3.07	3.68	3.38
9-MS 0.1 mg/l Kinetin 0.5 mg/l , 2,4-D, %0.75 PEG(4000), 30 g/l sukroz	93.33 AB	60.00A	2.659	76.67	6.35	6.39	6.37
10-MS, 1 mg/l BAP, 1 mg/l Pikloram, 30g/l sukroz	100.00A	66.67A	8.292*	83.34	2.20	1.64	0.96
11-MS,B5 vit,400 mg/lglutamin, 100mg/l arjinin ve asparajin, 1 mg/l 2.4-D, 1 mg/l kinetin, 30 g/l sukroz	100.00A	6.67B	9.164	53.34	4.80	0.68	2.74
12-MS, 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA, 60 g/l sukroz	6.67 E	20.00B	0.422	13.36	2.00	6.11	4.06
Ortalama	60.00	60.00			5.05	3.28	

* 0.05 düzeyinde önemli

Tulipa sintenisii'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi Çizelge 4.26.'da verilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşum oranı % 100.00 ile 1 mg/l BAP, 1 mg/l Pikloram, 30 g/l sukroz B5 vit, 400 mg/l glutamin, 100 mg/l arjinin ve asparajin, 1 mg/l 2,4-D, 1 mg/l kinetin, 30g/l sukroz içeren MS besin ortamlarında karanlık uygulamada elde edilirken, fotoperyot uygulamada ise; %100.00 ile 2 mg/l TDZ, 5 mg/l dicamba ve 30 g/l sukroz içeren SH besin ortamda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde ise karanlık uygulama için 6.35 adet ile 0.1 mg/l Kinetin 0.5 mg/l 2,4-D, PEG, 30 g/l sukroz içeren MS besin ortamında, fotoperyot uygulamada ise 11.25 adet ile 2 mg/l 4 CPA ve 30 g/l sukroz içeren SH besin ortamında elde edilmiştir. Eksplantlar 8. ay sayımlarından sonra 100 µM JA, 1 mg/l NAA ve 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Bu aşamadan 4 ay sonra tekrar sayım yapılmıştır. Çizelge 4.27 'de 12. aya ait sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 4.27. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 12 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında farklı ortamlarla birlikte JA ve NAA'in eksplant başına sürgün sayısı soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	71	-	-	-	-
Ortam	11	3.12	0.79	3.71	2.43*
Muamele	1	4.09	1.03	0	0.20
Ort.*muamele	11	5.02	1.26	2.04	1.34
Hata	48	3.99	-	1.53	

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.27.'de kültür başlangıcından 12 ay sonra, eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde ortam muamele ve interaksiyon önemsiz bulunmuştur. Eksplant başına soğancık sayısı incelendiğinde ortam 0.05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.28'de verilmiştir.

Çizelge 4.28. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 12 ay sonra farklı ortamlarla birlikte JA ve NAA'in eksplant başına sürgün ve eksplant başına soğancık sayısına etkisi

Ortamlar	Eksplant başına sürgün sayısı		Ort.	Eksplant başına soğancık sayısı		Ort.
	Muamele 1 (Karanlık)	Muamele 2 (Fotoperyot)		Muamele 1 (Karanlık)	Muamele2 (Fotoperyot)	
1-SH, 0.5 mg/l, 2,4-D, 30g/l sukroz	3.24	2.75	3.00	2.00AB	0.67B	1.33
2-SH, 2 mg/l 4 CPA, 30 g/l sukroz	2.39	3.33	2.86	0.33B	1.67AB	1.00
3-N6, 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2,4-D,30g/l sukroz	1.00	4.44	2.72	0.33B	0.00B	0.17
4-SH, 2 mg/l TDZ, 5 mg/l Dikamba,30 g/l sukroz	3.70	3.20	3.45	1.33AB	0.67B	1.00
5-MS, B5 vit, 4 mg/l BAP, 1 mg/l NAA,30g/l sukroz	1.33	2.70	2.01	0.67B	2.00AB	1.33
6-MS, B5 vit, 0.1 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l kinetin, 30 g/l sukroz	1.25	2.33	1.79	0.00B	1.67AB	0.83
7-MS, 2 mg/l 2,4-D,60 g/l sukroz	2.33	2.83	2.58	1.00AB	0.67B	0.83
8-MS, 2 mg/l Dikamba, 60 mg/l sukroz	3.50	4.43	3.97	3.17A	3.33A	3.25
9-MS, 0.1 mg/l Kinetin 0.5 mg/l 2,4-D, % 0.75 PEG (4000), 30 g/l sukroz	0.67	4.27	2.47	0.92 AB	2.17AB	1.54
10-MS, 1 mg/l BAP, 1 mg/l Pikloram, 30 g/l sukroz	2.40	0.67	1.53	0.92AB	0.00B	0.46
11-MS, B5vit,400 mg/l glutamin, 1mg/l arjininve asparajin, 1 mg/l 2,4-D, 1 mg/l kinetin,30 g/l sukroz	2.77	0.67	1.17	1.67AB	0.00B	0.83
12- 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA, 60 g/l sukroz	3.33	2.00	2.67	1.00AB	0.00B	0.50
Ortalama	2.33	2.80		1.11	1.07	

Tulipa sintenisii'de kültür başlangıcından 12 ay sonra farklı ortamlarla birlikte JA ve NAA'in eksplant başına sürgün ve eksplant başına soğancık sayısına etkisi Çizelge 4.28'de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı için kullanılan ortamlar ve uygulanan muameleler birlikte düşünüldüğünde en yüksek sonuç fotoperyot uygulamasında 4.44 adet ile 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz içeren N6 besin ortamında fotoperyot uygulamada elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı incelendiğinde ise en yüksek sonuç 3.33 adet ile 2 mg/l Dikamba, 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında yine fotoperyot uygulamada elde edilmiştir (Şekil 4.21 ve 4.22).



Şekil 4.21. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 12 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 0.1 mg/l Kinetin 0.5 mg/l 2,4-D, % 0.75 PEG (4000), 30 g/l sukroz içeren MS besin ortamında sürgün, soğancık oluşumu



Şekil 4.22. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 12 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantında 2 mg/l Dikamba, 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu

4.2.3. *Tulipa sintenisii*'de Olgunlaşmış Embriyo Kültürü

Tulipa sintenisii'de olgunlaşmamış embriyodan elde edilecek sonuç ile karşılaştırma yapmak için olgun embriyo ile de deneme kurulmuştur. Bu çalışmada meyvenin oda ısısında bir süre olgunlaşması beklenmiştir. Daha sonra yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Materyal-yöntemde verilen 23 farklı ortam denenmiştir. Kullanılan bu ortamlardan sadece 7 ortamda sonuç elde edilebilmiştir. Kültür başlangıcından 8 ay sonra sürgün ve 12 sonra ise sürgün ve soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi Çizelge 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.29. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi

V.K	Sürgün oluşturan eksplant oranı			Eksplant başına sürgün sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	20	-	-	-	-
Ortam	6	9.02	3.41	9.02	3.41*
Hata	14	2.65	-	2.65	-

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.29.'da görüldüğü gibi, sürgün oluşturan eksplant oranında ortam önemsiz bulunmuştur. Eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde ise ortam 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.30. *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi

Ortam	Sürgün oluşturan eksplant oranı (%)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)
SH, 0.5 mg/l, 2,4-D, 30 g/l sukroz	26.67	0.89 C
SH, 2 mg/l 4 CPA, 30 g/l sukroz	40.00	3.50 ABC
N6, 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2,4-D 30 g/l sukroz	60.00	6.25 A
SH, 2 mg/l TDZ, 5 mg/l dicamba, 30 g/l sukroz	60.00	4.00ABC
MS, B5 vit, 0.1 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l kinetin, 30 g/l sukroz	66.67	3.11ABC
N6, 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz	80.00	5.38AB
MS, 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA, 60 g/l sukroz	80.00	3.11BC
Ortalama	59.05	3,75

Çizelge 4.30.'da *Tulipa sintenisii*'de kültür başlangıcından 8 ay sonra olgunlaşmış embriyo eksplantında farklı ortamların sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi incelenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı açısından en iyi ortam 6.25 adet sürgün ile 0.5 mg/l Kinetin, 0.1 mg/l 2,4-D içeren N6 besin ortamı olmuştur. Bu aşamadan sonra eksplantlar 100 µM JA, 1 mg/l NAA, 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Bu aşamadan 4 ay sonra tekrar sayım yapılmıştır. Bu sonuçlara ilişkin varyans analizi Çizelge 4.31'de verilmiştir.

Çizelge 4.31. *Tulipa sintenisii*'de olgunlaşmış embriyoda kültür başlangıcından 12 ay sonra farklı ortamların eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına ait varyans analizi

V.K	Eksplant başına sürgün sayısı			Eksplant başına soğancık sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	20	-	-	-	-
Ortam	6	3.12	0.82	2.54	2.44
Hata	14	3.82	-	1.04	-

Çizelge 4.31’de görüldüğü gibi, eksplant başına sürgün ve soğancık sayısında ortam önemsiz çıkmıştır. Bu çalışmaya ait sonuçlar Çizelge 4.32’de verilmiştir.

Çizelge 4.32. *Tulipa sintenisii*’de olgunlaşmış embriyoda kültür başlangıcından 12 ay sonra farklı ortamların eksplant başına sürgün ve soğancık sayısına etkisi

Ortam	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	Eksplant başına soğancık sayısı (adet)
SH, 0.5 mg/l, 2,4-D, 30 g/l sukroz	0.00	0.00
SH, 2 mg/l 4 CPA, 30 g/l sukroz	2.67	2.00
N6, 0.5 mg/l Kinetin, 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz	1.33	2.00
SH, 2 mg/l TDZ, 5 mg/l dicamba, 30 g/l sukroz	2.67	0.67
MS, B5 vit, 0.1 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l kinetin, 30 g/l sukroz	0.67	0.00
N6, 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz	1.17	1.73
MS, 60 g/l sukroz 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA	0.67	0.33
ortalama	1.31	0.96

Çizelge 4.32. incelendiğinde 12 ay sonucunda eksplant başına sürgün sayısı bakımından en yüksek sonuç 2.67 adet ile 2 mg/l 4 CPA ve 2 mg/l TDZve 5 mg/l dicamba içeren SH besin ortamlarında, eksplant başına soğan sayısı incelendiğinde ise en yüksek sonuç 2.00 adet ile 2 mg/l 4 CPA, 30 g/l sukroz içeren SH besin ortamında ve 0.5 mg/l Kinetin 0.1 mg/l 2,4-D, 30 g/l sukroz içeren N6 besin ortamında elde edilmiştir.

4.2.4. *Tulipa sintenisii* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi

Tohumlar + 4 °C'de yaklaşık 3 hafta bekletildikten sonra % 80'lik ticari çamaşır suyunda 20 dakika steril edilmiştir. Bu işlemden sonra sırasıyla farklı yöntemler kullanılarak çimlendirme denemeleri kurulmuştur. Sterilizasyondan sonra tohumlar MSO ortamına konulmuştur. İkinci olarak sterilizasyondan sonra çimlendirme kağıdına konulmuştur. Potasyum nitrat % 1 ve Giberellik asitin % 0.5 lik çözeltileri hazırlanıp bu solüsyonlarda 12 saat aydınlıkta 12 saat karanlıkta bekletildikten sonra 3 tekerrür yine aydınlığa 3 tekerrür karanlık inkübatöre konulmuştur. Tüm bu çimlendirme çalışmalarının hiç birinden sonuç alınamamıştır. Daha sonra tohumlar steril edildikten sonra içindeki embriyosu çıkarılıp MS besin ortamına konulmuştur. Bu ortamda zayıf da olsa çıkış gözlenmiştir. Ama düzgün bir çimlendirme elde edilememiştir. En son olarak tohumlar çimlendirme kağıdı arasına konup üzeri bir miktar su ile kapatıldıktan sonra + 4 ° C'de 6 hafta bekletilmiştir. % 90 oranında çimlendirme başarılmıştır. Çimlenen tohumlar sera şartlarında toprağa aktarılmıştır (Şekil 4.23.).



Şekil 4.23. *Tulipa sintenisii* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi

4.3. Soğan Pul Yapraklarının Kültürü

4.3.1. *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*)'nın soğan pul yapraklarının kültürü

Doğal yetiştirme alanından toplanan *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*)'ya ait soğanların bir kısmı toplanır toplanmaz, bir kısmı ise +4 °C de 45 gün bekletildikten sonra çalışmaya başlanmıştır. Yüzey sterilizasyonu tarif edilen şekilde yapılmıştır. Soğanlar birkaç damla deterjanlı su ile yıkayıp sonra 2-3 saat çeşme suyu altında tutulmuştur. Kabin içine alınan materyal 3 dakika saf etil alkolde bekletilmiştir. Daha sonra yüzey sterilizasyonuna geçilmiştir. 20 dakika % 35 lik sodyum hipokloridle steril edilmiş ve 3 kez 5 dakika olmak üzere saf su ile durulanmıştır. Endemik olan bu türün soğan materyali doğal alanında oldukça az sayıda olduğu için herhangi bir bulaşıklık ihtimaline karşı soğanlar kesilmeden direkt olarak MS ortamına konulup sürekli kontrol altında tutulmuştur. Soğanlarda fungusla bulaşıklık tespit edilir edilmez 24 saat fungusla muamele edilmiştir. Bu işlemden sonra kabin içerisinde tekrar yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. 3-5 gün içerisinde yine enfeksiyon rastlanan eksplantlar bu defa 48 saat çalkalanarak fungusla muamele edilmiştir. Yüzey sterilizasyonu şartları ağırlaştırılmıştır. Bu defa etil alkol muamelesinden sonra % 60'lık sodyum hipokloritle yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Çok az sayıda soğanda yüzey sterilizasyonu sağlanmıştır. Bulaşıklık tamamen ortadan kalktıktan sonra steril kabin içerisinde soğanların dış pul yaprakları çıkartılıp atıldıktan sonra kalan soğan kısmı denemelerde kullanılmıştır. Eksplant olarak, dörde bölünmüş, dört pul yapraklı 4-5 mm genişliğinde 8-10 mm uzunluğunda ve 2 mm kadar bazal doku içeren soğan eksplantları kullanılmıştır. Bu eksplantlar 2 mg/l Glisin, 2.5 mg/l Fe₂(SO₄)₃ ve 30 g/l sukroz, 4 mg/l Kinetin ve 0.25, 0.5 mg/l 2.4-D ya da 1, 2 ve 4 BAP (mg/l), 0.25 veya 0.5 KNA (mg/l) içeren MS besin ortamına konulmuş 6 ay boyunca 4 haftada bir alt kültüre alınarak gelişimleri izlenmiştir. Bu süre içerisinde herhangi bir sonuç alınamamıştır. Yapılan son alt kültürde ortamdaki sukroz miktarı 60 g/l'ye çıkarıldığında yaklaşık 15 gün sonra sürgün çıkışı gözlenmiş ve bu eksplant magentaya aktarılmıştır (Şekil 24).



Şekil 4.24. *Tulipa karamanica* (= *Tulipa cinnabarina*)'da kültür başlangıcından 8 ay sonra 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l KNA içeren MS besin ortamında soğan pul yaprağından sürgün gelişimi

4.3.2. *Tulipa humulis*'de soğan pul yapraklarının kültürü

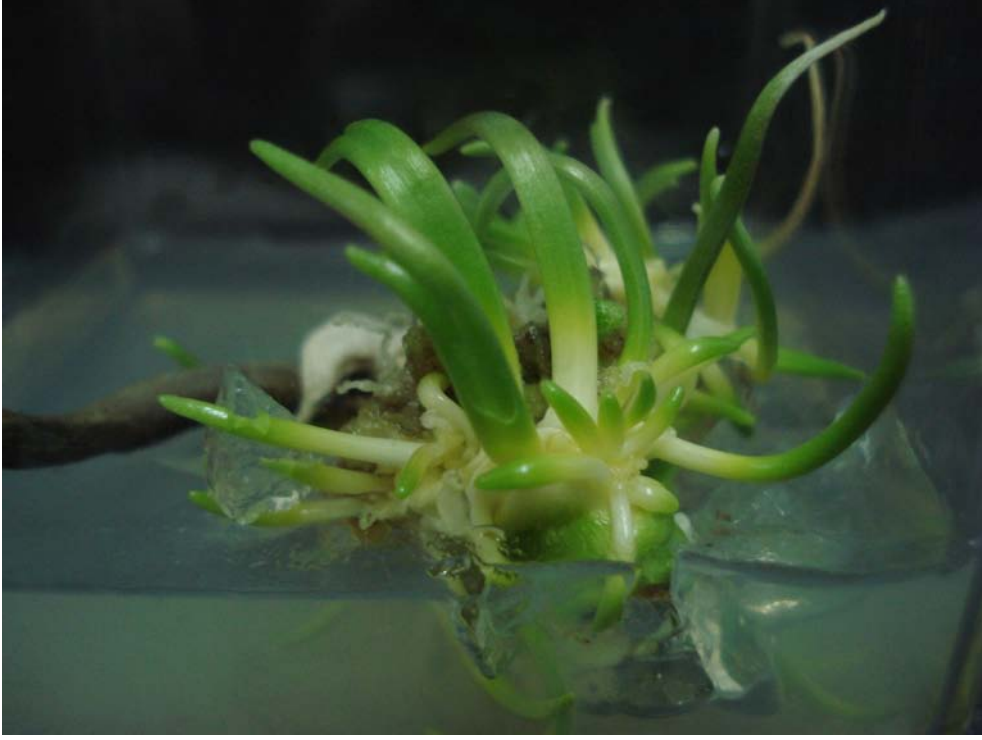
Tulipa humulis'e ait soğanlar Pozantı-Taşkent-Sarıveliler yapılan arazi çalışmasından temin edilmiştir. Soğanlar araziden toplandıktan sonra 6-8 hafta karanlıkta, oda ısısında daha sonra dormansiyi kırmak için + 4 °C de 10 hafta bekletildikten sonra çalışmaya başlanmıştır. *Tulipa humulis*'e ait soğanların yüzey sterilizasyonu tarif edilen şekilde yapılmıştır. Soğanlar birkaç damla deterjanlı su ile yıkayıp sonra 2-3 saat çeşme suyu altında tutulmuştur. Bu işlemden sonra ve kabin içine alınan materyal 3 dakika saf etil alkolde bekletilmiştir. Daha sonra yüzey sterilizasyonuna geçilmiştir. 25 dakika % 75 lik sodyum hipokloritle birkaç damla Tween 80 de eklenerek steril edilmiş ve 3 kez 5 dakika olmak üzere saf su ile durulanmıştır. Herhangi bir bulaşıklık ihtimaline karşı soğanlar kesilmeden direkt olarak MS besin ortamına konulup sürekli kontrol altında tutulmuştur. Soğanlarda fungusla bulaşıklık ön denemelerde gözlenen kadar fazla olmamıştır. Bulaşıklık tamamen ortadan kalktıktan sonra kalan çok az sayıda soğanla deneme kurulmuştur. Eksplant olarak; dörde bölünmüş, bazal doku içeren soğan parçaları kullanılmıştır. Bu eksplantlar 2 mg/l Glisin, 2.5 mg/l Fe₂(SO₄)₃ ve 30 g/l sukroz, 0.25-0.5 mg/l KNA, 1-4 mg/l BAP, 0.2-0.4 mg/l TDZ, 0.25 mg/l NAA, 1-2 mg/l Zeatin 0.5 mg/l NAA, içeren MS

besin ortamına konulmuştur. Deneme kurulduktan sonra da bazı eksplantlarda fungus ile bulaşıklık gözlenmiştir (Şekil 4.25). Bu bulaşıklığın endojen olduğu düşünülmüştür. Bulaşık olmayan birkaç petri ile çalışmaya devam edilmiştir.



Şekil 4.25. *Tulipa humulis*'te kültür başangıcından 1 hafta sonra soğan pul yaprağı eksplantında gözlenen bulaşıklık

PPM'li sterilizasyon: Materyalin bir kısmı 10-12 hafta karanlık odada daha sonrada + 4 °C de 10 hafta bekletilmiştir. Bu soğanlar % 4-5 lik PPM (Plant Preservative Mixture) çözeltisine birkaç damla da Tween 80 eklenip 4 saat steril edilerek direkt olarak MS besin ortamına konulmuştur. Bu yöntem de enfeksiyonun ortadan kaldırılmasında etkili olmamıştır. Soğanlar önce % 4-5 lik ppm çözeltisine birkaç damla da Tween 80 eklenip steril edilmiştir. Daha sonra % 1 lik PPM bulunan MS besin ortamına gömülerek yerleştirilmişlerdir. Bu yöntem bulaşıklığı % 75 oranında önlemiştir. Bu aşamadan sonra steril olan soğanlarla deneme kurulduğunda petrilerin çoğunda enfeksiyon ortaya çıkması endojen fungusun PPM kullanımı ile de engellenemediğini göstermiştir. Bulaşıklık olmayan petrilerdeki denemelere devam edilmiştir. Yaklaşık 1 yıl sonrada soğancık oluşumu gözlenmiştir. Bu çalışma ile ilgili yeterli veri olmadığı için istatistiksel analiz yapılmamıştır (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. *Tulipa humulis* 'te kültür başlangıcından 12 ay sonra 2 mg/l Zeatin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğan pul yaprağından sürgün ve soğancık oluşumu

4.3.3. *Tulipa sintenisii* 'de soğan pul yapraklarının kültürü

Tulipa sintenisii soğanları A.Ü Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri .Bölümüne ait deneme tarlasından temin edilmiştir. Ekimden sonra topraktan sökülerek temin edildiği için bekletilmeden çalışma yapılmıştır.

PPM li sterilizasyon: Soğanlar % 4-5 lik PPM çözeltisine birkaç damla da Tween 80 eklenip 4 saat steril edilmiştir. Direkt olarak MS ortamına konulmuşlardır. Bu yöntem bulaşıklığı önlemede yetersiz kalmıştır. Bunun üzerine soğanlar % 4-5'lik PPM çözeltisine birkaç damla da Tween 80 eklenip steril edilmiştir. Daha sonra % 1 lik PPM bulunan MS besin ortamına gömülerek yerleştirilmişlerdir. Bu yöntem bulaşıklığı % 75 oranında önlemiştir. Bu aşamadan sonra steril olan soğanlarla deneme kurulduğunda petrilerin çoğunda bulaşıklığa rastlanması endojen fungusun PPM kullanımı ile de engellenemediğini göstermiştir. Herhangi bir bulaşıklık ihtimaline karşı soğanlar kesilmeden direkt olarak MS besin ortamına konulup

sürekli kontrol altında tutulmuştur. Soğanlarda fungusla bulaşıklık ön denemelerde gözlenen kadar fazla olmamıştır. Bulaşıklık tamamen ortadan kalktıktan sonra soğanlarla deneme kurulmuştur. Eksplant olarak; dörde bölünmüş, bazal doku içeren soğan parçaları kullanılmıştır. Bu eksplantlar 2 mg/l Glisin, 2.5 mg/l Fe₂(SO₄)₃ ve 30 g/l sukroz, 0.25-0.5 mg/l KNA, 1-4 mg/l BAP, 0.2-0.4 mg/l TDZ, 0.25 mg/l NAA, 1-2 mg/l Zeatin, 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamına konulmuştur. Deneme kurulduktan sonra eksplantların tamamında fungus ile bulaşıklık gözlenmiştir.

4.4. Köklendirme Çalışmaları

Elde edilen soğancıklar $\frac{1}{1}$, $\frac{1}{2}$ ve $\frac{1}{8}$ kuvvete MS, 0.5-1 mg/l NAA ya da 0.5-1 mg/l IBA, 0,5 g/l aktif kömür ile 30 g/l sukroz içeren ve 6 g/l agar ile katılaştırılan besin ortamında köklendirilmeye alınmıştır. Köklendirme denemeleri 3 aşamalı şekilde yürütülmüştür. Denemenin bir kısmında kültürler 24 °C'de bir kısmı 15 °C de ve bir kısmı ise ön üşütme tabi tutulduktan sonra (+ 4 °C) yine 15 °C'de kültüre alınmıştır. 24 °C de kültürlerde 3 ay sonunda köklenme olmamıştır. Ön üşütme yapılan ve 15 °C de kültüre alınan soğancıklarda köklenme gerçekleşmiş, köklenme ile beraber stolon oluşumu da görülmüştür. Köklenmeyle ilgili varyans analiz Çizelge 4.33'te verilmiştir. Köklenen bitkiler yine 15 °C yüksek nem koşullarında saksılara aktarılmıştır (Şekil 4.27 ve 4.28).

Çizelge 4.33. *Tulipa sintenisii*'de farklı MS konsantrasyonları, IBA ve NAA'nın köklenme üzerine etkisine ait varyans analizi

V.K	Köklenme oranı			Kök sayısı		Kök uzunluğu	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Genel	35	-	-	-	-	-	-
Ortam	11	351.52	2.26*	3.52	1.96	1.27	2.12
hata	60	155.56	-	1.80	-	0.60	-

Çizelge 4.33'te görüldüğü gibi, köklenme oranı için ortam 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Kök sayısı ve kök uzunluğunda ise önemsiz bulunmuştur. Sayısal değerler Çizelge 4.34'de verilmiştir.

Çizelge 4.34. *Tulipa sintenisii*'de farklı MS konsantrasyonları, IBA ve NAA asitin köklenme üzerine etkisi

Ortamlar	Köklenme oranı (%)	Kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)
MS 0.5 mg/l NAA	26.67A	2.00	1.83
MS 1mg/l NAA	0.00B	0.00	0.00
1/2 MS 0.5 mg/l NAA	0.00B	0.00	0.00
1/2 MS 1 mg/l NAA	6.67AB	0.33	0.33
1/8 MS 0.5 mg/l NAA	26.67A	1.50	0.67
1/8 MS 1 mg/l NAA	26.67A	3.33	1.83
MS 0.5 mg/l IBA	0.00B	0.00	0.00
MS 1 mg/l IBA	0.00B	0.00	0.00
1/2 MS 0.5 mg/l IBA	6.67AB	1.00	0.40
1/2 MS 1 mg/l IBA	13.33AB	2.00	0.50
1/8 MS 0.5 mg/l IBA	6.67AB	0.33	0.33
1/8 MS 1 mg/l IBA	6.67AB	0.33	0.33
Ort	10.00	0.90	0.52

Çizelge 4.34'te *Tulipa sintenisii*'de farklı MS konsantrasyonları, IBA ve NAA asitin köklenme üzerine etkisi incelenmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek köklenme oranı % 26.67 ile 0.5 mg/l NAA içeren MS, 0.5 ve 1 mg/l NAA içeren 1/8 MS ortamlarında görülmüştür. En yüksek kök sayısı 3.33 adet ile 1 mg/l NAA içeren 1/8 MS besin ortamında, en yüksek kök uzunluğu ise 1.83 cm ile 0.5 mg/l NAA içeren MS ve 1 mg/l NAA içeren 1/8 MS besin ortamında elde edilmiştir.



Şekil 4.27. *Tulipa sintenisii*'de 1 mg/l IBA içeren 1/2 MS besin ortamında köklenen soğancıklar



Şekil 4.28. *Tulipa sintenisii*'de 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında köklenen soğancık

Çizelge 4.35. *Tulipa armena* 'da farklı MS konsantrasyonları, IBA ve NAA'nın köklenme üzerine etkisine ait varyans analizi

V.K	Köklenme oranı			Kök sayısı		Kök uzunluğu	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Genel	35	-	-	-	-	-	-
Ortam	11	1223.23	1.50	2.74	1.84	0.81	1.50
24	60	811.11	-	1.49	-	0.54	-

Çizelge 4.35. incelenecek olursa, köklenme yüzdesi, sayısı ve uzunluğu için ortam önemsiz bulunmuştur. Bu çalışmaya ait sonuçlar Çizelge 4.36'da verilmiştir.

Çizelge 4.36. *Tulipa armena* 'da farklı MS konsantrasyonları, IBA ve NAA'in köklenme üzerine etkisi

Ortamlar	Köklenme oranı (%)	Eksplant başına kök sayısı (adet)	Eksplant başına kök uzunluğu (cm)
MS 0.5 mg/l NAA	13.33	1.00	0.33
MS 1 mg/l NAA	0.00	0.00	0.00
1/2 MS 0.5 mg/l NAA	46.67	3.00	1.48
1/2 MS 1 mg/l NAA	33.33	1.33	1.07
1/8 MS 0.5 mg/l NAA	13.33	0.33	0.33
1/8 MS 1 mg/l NAA	6.67	0.33	0.33
MS 0.5 mg/l IBA	0.00	0.00	0.00
MS 1 mg/l IBA	0.00	0.00	0.00
1/2 MS 0.5 mg/l IBA	0.00	0.00	0.00
1/2 MS 1 mg/l IBA	46.67	1.23	0.33
1/8 MS 0.5 mg/l IBA	46.67	1.83	1.12
1/8 MS 1 mg/l IBA	0.00	0.00	0.00
Ort	17.22	0.76	0.42

Tulipa armena'da farklı MS konsantrasyonları, IBA ve NAA'nın köklenme üzerine etkisi Çizelge 4.36'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek köklenme yüzdesi % 46.67 ile 0.5 mg/l NAA ve 1mg/l IBA içeren 1/2 MS besin ortamında ve 0.5 mg/l IBA içeren 1/8 MS besin ortamlarında elde edilmiştir. En fazla kök oluşumu 3.00 adet ve en uzun kök ise 1.48 cm ile yine 0.5 mg/l NAA içeren 1/2 MS besin ortamında elde edilmiştir (Şekil 4.29 ve 4.30).



Şekil 4.29. *Tulipa armena*'da 0.5 mg/l NAA içeren ½ MS besin ortamında köklenen soğancıklar



Şekil 4.30. *Tulipa armena*'da 0.5 mg/l IBA içeren 1/8 MS besin ortamında köklenen soğancık

4.5. *In vitro*'da Üretilen Soğancıkların Dış Koşullara Alıştırılması

Soğancıkların bir kısmı köklendirilerek bir kısmı da köklendirilmeden toprağa aktarılmıştır. Daha sonra farklı oranlarda kompost, vermikulit ve perlit karışımına aktarılarak iklim dolaplarında yüksek nem oranında ve 15 °C'de dış koşullara alıştırılmıştır (Şekil 4.31 ve 4.32).



Şekil 4.31. *Tulipa sintenisii*'ye ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması



Şekil 4.32. Saksıya aktarılan *Tulipa sintenisii* soğancıklarında yeni kök gelişimi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Olgunlaşmamış Embriyolardan Soğancık Oluşumu

Ülkemizde doğadan toplanarak ihracatı yapılan tür sayısı yaklaşık 347 adettir. Bu tür zenginliği içinde yer alan ve ihraç edilen, her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahip olan türlerin yer aldığı yumrulu ve soğanlı bitkiler (geofitler)'in yeri büyüktür. *Tulipa* da bu gruba giren önemli cinslerdendir. Gösterişli çiçeklerinden dolayı da süs bitkisi olarak lale türlerinin önemi gittikçe artmaktadır. Öte yandan, birçoğu yüksek tehdit altında olduğundan dolayı bu türlerin doğadan sökülerek ihracatları yasaklanmıştır. Geofitlerin çoğunun tohumdan çiçek açabilecek bir soğan boyutuna ulaşabilmesi için 4–5 yıla, hatta daha uzun yıllara gerek duymaları ve bir kısmının da tohum oluşturamaması sebebiyle sadece vejetatif olarak çoğalabildiği göz önünde bulundurulduğunda bu bitkiler için alternatif hızlı çoğaltım tekniklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla farklı *Tulipa* türlerine ait olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı oranlarda NAA, BAP, 2,4-D ve Pikloram içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır.

2005 yılı için; doğal yetiştirme alanlarından toplanan *Tulipa sintenisii* ve *T.armena*'ya ait meyveler yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra yaklaşık 1-2 mm büyüklüğündeki olgunlaşmamış embriyolar tohumlardan çıkartılarak 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l 2,4-D ile 0.5, 1, 2, 4, 6 ve 8 mg/l pikloram içeren 6 g/l agar ile katılaştırılan KTO (kallus teşvik ortamı) ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 1 hafta sonra embriyoların hacimlerinde bir artış gözlenmiş olup, 20 gün sonra da bazı kültürlerde kallus oluşumu başlamıştır. Bu ortamda zigotik embriyoların bir kısmı 25 ± 1 °C de karanlıkta 8 hafta süreyle inkübe edildikten sonra, gelişen kalluslar SOO (soğancık oluşturma ortamı) ortamına aktarılmıştır. Bu ortamda 2 haftada bir alt kültür yapılmıştır. Daha sonra sürgünleri taşıyan kalluslar SGO (soğancık geliştirme ortamı) ortamına aktarılarak, yavaş yavaş ışıklı ortama alıştırılmıştır. SGO ortamına aktarıldıktan 8 hafta sonra yavaş yavaş sürgün oluşumu gözlenmiştir. Yine bir başka denemede ise 1-2 hafta süreyle +4 °C de bekletilen meyvelerden elde edilen embriyolar da aynı ortamlarda kültüre alınarak ayrı bir deneme kurulmuştur. Bir çok ortamda kallus oluşumu gözlenmezken ortamların bazılarında ise

embriyolar ipliksi bir şekilde tek sürgün vererek gelişim göstermişlerdir. Özellikle kültüre alınmadan +4 °C’de bekletilen meyvelerden temin edilen embriyolar başlangıçta ipliksi bir gelişim gösterebilir de ilerleyen aşamalarda farklı aşamalarda sürgün ve soğancık elde edilmesi başarılmıştır. Ayrıca embriyoların bir kısmında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Fotoperiyottaki kültürlerde direkt olarak sürgün oluşumu gözlenmiştir. Çalışmada 14. ayda sayım yapıldıktan sonra soğancık sayısı çok az olduğu için, soğancık sayısına olumlu etki ettiği bilinen soğuk uygulama yapılmıştır. Kültürler 1 ay + 4 °C’ de bekletilmiştir. Daha sonra çıkan kültürler 60 g/l sukroz ve 100 µM Jasmonik asit içeren ½ MS ortamında 1 ay kültüre alınmıştır. 16. ay sonunda sürgünlerin çoğunun soğancığa dönüştüğü görülmüştür. Yapılan bu denemeler için 5. ve 9. aylarda sürgün 14. ve 16. aylarda sürgün/soğancık sayımı yapılmıştır. 16. ayda bazı ortamlarda sürgünlerin tamamı soğancığa dönüşmüş bazı ortamlarda ise hem soğancık, hem de sürgün sayımı ayrı ayrı yapılmıştır. 16 aydan sonra oluşan soğancıklar bir süre 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında bekledikten sonra köklendirmeye alınmıştır. Soğuk uygulaması yapıncaya kadar soğancık oluşumu nadir olarak görülmüşken, soğuk uygulamanın ardından kültürler 60 g/l sukroz ve 100 µM Jasmonik asit içeren ortama alındıktan soğancık oluşumu hızlanmıştır. Bazı ortamlarda sürgünlerin tamamı soğancığa dönüşürken, bazı ortamlarda ise sürgün ve soğancık oluşumu beraber gözlenmiştir. Liliaceae familyasında dormansi varlığı bilinmektedir. Bu uygulamada + 4 °C’de bekletmenin dormansiyi kırdığı ve jasmonik asidin de soğancık oluşumunu şekerle beraber teşvik ettiği görülmüştür. Kontrol olarak normal kültür şartlarında bırakılan kültürlerde soğancık oluşumu görülmemiştir. Ayabe ve Sumi (1998), sarımsakta yaptıkları yaklaşık 8 hafta 4 °C ’de ön muamele yapılmasının hem sürgün oluşumunu hem de soğan oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir. Yine, Sage vd (2000), *Narcissus pseudonarcissus* “Golden Harvest” çeşidinde 4 °C’de 4,9 µM IBA içeren ortamda bitkiciklere dönüşmüş ve bu bitkiler *ex vitro* koşullara transfer edilmiştir. Santos ve Salema (2000) yaptıkları çalışmada *Narcissus* bitkilerinde JA’in soğan oluşumunda ve soğan büyüklüğünün artmasında önemli rol oynayabileceği gösterilmiştir. Slabbert ve Niederwieser (1999), *Lachenalia* cinsine ait üç varyetede *in vitro* soğan oluşumu ve oluşan soğanların toprağa aktarılmasında etkili bir metod geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, yaprak eksplantından elde ettikleri sürgünleri düşük ısıda (4-15 °C) bıraktıktan 2 hafta sonra soğan oluşumunun başladığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. İkinci protokol ise sadece *Tulipa sintenisii*’de uygulanmıştır. Bu çalışmada 4 mg/l BAP, 1 mg/l ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyotta gerçekleştirilmiştir. 14. aydan sonra 1

protokoldeki uygulamalar yapıldıktan sonra ise soğancık elde edilmiştir.

Daha önceki çalışmalarda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 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 bitkilerde elde edilmiştir. Geofitlerde ise *in vitro* kültürde daha çok soğan pul yaprakları ve gövde eksplantları kullanılmıştır. Ayrıca, Seles vd (1999) *Narcissus confusus*'un olgun tohumlarını pikloram ve 2,4-D içeren MS besin ortamında kültüre aldıklarında embriyogenik kallus ve sonuçta soğancık elde ettiklerini bildirmektedirler. Ancak bu çalışmadan elde edilen sonuçlar oldukça düşük bir başarı oranında kalmıştır. Geofitlerde olgunlaşmamış embriyoların kullanımı ilk defa A.Ü Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü laboratuvarlarımızda *Sternbergia candida* ve *S. fisheriana* (Arslan vd 2003, Mirici vd 2005) türlerinde gerçekleştirilmiştir. Olgunlaşmış embriyolar kullanılarak her iki türde yüksek oranlarda soğancık üretimi gerçekleştirilmiştir. Benzer sonuçlar bu çalışma sonucunda *Tulipa sintenisii* türünde de elde edilmiş olup, 1. protokolde olgunlaşmamış embriyo başına ortalama 22.67 adet soğancık elde edilmiştir. Birinci protokolden 16 ay sonra Muamele 2 (16/8 saat aydınlık/karanlık)'de en fazla sayıda soğancık elde edilmiştir. 2. protokolde ise 27.10 adet soğancık elde edilmiştir. *Tulipa armena*'da ise 16.42 adet soğancık elde edilmiştir. Yine bu sonuç da 2. muameleden elde edilmiş olup, *T. armena*'da karanlık uygulamada da yeteri kadar soğancık elde edilmiştir. Ayrıca, *Tulipa armena* türünde elde edilen soğanların büyüklükleri doğal koşullarına benzer şekilde olmuştur. Köklenme ortamına alınan bu soğancıkların kök ile beraber, doğal koşullardaki gibi stolanda oluşturduğu gözlenmiştir. Üretilen soğancıklar daha sonra köklendirilerek dış koşullara alıştırma çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, endemik ve ticari önemi olan *Tulipa* türleri için son derece önemlidir. Hussey (2000), çalışmasında 12 türün *in vitro*'da soğan oluşturmaya verdikleri tepki karşılaştırmıştır. *Freesia*, *Tulipa* ve *Narcissus* da ise direkt eksplat üzerinden bitki elde edilememiştir. 10 adet türde soğan ve korm parçaları kullanılarak soğancık elde edilmiştir ancak bunlarda da bulaşıklık önemli bir engel teşkil etmiştir.

2006 yılında yapılan çalışmada için kullanılan 23 farklı ortamdaki sadece sınırlı sayıda ortamda sonuç elde edilmiştir. Kültür başlangıcından 8 ay sonra sayım yapıldıktan sonra 100 µM JA, 1 mg/l NAA ve 60 g/l sukroz içeren ortamda kültüre alınmıştır. 12. ay sonunda

bu eksplantlarda sürgün, soğancık, kök ve stolon oluşumu aynı anda gözlenmiştir. Stolon oluşumuda soğancık oluşumuna eşlik ettiği için soğancık sayısı 2005 yılına oranla daha az olmuştur. Muamele 1 için 3.17 adet, Muamele 2 için 3.33 adet olmuştur. Bu çalışmada da özellikle soğukta bekletmenin soğancık oluşumunu hızlandırdığı görülmüştür.

Gerek daha önce yapılan çalışmalarda gerekse bu proje çalışmasında geofitlerin olgunlaşmış embriyolarının çok sayıda *in vitro* soğancık üretimi için önemli bir potansiyel olduğu ortaya konulmuştur. Elde edilen soğancıklar da başarılı bir şekilde toprağa aktarılabilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada geliştirilen yöntemin diğer endemik ve tehlike altındaki geofitlere de uygulanabilme durumu söz konusudur. İleride yapılacak çalışmalarla bu yöntemin diğer türlere de uygulanması, endemik ve tehlike altında bulunan bu türlerin çoğaltılmasında önemli başarılar sağlayabilecektir.

5.2. Soğan Pul Yapraklarından Soğancık Oluşumu

Soğan pul yaprakları etil alkol ve % 60'lik ticari çamaşır suyunda (sodyum hipoklorit) yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra besin ortamında kültüre alınmıştır. Çok yüksek oranda (80-90) mantari veya bakteriyel kökenli enfeksiyonlara rastlanmıştır. Aynı şekilde Çakırlar vd (1994) farklı yüzey sterilizasyon yöntemleri uygulamalarına karşın, *Galanthus elwesii*'de enfeksiyon oranını % 29, *G. ikariae*'de ise % 50'nin altına düşürememişlerdir. Yine, Girmen (1986) enfeksiyon oranının *Galanthus*, *Leucojum* ve *Tulipa* kültürlerinde % 40-50 olduğunu bildirmiştir. Enfeksiyon oranını en fazla etkileyen faktörün ise materyalin yetiştiği yer ve iklim koşulları olduğu belirtilmektedir (Koch, 1974). Soğan materyali temininde karşılaşılan sıkıntıdan dolayı da oldukça sınırlı sayıda materyal ile deneme kurulmuştur. *Tulipa sintenisii*'de bulaşıklık oranı oldukça yüksek çıkmış, bulaşıklığın önüne geçmek için yapılan çalışmalar sonucunda 1-2 eksplantta sterilizasyon sağlansa da bunlarda canlılık kalmamıştır.

Tulipa humulis ve *T. karamanica*'da ise PPM li sterilizayondan sonra, kültür başlangıcından 10-15 gün sonra bulaşık olmayan ekplantlardan küçük ve zayıf sürgün oluşumu meydana gelmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri *in vitro* kültürde bitki

rejenerasyonunu en fazla etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Ortamdaki oksinstokinin dengesi iyi kurulduğu durumlarda birçok bitki türünde yüksek oranda bitki rejenerasyonu gerçekleştirilebilmiştir (Özcan vd, 1993; Özcan vd, 1996). Ayrıca, kullanılan bitki genotipi de rejenerasyonun başarısında etkili olmaktadır (Khawar ve Özcan, 2002). Çakırlar vd (1994) *Galanthus* türlerinde soğan pul yapraklarından soğancık oluşumu üzerine BAP'ün kinetinden, KNA'nın ise IAA'ten daha etkili olduğunu belirtip, en yüksek soğancık oluşumunu 2 mg/l BAP ve 0.1 mg/l veya 0.2 mg/l KNA içeren ortamlardan elde etmişlerdir. Sage vd (2000) *Narcissus pseudonarcissus*'un soğan pul yapraklarından 5 µM 2,4-D ve 0.5 µM BAP içeren ortamda önce somatik embryogenesis daha sonra da soğancık elde etmişlerdir. Aynı şekilde, Ziv ve Lilien-Kipnis (2000) *Allium*, *Dichelostemma*, *Eucrosia*, *Gladiolus*, *Haemanthus*, *Hyacinthus*, *Narcissus*, *Nerine* ve *Ornithogalum* cinslerinin; Wawrosch vd (2001) *Lilium nepalense*'nin ve Paek ve Murty (2002) *Fritillaria thunbergii*'nin soğan pul yapraklarından değişik oranlarda 2,4-D, BAP, Zeatin, Kinetin ve NAA içeren ortamlarda *in vitro* soğancık elde etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise soğanlı bitkiler üzerine yürütülen diğer çalışmaların aksine sterilizasyon konusundaki engelden dolayı *Tulipa* türlerinde *in vitro* üretim için soğan pul yaprağının uygun olmayıp, olgunlaşmamış embriyonun daha uygun olduğu olduğu tespit edilmiştir.

5.3. Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü

Bu çalışmada sterilizasyon önemli bir sorun olmuştur. Düşük oranda çamaşır suyu kullanımında yoğun fungal bulaşıklık görülürken çamaşır suyu oranı yükseltildiğinde ise istenilen sonuç elde edilememiştir. Bu çalışmada sadece pistil zarar görmemiş bununla beraber deneme kurulduktan sonra karanlıktan aydınlığa alıştırma aşamasında eksplantlarda kararma meydana gelmiştir. (Slabbert vd 1994), Ziv ve Lilien-Kip (2000) ve Chang vd (2000) yaptıkları çalışmalarda bizim çalışmamızın aksine çiçek eksplantların daha başarılı sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

5.4. *Tulipa sintenisii* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi

Tulipa sintenisii'ye ait tohumların çimlendirilmesinde başlangıta farklı denemeler kurulmasına rağmen başarılı olmazken, direk olarak + 4 °C 'de kurulan denemede % 90 yakın çimlenme sağlanmıştır. Bu denemede diğer soğuk uygulamalardaki başarılarla olduğu gibi *Tulipa*'da yüksek oranda dormansi olduğunu göstermektedir. Yüksek rejenerasyon ve soğancık oluşumu için, ayrıca çimlenme ve çimlenme için mutlaka soğuk uygulama gerekmektedir. Borochov vd (1997)'de belirttiği gibi geofitlerin yaşam döngüsünün çok önemli bir parçasını dormansi oluşturmaktadır. Dormansinin kırılmasında da soğuk uygulama özellikle geofitler için büyük önem taşımaktadır.

5.5. Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma

Fotoperyot (16/8 aydınlık/karanlık) koşullarındaki soğancıklarda 2 ay süresince köklenme elde edilememiştir. 15 °C de ise köklenmeler meydana gelmiştir. Köklenme aşamasında soğancıklarda doğada olduğu gibi stolon oluşumu da görülmüştür. Genelde soğancıkların çapı 0.2 cm-1 cm arasında ölçülmüştür. Bundan sonraki araştırmalarda soğancık çapı artırılmaya çalışılmalı, ayrıca köklenme yüzdesini artırmak için yeni denemeler kurulmalıdır.

Dış koşullara aktarma çalışmalarında istenilen sonuçlar yeterince elde edilmemiş olup bundan sonra yapılacak çalışmalarda bu konu üzerinde durulmalıdır. Toprak içeriği ve ön muameleler gözden geçirilerek yeni denemeler kurulmalıdır.

Nayak vd (1997), orkide (*Acampe praemorsa* Roxb.) ile yaptıkları çalışmada elde edilen sürgünleri 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirmişlerdir. *Eucomis zambesiaca*, *E. comasa*, *E. autumnalis*'de üç türden de elde edilen sürgünler 0, 2.7, 5.4, ve 10.8 µM NAA içeren ortamda köklendirmeye alınmıştır ve sırasıyla % 95, % 98, % 100 köklenme başarısı

bildirilmiştir Ault ve James (1995). Bizim elde ettiğimiz sonuçlarda köklenme yüzdesi daha düşük bulunmuştur.

5.6. Sonuç

Doğal florada çoğaltım hızları son derece düşük olan yabancı *Tulipa* türlerinde ilk defa *in vitro* soğancık üretimine yönelik çoğaltım bu tez çalışması ile başlatılmıştır. Yoğun çalışmalar sonucunda yabancı *Tulipa* türlerinden *in vitro* soğancık üretimine yönelik önemli sonuçlar elde edilmiştir. Farklı büyüme düzenleyicileri ve kültür uygulamaları sonucunda üzerinde çalışılan türlerde *in vitro* soğancık üretimi gerçekleştirilebilmiştir. Ancak bu çalışmada yabancı *Tulipa* türlerinde *in vitro* rejenerasyon ve soğancık üretiminin diğer geofitlerden çok daha yavaş ve zor olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Elde edilen soğancıkların köklendirilmesi ve toprağa aktarılması da gerçekleştirilmiştir. *In vitro* soğancık üretim oranının artırılması ve dış şartlara alıştırılması konusunda daha detaylı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alderson, P.G., Rice, R.D, Wright, N.A.1983. The potential for propagation tulips through tissue culture. *Plant propagation* 29 (4):10-13
- Arslan, N., Gürbüz, B., Özcan, S., Mirici, S., Gümüřcü, Parmaksız, İ. 2003. *Sternbergia candida* ve *Sternbergia fischeriana* Türlerinin Kültüre Alınması ve Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK Projesi Proje No ; TOGTAG – 1843, Kesin Sonuç Raporu, Ankara.
- Ault, J.R. ve James 1995. *In Vitro* Propagation of *Eucomis autumnalis*, *E. comosa*, and *E. zambesiaca* by Twin-scaling. *HortSci.* 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.
- Baytop T 1997 Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Dil Kurumu Yayınları No:578, Ankara.
- Bhagyalakshmi, N. 1999. Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 58; 205–211.
- Bhojwani SS, Razdan MK. 1983. Haploid production. In: *Plant tissue culture: theory and practice*. Amsterdam, The Netherlands:Elsevier Scienti@c Publishers BV, 113-142.
- Bonnier, F.J.M., VanTuyl, J.M. 1997. Long term *in vitro* storage of lily: effects of temperature and concentration of nutrients and sucrose. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 49; 81–87.
- Boročov,A., Spiegelstein, H., Weiss, D.1997. ISHS Acta Horticulturae 430: VII International Symposium On Flowerbulbs. Dormancy and Storage of Geophytes 1 Aralık 1997
- Chauvin, L., Hugon, N., Chauvin, J.-E., Le Nard M. 2000. Factors affecting induction and survival of cell suspension cultures of Tulip (*Tulipa gesneriana* L.) ISHS Acta Horticulturae 508: XIX International Symposium on Improvement of Ornamental Plants
- Chang, C., Chen, C-T.,Tsai Y-C., Chang W.C. 2000 A tissue culture protocol of a rare plant, *Lilium speciosum* Thunb.var *gloriosoides* Baker. *Bot.Bull. Sin.* 41:139-142

- Chu, C.C., Wang, C.C., Sun, C.S. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Sci. Sin.* 18; 659-668.
- Çakırlar, H., Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ő. 1994. Türkiye’de Ticari Değeri Olan *Galanthus* (*G. Elwesii* Hooker Fil. ve *G. ikariae* Baker.) Türlerinin Doku Kültürü Yoluyla Üretimi. TÜBİTAK projesi. Proje no; TBGAG–19/A, Ankara.
- Demiriz, H., 1987. Endangered Geophytes of Turkey. XIV. Int. Bot. Congr. Abst. 425. Berlin.
- Famelaer L., Ennik E, Creemers-Molenaar J., Eikelboom W., van Tuyl J.M. 2000
Initiation and Establishment of Long-Lived Callus And Suspension Cultures of *Tulpa praestans* .ISHS Acta Horticulturae 508: XIX International Symposium on Improvement of Ornamental Plants
- Gamborg, O.L., Miller, R.A., Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50; 151-158.
- Girmen, M. 1986. Untersuchungen zur *in vitro* Kultur von Geophyten, Dissertation dire Univ. Hannover.
- Gude, H., Dijkema, M.H.G.E. 1997. ISHS Acta Horticulturae 430: VII International Symposium On Flowerbulbs Somatic Embryogenesis In Tulip 1 Aralık 1997
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, .H.C. 2000. Flora of Turkey (Supplament II), Vol. 11, 656p, Edinburgh.
- Hannweg , K., Watt M.P., Berjak P.1996 A simple method for the propagation of *Bowiea volubilis* from inflorescence explants. *Bot.Bull. Sin.* 37:213-218.
- Hartman, H.T, Kester, D.E. 1975. Plant propagation- Principles and Practices. Prentice-Hall.Inc., New Jersey
- Hulscher, M., Krijgsheld, H.T. 1992. ISHS Acta Horticulturae 325: VI International Symposium On Flowerbulbs. Propagation of shoots and bulb growth of tulip in vitro.1 Aralık1992
- Hussey, G., 2000. Totipotency in Tissue Explants and Callus of Some Members of the *Liliaceae*, *Iridaceae*, and *Amaryllidaceae* ,*Journal of Experimental Botany* Volume 26, Number 2 Pp. 253-262

- Karaoğlu, C. 2004. Göl Soğanı (*Leucojum aestivum* L.)'nin *In Vitro* Koşullarında Hızlı Çoğaltımı, Yüksek Lisans Tezi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Khawar, K.M., Özcan, S. 2002. Bioteknoloji ve Bioteknoloji Eki., 16(1), 12-17
- Koch, L. 1974. Untersuchungen zur vegetativen Vermehrung bei Phanaeopsis *in vitro*. Dissertation der Univ. Hannover.
- Kuijpers, A.-M., Langens-Gerrits, M. 1997. ISHS Acta Horticulturae 430: VII International Symposium On Flowerbulbs. Propagation of Tulip *in vitro* 1 Aralık 1997
- Marinangeli, P., Curvetto, N. 1997. Bulb quality and traumatic acid influence bulblet formation from scaling in *Lilium* species and hybrids. HortSci. 32; 739–741.
- Mathew, B., Baytop, T. 1984. The bulbous plants of Turkey. London.
- Mirici, S., Parmaksız, İ., Özcan, S., Sancak, C., Uranbey, S., Sarihan, E. O., Gümüştü, A., Gürbüz, B. Arslan, N. 2005. Efficient *in vitro* bulblet production from immature embryos of endangered *Sternbergia fischeriana*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 80; 239–246.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant.15: 473–497.
- Naik, P.K. and Nayak, S. 2005. Different modes of plant regeneration and factors affecting *in vitro* bulblet production in *Ornithogalum virens*. Science Asia 31;409-414
- 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.
- Nishiuchi J. 1986. Multiplication of Tulip Bulb by Tissue Culture *in vitro*. Acta Hort., 177(1): 279-283
- 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.

- 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., Sevimay, C.S., Yıldız, M., Sancak, C., Özgen, M. 1996. Prolific shoot regeneration from immature embryo explants of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). *Plant Cell Rep.* 16; 200–203.
- Özhatay N. Byfield, A Atay S. 2003. Türkiye'nin Önemli Bitki Alanları. İstanbul: WWF Türkiye Doğal Hayatı Koruma Vakfı Yayınları, İstanbul, 88 sayfa , haziran 200
- Paek, K.Y., Murthy, H.N. 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 68; 247–252.
- Preece J.E., Sutter E.G. 1993. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: Debergh PC, Zimmerman RH (eds), *Micropropagation Technology and application*, pp.71-95, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Sage, D.O., Lynn, J., Hammatt, N. 2000. Somatic embryogenesis in *Narcissus pseudonarcissus* cvs. *Plant Sci.* 150; 209–216.
- 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.
- Santos I., Robero S. 2000 Promotion by Jasmonic acid of bulb formation in shoot cultures of *Narcissus triandrus* L., *Plant Growth Regulation* 30:133-138.
- Schenk, R.U., Hildebrandt, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.*, 50: 199-204.
- Schacht, N. 1955. *Blumenzwiebeln für Garten und Heim.* Ulmer, Stuttgart, 171p.
- Selles, M., Viladomat, F., Bastida, J., Codina, C. 1999. Callus induction, somatic embryogenesis and organogenesis in *Narcissus confusus*: correlation between the state of differentiation and the content of galanthamine and related alkaloids. *Plant Cell Rep.* 18; 646–651.
- Shibli, R.A., Ajlouni, M.M. 2000. Somatic embryogenesis in the endemic black iris: *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 61; 15-21

- Slabbert, M.M., Bruyn, M.H., Ferreira D.I., Pretourius, J., De Bryn, M.H. 1994. Adventitious *in vitro* plantlet formation from immature floral stems of *Crinum macownii*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 43; 51–57.
- Slabbert M. M., Niederwieser J. G 1999.. In vitro bulblet production of Lachenalia .Plant Cell Reports Volume 18, Numbers 7-8
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G. 1967. Statistical Methods. The State University Press, Iowa, USA.
- Squires, W.M., Langton, F.A., Fenlon, J.S. 1991. Factor influencing the transplantation success of micropropagated narcissus bulbils. J. Hort. Sci. 66: 661–671.
- Taeb, A.G., Alderson, P.G. 1990. Shoot production and bulbing of tulip *in vitro* related to ethylene, J. Hort. Sci. 65: 199–204.
- 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.
- Waithaka, K. 1987. Application of plant tissue culture in horticulture production. Acta Hort. 218:131-139.
- 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.
- Ziv, M., Lilien-Kipnis, H. 2000. Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. Plant Cell Rep.19: 845–850.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek Doğan KALYONCU

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 14.07.1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise :Çankaya 50.Yıl Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi 1993-1997

Lisans :A:Ü Fen Fakültesi Biyoloji bölümü 1997-2001

Yüksek Lisans:A.Ü. Biyoteknoloji Enst. Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı 01-03

Yayınları (SCI ve diğer)

SCI'DE YER ALAN DERGİLERDE YAPILAN YAYINLAR

1. Doğan, D. Khawar, K.M. and Özcan, S. (2005) *Agrobacterium* Mediated Tumor and Hairy Root Formation From Different Explant of Lentils Derived from Young Seedlings, International Journal of Agriculture and Biology, 6:1019-1025

ULUSAL VE ULUSLAR ARASI KONGRELERDE SUNULAN BİLDİRİLER

1. **Doğan, D.**, Khawar, K.M., Sancak, C, Özcan, S., (2003) Farklı Mercimek Çeşitlerine *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Gen Aktarımında Asetosringon ve AgNO₃ Etkisi XIV Biyoteknoloji Kongresi 31 Ağustos 2 Eylül 2005, Eskişehir
2. **Doğan Kalyoncu** Dilek, Cengiz SANCAK, Sebahattin ÖZCAN. *Tulipa sintenesii* Baker'da *In Vitro* Soğancık Üretimi. III.Ulusal Süs Bitkileri Kongresi. 8-10.Kasım, İzmir
3. **Doğan-Kalyoncu**, Dilek Arif İpek, İskender Parmaksız, Neşet Arslan, Cengiz Sancak and Sebahattin Özcan. *In vitro* Bulblet Production in Wild *Tulipa* Species Agroenviron. 2006. Belçika, Gent
- 4.**Doğan-Kalyoncu** Dilek, Arif İpek, Neşet Arslan and Sebahattin Özcan. *In Vitro* Bulblet Production In Endemic Wild *Tulipa* Species POP.Bulgaristan.2007.
5. Karaoğlu , C., Mirici, S., Parmaksız, İ., Khawar, K.M., **Doğan Kalyoncu, D.**, Gürlek, D., İpek, A., Özcan, S. Endemik ve tehlike altındaki geofitlerin *in vitro* hızlı çoğaltımı. !5. Biyoteknoloji Kongresi. Antalya. Ekim 2007.

ULUSAL KONGREYE POSTERLE KATILIM

- 1.**Doğan, D.**, Khawar, K.M., Sancak, C, Özcan, S., (2003) Mercimeğe *Agrobacterium tumefaciens* ve *A. rhizogenes* Aracılığıyla Gen Aktarımı XIII. Biyoteknoloji Kongresi 25-29 Ağustos 2003, Çanakkale

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek Doğan KALYONCU

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 14.07.1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise :Çankaya 50.Yıl Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi 1993-1997

Lisans :A.Ü Fen Fakültesi Biyoloji bölümü 1997-2001

Yüksek Lisans:A.Ü. Biyoteknoloji Enst. Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı 01-03

Yayımları (SCI ve diğer)

SCI'DE YER ALAN DERGİLERDE YAPILAN YAYINLAR

1. Doğan, D. Khawar, K.M. and Özcan, S. (2005) *Agrobacterium* Mediated Tumor and Hairy Root Formation From Different Explant of Lentils Derived from Young Seedlings, International Journal of Agriculture and Biology, 6:1019-1025

ULUSAL VE ULUSLAR ARASI KONGRELERDE SUNULAN BİLDİRİLER

1. **Doğan, D.**, Khawar, K.M., Sancak, C, Özcan, S., (2003) Farklı Mercimek Çeşitlerine *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Gen Aktarımında Asetosrington ve AgNO₃ Etkisi XIV Biyoteknoloji Kongresi 31 Ağustos 2 Eylül 2005, Eskişehir
2. **Doğan Kalyoncu** Dilek, Cengiz SANCAK, Sebahattin ÖZCAN. *Tulipa sintenesii* Baker'da *In Vitro* Soğancık Üretimi. III.Ulusal Süs Bitkileri Kongresi. 8-10.Kasım, İzmir
3. **Doğan-Kalyoncu**, Dilek Arif İpek, İskender Parmaksız, Neşet Arslan, Cengiz Sancak and Sebahattin Özcan. *In vitro* Bulblet Production in Wild *Tulipa* Species Agroenviron. 2006. Belçika, Gent
- 4.**Doğan-Kalyoncu** Dilek, Arif İpek, Neşet Arslan and Sebahattin Özcan. *In Vitro* Bulblet Production In Endemic Wild *Tulipa* Species POP.Bulgaristan.2007.
5. Karaoğlu , C., Mirici, S., Parmaksız, İ., Khawar, K.M., **Doğan Kalyoncu, D.**, Gürlek, D., İpek, A., Özcan, S. Endemik ve tehlike altındaki geofitlerin *in vitro* hızlı çoğaltımı. !5. Biyoteknoloji Kongresi. Antalya. Ekim 2007.

ULUSAL KONGREYE POSTERLE KATILIM

- 1.**Doğan**, D., Khawar, K.M., Sancak, C, Özcan, S., (2003) Mercimeğe *Agrobacterium tumefaciens* ve *A. rhizogenes* Aracılığıyla Gen Aktarımı XIII. Biyoteknoloji Kongresi 25-29 Ağustos 2003, Çanakkale