

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN
***ANTHURIUM ANDREANUM* L TÜRÜNÜN**
İKİ ÇEŞİDİNİN MİKROÇOĞALTIMI
ÜZERİNDE ETKİLERİ

Gizem AYGÜN

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 10/07/2015

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Cüneyt AKI

ÇANAKKALE

Gizem AYGÜN tarafından Prof. Dr. Cüneyt AKI yönetiminde hazırlanan ve **10/07/2015** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin *Anthurium andreanum* L Türünün İki Çeşidinin Mikroçoğaltımı Üzerinde Etkileri**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Cüneyt AKI

.....

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

.....

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından FYL-2014-326 numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Gizem AYGÜN

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bilgi ve desteğini esirgemeyen, önerileriyle yol gösteren, tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Prof. Dr. Cüneyt AKI'ya jüri üyelerim Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e ve Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ'a en içten teőekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, laboratuvar çalışması aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Arő. Gör. Dr. Nurşen ÇÖRDÜK'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca benden yardımlarını esirgemeyen ve beni her zaman destekleyen arkadaşlarım Deniz ERGAN'a ve Ayőe Gizem DİNÇ'e, teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Arő. Gör. Nihan AKINCI'ya ve arkadaşlarım Burak SERVİLİ'ye, Gülsüm AKKUŐ'a teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, hayatım boyunca bana yol gösteren, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, daima bana inanıp güvenen annem Sevilay AYGÜN'e, babam Besim AYGÜN'e kardeşlerim Simge AYGÜN ve Ataberk AYGÜN'e teşekkür ederim.

Gizem AYGÜN

anakkale, Temmuz 2015

SİMGELER VE KISALTMALAR

μM	Mikro Molar
2,4-D	2,4-diklorofenksiasetik asit
BA	N ⁶ benzil adenine
BAP	6-Benzilaminopürin
GA ₃	Gibberellik asit
HCl	Hidroklorik asit
IAA	Indol-3-asetik asit
IBA	Indol-3-butirik asit
Kin	Kinetin
Mg	Miligram
MS	Murashige Skoog Besi Ortamı
NAA	α -Naftalen asetik asit
NaOH	Sodyum hidroksit
NaClO	Sodyun hipoklorit
TIBA	2,4,5-triiodobenzoik asit
TDZ	Thidiazuron

ÖZET

BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN *ANTHURIUM ANDREANUM* L TÜRÜNÜN İKİ ÇEŞİDİNİN MİKROÇOĞALTIMI ÜZERİNDE ETKİLERİ

Gizem AYGÜN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Prof. Dr. Cüneyt AKI

10/07/2015, 42

Tamamlanan Yüksek Lisans Tezinde, ülkemizde yetiştiriciliği yaygın olmayan, üretim istekleri net olarak bilinmeyen, ticari anlamda süs bitkisi olarak çok fazla tercih edilen, pahalı tropikal ve popüler bir tür olan Araceae familyasından *Anthurium andreanum* L türüne ait Red Love ve Pink Champion sertifikalı çeşitleri kullanılmıştır.

Saksılardaki sertifikalı anaç bitkilerin sağlıklı, genç yaprak ve petiollerinden alınan eksplantlar farklı kombinasyon ve konsantrasyonlarda 2,4-D, NAA ve BAP içeren MS ortamlarında kallus uyartımı için kültüre alınmıştır. Bu farklı kültür koşullarının *A. andreanum* L. çeşitlerinde kallus oluşturma potansiyelleri karşılaştırılmıştır. En iyi kallus oluşturan 0.1 mg/L 2,4-D ve 1.5 mg/L BAP içeren tam MS ortamından alt kültürler yolu ile sürgün oluşumuna geçilmiştir. Çalışmanın belirli aşamasından sonra ise sadece Red Love çeşidine ait bitkicikler elde edilmiştir. En iyi sürgün oluşturma ortamı 0.5 mg/L BAP içeren yarı MS ortamı olduğu tespit edilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşturma kapasitesi %86 olarak saptanmıştır.

Araştırmanın sonucunda, ekonomik anlamda önemli olan ve normal şartlarda üretimi güç olan *A. andreanum* türünün Red Love ve Pink Champion çeşitlerinin *in vitro* optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ancak sürgün oluşturma ve mikroçoğaltım açısından Red Love çeşidi başarılı bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: *Anthurium andreanum*, *In vitro*, Mikroçoğaltım, Doku Kültürü.

ABSTRACT

THE EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON MICROPROPAGATION IN TWO VARIETIES OF *ANTHURIUM ANDREANUM* SPECIES

Gizem AYGÜN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biological Science

Advisor : Prof. Dr. Cüneyt AKI

10/07/2015, 42

In this research, two varieties of *Anthurium andreanum* were micropropagated from calli by tissue culture techniques instead of classic production for increase the production. Plant regeneration of *Anthurium andraeanum* varieties Red Love and Pink Champion has been achieved through adventitious shoot formation from calli. Leaf and petiol explants were harvested from mature certificated plants which were grown in the pots.

The leaf and petiole explants were cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/L 2,4-D, 1.5 mg/L BAP for callus induction *in vitro* conditions by indirect organogenesis. Best combination for biomass production were obtained as 0.1 mg/L 2,4-D, 1.5 mg/L BAP. Best shoot regeneration medium were obtained as half strength MS medium supplemented with with 0.5 mg/L BAP for Red Love variety. Shoot regeneration capacity per explant were calculated at 86%.

Upon investigation *in vitro* *A. andreanum* kind of two different types of optimization was carried. However exile creation and micropropagation of varieties in terms of Red Love has been more successful than the Pink Champion varieties.

As a result, *in vitro* optimization of *Anthurium andraeanum* two varieties Red Love and Pink Champion were realized. Furthermore, only micropropogation of Red Love variety was successfully achieved.

Keywords: *Anthurium andreanum*, *In vitro*, Micropropagation, Tissue Culture.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAV SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
BÖLÜM 1-GİRİŞ	1
1.1. <i>Anthurium</i> Bitkisinin Sistematikteki Yeri	3
1.2. Araceae (Yılanyastığıgiller) Familyasının Özellikleri	3
1.3. <i>Anthurium</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	3
1.3.1. <i>Anthurium</i> morfolojisi	5
1.3.2. <i>Anthurium</i> cinsinde üreme.....	5
1.3.3. Üretim şekilleri.....	5
1.3.3.1. Tohumla üretim	6
1.3.3.2. Ayırma yöntemiyle üretim:	6
1.4. <i>Anthurium</i> Yetiştirirken Dikkat Edilecek Özellikler	6
1.5. Doku Kültürü.....	6
1.6. Doku Kültürü Besi Ortamı Bileşenleri	7
1.6.1. Organik bileşikler	7
1.6.2. Karbon kaynağı	8
1.6.3. Jelleşme ajanları	8
1.6.4. Bitki büyüme düzenleyicileri	8
1.7. <i>In vitro</i> Kültür Yöntemleri.....	8
1.7.1. <i>In vitro</i> kallus kültürü	8
1.8. Mikroçoğaltım	9
BÖLÜM 2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1. <i>Anthurium sp.</i> İle İlgili Yapılan Çalışmalar	11
2.2. Diğer Süs Bitkileri ile İlgili Yapılan Çalışmalar	14

BÖLÜM 3-MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Bitkisel materyal.....	17
3.1.2. Kimyasal maddeler.....	17
3.1.3. Sarf malzemeler.....	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Bitki büyüme düzenleyicilerinin hazırlanması.....	17
3.2.2. Besi ortamlarının hazırlanması.....	18
3.2.3. Eksplant sterilizasyonu.....	19
3.2.3.1. Cam Malzemelerin ve besı ortamlarının sterilizasyonu	20
3.2.4. Kallus eldesi ile ilgili yöntemler	20
3.2.5. Sürgün eldesi yöntemleri.....	22
BÖLÜM 4-ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	23
4.1. Yüzey Sterilizasyonu ile İlgili Bulgular	23
4.2. Kültür Ortamlarına İlişkin Bulgular	24
4.2.1. Kallus teşvik ortamlarına ilişkin bulgular	24
4.2.2. Ortamlar arası değişimlere ilişkin istatistiksel analiz sonuçları	27
4.2.3. Sürgün teşvik ortamlarına ilişkin bulgular	29
4.2.4. <i>In vitro</i> bitkilerin aklimatizasyonu	33
4.3. Tartışma.....	33
BÖLÜM 5-SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Kültür başlangıç aşamasındaki eksplantlar	21
Şekil 3.2. Eksplantların karanlık ortamda bitki yetiştirme odasına yerleştirilmesi.....	21
Şekil 3.3. Ekim yapılan petrilere bitki yetiştirme odasına yerleştirilmesi	22
Şekil 4.1. Sterilazyondaki kararma problemi	23
Şekil 4.2. Eksplant ekiminden 5 hafta sonra meydana gelen kabarmalar	24
Şekil 4.3. Eksplant ekiminden sekiz hafta sonra Red Love, Pink Champion	25
Şekil 4.4. Eksplant ekiminden on hafta sonra (a-d) yaprak, (e-f) petiol	26
Şekil 4.5. Eksplant ekiminden onüç hafta sonra (a) yaprak (b) petiol (c-d) stereo mikroskop görüntüsü.....	27
Şekil 4.6. Bir hafta sonra oluşan sürgün primordiumları	29
Şekil 4.7. Altı hafta sonraki sürgün primordiumları	30
Şekil 4.8. On hafta sonraki sürgün primordiumlarından gelişen bitkicikler	31
Şekil 4.9. Onüç hafta sonraki sürgün primordiumlarından gelişen bitkicikler	32
Şekil 4.10. Onsekiz hafta sonraki sürgün primordiumlarından gelişen bitkicikler	32
Şekil 4.11. Bitkiciklerin steril edilmiş :perlit içeren macenta kaplarına aktarımı	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. BAP, 2,4-D ve NAA içeren kallus teşvik ortamları (mg/L).....	18
Çizelge 3.2. Sterilizasyonda kullanılan solüsyonlar	19
Çizelge 4.1. Red Love çeşidindeki standart sapma ve kallus oluşma yüzdesi	28
Çizelge 4.2. Pink Champion çeşidindeki standart sapma ve kallus oluşma yüzdesi	29
Çizelge 4.3. Red Love çeşidinde gruplar arası tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları (***) $p < 0,001$	30
Çizelge 4.4. Pink Champion çeşidinde gruplar arası tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları (***) $p < 0,001$	30

BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnsanlığın var oluşundan bu yana bitkiler, yaşamımızda çok önemli bir yer tutmaktadır. Bitkiler ekosistemdeki önemli rollerinin yanı sıra beslenme, tıbbi özellik, boya endüstrisinde kullanım, antimikrobiyal özellikleri nedeni ile de tüm hastalıklara karşı kullanılabilirlerdir.

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre; dünya nüfusunun büyük bir bölümü (%70-80) tedavi veya korunma amaçlı yaklaşık 20.000 bitkiyi kullanmaktadır. Bitkiler gıda kaynağı olarak insan beslenmesinin doğrudan %93'ünü, dolaylı olarak %7'sini oluştururken dünyanın batı kısmındaki reçete ile satılan ilaçların %25'nin bitkisel kökenli olduğu bildirilmiştir (Dalar, 2008). Bitkiler; tıbbi, baharat, ilaç sanayinde yaygın olarak kullanılmakta olup gıda ve katkı maddesi olarak da tüketilmektedir. Aromatik özellikleri açısından ise; parfümeri, kolonya, tütsü ve kozmetik sanayinde geniş bir yer bulmaktadır (Başer, 2003).

Tüm bunların dışında süs bitkileri özellikle son yıllarda artan bir pazar payına sahip olmuştur. İnsanlık tarihine bakıldığında o dönemlerde de çok değerli olan süs bitkilerinin hem ülkeler arasında hem de ülke içerisinde ticaretlerinin sıklıkla gerçekleştirildiği bilinmektedir.

Süs bitkilerinin bazıları doğal ortamlarında hiç bir üreme engeli olmadan yaygın bir şekilde rahatlıkla yetişebilirken bazıları ise yetişme ortamlarından kaynaklanan ve insanların toplama sıklığından dolayı yeterli miktarda yetişememektedir. Bu değerli ve bazıları da endemik olan süs bitkileri, bir ülkelerin genetik kaynaklarını ve biyoçeşitliliğini oluşturduklarından dolayı *in vitro* şartlarda korunmaları ve seri bir şekilde üretilmeleri gerekmektedir. Süs bitkilerini çoğaltabilmek için vejetatif üretme, çelikleme, daldırma, yaralama, ayırma, toprakaltı organları ile stolon uçları ile çoğaltma yöntemleri kullanılabilirlerdir. Bunun yanı sıra doku kültürü de mikroçoğaltımda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bitkilerin laboratuvar şartlarında kontrollü olarak yetiştirilmeleri temelinde doku kültürü yer almaktadır. Bitki doku kültürü yolu ile bitkilerin gelişim aşamaları rahatlıkla gözlemlenip istenilen aşamada müdahale edilerek gelişimin değiştirilmesi yönünde araştırmalar yapılabilmektedir. Bitkilerin temel ve yaşamsal özelliklerinden birisi olan savunma ve ortama uyum sağlama olayları sonucunda

bitkilerden ortama salınan çok değişik maddeler bulunmaktadır. İnsanlar tarafından en fazla kullanılan bazı doğal bileşikler birçok ilacın hammaddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır.

Günümüzde süs bitkilerine, para kazandıran, gelir getiren bir tarım faaliyeti olarak bakılmaktadır. Dünyada da pek çok ülke bunu fark edip süs bitkilerinden ticaret yapar duruma gelmiştir. Afrika ülkeleri açlıktan, Güney Amerika ülkesi olan Kolombiya ise uyuşturucu ticaretinden dolayı çiçek yetiştirip satarak geçimini sağlamaya çalışmıştır. Kolombiya'nın çiçek ticaretinde yıllık geliri 500 milyon doları aşmıştır. İsrail çölde çiçek yetiştirip satarak gelir sağlamaktadır. Hollanda tüm Avrupa ülkelerine çiçek satmaktadır (Geneyikli, 2009).

Üretilen bitkilerden yaklaşık %78'ini süs bitkileri oluşturmaktadır. Hollanda, spatifilyum, krizantem, begonya, benjamin, lale, sıklamen, filodendron, afrika menekşesi ve orman gülü gibi saksı bitkilerinin ihracatında egemendir.

İhracaatta en iyi olan dört ülke (Hollanda, Kolombiya, İtalya, İsrail) dünya pazarının %80'ini elinde bulundurmakta, %20'sinden daha azını da geliştirmekte olan Afrika, Asya, Latin Amerika gibi ülkeler paylaşmaktadır (Rout ve ark., 2006).

Dünya üzerinde en önemli süs bitki ithalatçısı olan ülkeler, Almanya, ABD, Hollanda, İngiltere, Fransa ve Rusya'dır

Türkiye'de 28 ilde süs bitkileri üretimi yapılmaktadır. Üretimin en fazla yapıldığı iller sırasıyla İzmir (%23.86), Sakarya (%20.94), Antalya (%15.06), Yalova (%13.52), Bursa (%9.59) ve Isparta (%4.53)'dir. Antalya bölgesinde ise çoğunluğu seralarda olmak üzere yüksek kaliteli ve ihracata yönelik üretim yapılmaktadır (Taşcıoğlu ve ark., 2005).

Yüzyıllar önce estetik amaçlarla kullanılmaya başlanan süs bitkileri, günümüzde önemli bir tarımsal ürün olarak dikkat çekmektedir. Süs bitkileri genel bir kavram olup, kesme çiçekler ve kesme yeşillikler, saksılı bitkiler (çiçekli ve saksılı bitkiler) ile peyzaj için kullanılan diğer bitkileri kapsamaktadır (Titiz ve ark., 2000; Yazgan ve ark., 2005; Yılmaz, 2009).

Dünya üzerinde 652.000 ha alanda kesme çiçek üretimi yapılmaktadır. Toplam alanın % 72'si Asya, % 13'ü Güney Amerika, % 9'u Avrupa'da yer almaktadır.

Kesme çiçek üretiminin yapıldığı en önemli ülkeler sırasıyla Hindistan, Çin, Brezilya, Meksika, Japonya, ABD, Güney Afrika Cumhuriyeti, İtalya, Tayland, Ekvador, Kolombiya ve Hollanda'dır. Hindistan, Çin, Brezilya, Meksika, Japonya, ABD, Tayland gibi önemli üreticiler olmalarına rağmen üretimi kendi iç pazarlarına yönelik yapmaktadırlar. Ekvador, Kolombiya gibi üreticiler ise ihracata yönelik üretim yapmaktadır.

Kesme çiçek üretiminin tropikal tarımın çeşitlendirilmesi açısından önemli bir rolü vardır. Küresel pazarda *Anthurium* cinsi tropikal kesme çiçekler arasında orkideden sonra ikinci sırada gelmektedir (Chen ve ark., 2003; Dufour ve Guerin, 2003). Birim fiyatı yüksek olan kesme çiçeklerden olan *Anthurium* cinsi 19. yüzyıldan beri, hem ev için süs bitkileri hem de bahçecilik kesme çiçek kaynağı olmuştur (Bown, 2000).

1.1. *Anthurium* Bitkisinin Sistematikteki Yeri

Alem:	Plantae
Ordo:	Alismatales
Familya:	Araceae
Cins:	<i>Anthurium</i>
Tür:	<i>Anthurium sp.</i>

1.2. Araceae (Yılanyastığıgiller) Familyasının Özellikleri

Araceae familyası 108 cins ve yaklaşık 3750 monokotiledon türünden oluşur (Harb ve ark., 2010). *Aglaonema*, *Alocasia*, *Caladium*, *Calla*, *Colocasia*, *Dieffenbachia*, *Epipremnum*, *Monstera*, *Philodendron* ve *Spathiphyllum* cinslerini içerir (Grayum, 1990). Büyük çoğunluğu Güney ve Kuzey Amerika kıtalarında birkaç türü diğer kıtalarda bulunur. Anadolu'da da birkaç türü bulunmaktadır.

1.3. *Anthurium* Cinsinin Genel Özellikleri

Anthurium cinsinin Amerika'nın tropik bölgeleri olan Kostarika, Kolombiya ve Ekvador ana vatanıdır (Gantait ve ark., 2008). Amerika'ya özgü, *Anthurium* üyeleri en yaygın olarak deniz seviyesinden 1500-3000 m arasında değişen yüksekliklerinde bulunur. Aynı zamanda dağ bulut ormanları ve tropikal yağmur ormanlarında görülen ailenin en göze çarpan temsilcisidir (Grayum, 1990; Croat, 1994; Mayo ve ark., 1997).

Bu cinsin içinde 600 türünün çoğu süs bitkileridir ve bunların çoğu Amerika'nın sıcak bölgelerinde hava köklerine sahip, yerli otsu epifitlerdir (Castro ve ark., 2004; Tombolato ve Quirino, 2004; Nhut ve ark., 2006; Liendo ve Mogollón, 2009; Maira ve ark., 2010). Doğal ortamında asalak olmadan ağaçlar ve kayalar üzerinde yaşayan, hava kökleriyle havanın serbest neminden yararlanarak hayatını devam ettiren canlılardır. Bu sebeple *Anthurium* yetiştiriciliği için havalanması çok iyi olmalıdır. Yaklaşık 130 tür de Brezilya'da bulunur (Castro ve ark., 2004; Tombolato ve Quirino, 2004).

Anthurium ismi Yunancadan gelir. Anthos = çiçek ve Oura = kuyruk kelimelerinin birleşmesiyle, tail flower = kuyruklu çiçek diye adlandırılır. Ülkemizde ve bazı ülkelerde Flamingo çiçeği adı verilen *Anthurium* cinsine Amerika'da Cresto de Gallo, Çin'de Bullshead, Amerika'da Tail flower, Hollanda'da Lak-Anthurium (Lacquer flower) = vernikli çiçek denir. Hollanda da üretimin %40'ını kırmızı renkli çeşitler oluşturmaktadır. Üretilen ve mezatlarda satışı yapılan kırmızı çeşitler içinde %95'den fazlasında tropikal çeşidi teşkil etmektedir (Herk ve ark., 1998).

Andreanum ise Fransız botanikçi Edouard André'nin soyadıyla alakalıdır. Ona ithafen bu isim verilmiştir. 1876 yılında tarafından Kolombiya'nın tropikal dağ ormanlarında Jose J. Triana keşfetmiş ve André'e tanıtmış, André de *Anthurium* adını verdiği bu bitkiyi Belçika'daki botanikçi Jean Linden'e göndermiştir. Süs bitkisi olarak 1877 yılında Avrupalı botanikçilere resmen tanıtan kişi Jean Linden olmuştur.

Samuel Damon 1889 yılında *Anthurium andreanum* türünü İngiltere'de görüp Hawaii'ye götürerek seri üretimlere başlamıştır. Bu işten çok zengin olmuştur. Çelikleme ile ilk üretimi yapan Hawaiiililer diğer *Anthurium* türleri edinip melezlemeler yaparak tohum ile üretime geçmiştir. Günümüzde ise üretimi doku kültürü tekniği ile laboratuvarlarda yapılmaktadır (<http://azbitki.com/anthurium-andreanum>).

Karmaşık olan bu cins yaprak morfolojisi, büyüme alışkanlığı, yaprakta damar düzeni, desen ve çiçek renkleri ile muazzam bir varyasyon gösterir. Cinsin çeşitliliği, tropikal ormanlarda ekolojik önemi, botanik koleksiyonu, tarımı ve çok uzun bir geçmişi olmasına rağmen moleküler filogenilerinden taksonomik araştırması ihmal edilmiştir (Mayo ve ark., 1997; Govaerts ve Frodin, 2002).

1.3.1. *Anthurium* morfolojisi

Anthurium Araceae familyasının, Pothoideae alt familyasının 6 takımından en geniş olan Anthurieae takımına ait bu alt familya yaprakta ince ağsı damar düzeni ile, genikülat sapı ve mükemmel çiçekler ile karakterizedir (French ve ark., 1995; Barabé ve Lacioix 2002; Rothwell ve ark., 2004; Tam ve ark., 2004; Cabrera ve ark., 2008; Cusimano ve ark., 2010). *Anthurium* 8-15 cm çapında etli bir spat, kuyruğa benzeyen üreme organı ve 40-70 cm uzunluğunda çiçek sapına sahiptir. *Anthurium* bitkisinin yaprakları koyu yeşildir. *Anthurium* çiçekleri ve yaprakları kökten itibaren ayrı saplara yükselir. Kökler havalanma ihtiyacı gösterir. Kazık köklü yapı toprak altında fazla kalırsa kütük oluşturur. Kılcal kökler ise çok sayıdadır ve saçak kök görünümündedir. Çeşitleri kırmızının tonları, turuncu, pembe, mercan ve beyaz renklerden oluşur. 3 çeşit spat şekline sahiptir. Bunlar standart (kalp şeklide), obaki (yeşil renkli), lale tipi şeklindedir. Renkleri, çiçek büyüklüğü ve şekilleri çeşitli piyasa tercihlerine göre talebi karşılamak amacıyla yetiştirilmektedir.

1.3.2. *Anthurium* cinsinde üreme

Anthurium bitkisinin tohumla, vejetatif ve doku kültürü olmak üzere 3 çeşit üreme şekli vardır (Hamidah ve ark., 1997; Martin ve ark., 2003). Mikroçoğaltım bitkisel üreme için alternatif bir yöntem olup kaliteli klonların çoğalması için çok uygundur (Silva ve ark., 2005).

Çiçek olarak bilinen parlak renkli kısma spat denir. İçerideki uzantıya ise spadix adı verilir. Gerçek çiçekler çok küçük ve çok sayıda olarak spadix üzerinde bulunur. Spadix üzerinde önceden açan dişi çiçekler, erkek çiçekler açana kadar, polen tutma özelliğini kaybeder. Bu nedenle, *Anthurium* bitkisi minik erkek çiçeklerin faaliyete geçeceği zaman yeni bir spat daha açmış olur. Yeni açan spatın spadixindeki dişi çiçekler eskisinin erkek çiçeklerindeki polenlerini alabildiğinde tohum oluşturur. Her yaprağın tek bir çiçek üretimi sympodial aşamasında gerçekleşir (Gantait ve Mandal, 2010).

1.3.3. Üretim şekilleri

Anthurium yetiştiriciliğinde anaç bitki bulmak zordur. Ülkemizde ilk üretimi Hollanda'dan getirilen anaç bitkilerle başlamıştır ve yetiştiriciler anaç bitkileri kendileri üretmeye çalışmışlardır. Anaç bitki üretimi, üreticinin zaman kaybına neden olmakta bu sebeple ülkemizde çok fazla anaç bitki üretilmemektedir.

Anthurium bitkisinin çiçeklenme süresinin uzundur, çok iyi donatılmış seralar olması, iyi ısıtılması gerekir. Bu da masrafın artmasına neden olur. Ülkemizde anaç bitki üretimi iki yöntemle yapılmaktadır.

1.3.3.1. Tohumla üretim

Tohumların iyi nitelikli, iyi beslenmiş, sağlıklı ve çimlenme gücünü korumuş olması gerekir. Tohumu alınacak bitkiler sürekli gözetim altında olmalı ve bakım yapılmalıdır. Olgunlaşan tohumlar elle sıyrılarak alınıp, vakit kaybetmeden iyi drenajlı toprağa ekilmelidir.

1.3.3.2. Ayırma yöntemiyle üretim:

Ana bitki kökleriyle birlikte 3-4 parçaya ayrılmalıdır. Bu yöntemle çok fazla bitki eldesi sağlanmaz. Kökten ayrılan yeni bireyler; gözlenmeli ve bakımlı olmalıdır. Bu şartlarda bitkiler 6-12 ay sonra çiçek açmaya başlar.

1.4. *Anthurium* Yetiştirirken Dikkat Edilecek Özellikler

Tropikal iklim bitkisi olan *Anthurium*, doğal ortamında direkt güneş ışığı maruz kalmayan yarı gölge şartları sever. Sıcaklığı 20°C üzerinde ve nem oranı %80 olan şartlarda iyi gelişir. Klorsuz ve dinlendirilmiş suyla damlama sulama yapılmalıdır. *Anthurium* bitkisine zarar veren afidler, kırmızı örümcekler, yeşil kurt ve sümüklü böceklerdir. Antraknoz ise önemli hastalığıdır.

1.5. Doku Kültürü

Steril durumlarda, suni besi ortamında, bitkinin tamamı, hücre, doku veya organ gibi bitkinin kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesi olarak tanımlanır (Babaoğlu ve ark., 2002). Doku kültürü tekniğinin temelini, bitki hücrelerinin totipotensi yetenekleri ve rejenerasyon olabilmeye özellikleri oluşturmaktadır.

Doku kültürü Schwalk ve Scheilden'in 1838-39 yıllarında hücre çalışmaları ile başlayıp, 1902'de Haberland'in aseptik kültürde, ilk *in vitro* kültür çalışması takip etmiştir. Bitki hücrelerini *in vitro* koşullarda canlı tutmayı başarmıştır. Ancak bitki büyüme düzenleyicilerinin o yıllarda henüz keşfedilmemesi nedeni ile çoğaltmada başarılı olamamıştır. 1904'te Hanning'in Cruciferae (Turpgiller familyası) de embriyo kültür çalışmaları takip etmiştir. 1934'te White, domates köklerini, B vitamini sağlayan bira

mayası ekstresi kullanarak sürekli olarak geliştirmeyi başarmıştır. İlk defa 1950 yılında Prof. F.C. Stewart ve Dr. Georges Morel bitkilerin doku kültürü ile yetiştirilebileceğini göstermişlerdir (Babaoğlu ve ark., 2002).

Doku kültürü sonraki yıllarda germplazm muhafazası, somatik hibridizasyon, haploid bitki üretimi, doğada tozlaşması mümkün olmayan türlerin hibridizasyonu, somaklonal varyasyon ve gen transferi gibi bitki ıslahında uygulama alanlarının yanı sıra, ticari ve ıslah dışı çalışmalarda, hastaliksız bitki üretimi, mikroçoğaltım, sentetik tohum üretimi ve sekonder metabolit üretimi gibi çalışmalarla çeşitlilik göstermeye başlamıştır. Günümüzde ise doku kültürü, daha çok genetik mühendisliğinde bir araç olarak kullanılmaktadır (Çördük, 2007).

Bitki genotipi, fizyolojik durumu, bitkinin yaşı gibi faktörler arasında rejenerasyonu yöneten en önemli faktör bitki büyüme düzenleyicileridir (İşlek ve ark., 2010).

Uygun bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonu ve kombinasyonları seçilerek bir bitkinin hücre, doku veya organ gibi kısımlarından rejenerasyon sağlanabilmektedir (Morsünbül ve ark., 2010).

1.6. Doku Kültürü Besi Ortamı Bileşenleri

Bitki doku kültürü besi ortamları, tamamen yapay ortamda bitkiden alınan herhangi bir parçanın büyüme ve gelişmesini sağlayacak şekilde hazırlanmaktadır. Hazırlanan bu besi ortamları üç temel bileşen içermektedir; bitkinin ihtiyaç duyduğu çoğunlukla toprakta bulunan mineral elementler, organik maddeler (vitaminler, aminoasitler) ve karbon kaynağıdır.

Besi ortamına ilave edilen mineral elementler, bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için gerekli olan elementlerdir ve doku kültüründe yaygın olarak kullanılan besi ortamlarına bitkilerin alabileceği formlarda eklenmektedirler. Bunlar, makro ve mikro elementler olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Makro elementler; besi ortamına büyük miktarlarda ilave edilen elementler iken, mikro elementler ise az miktarlarda ilave edilen elementlerdir (Smith, 2000).

1.6.1. Organik bileşikler

Tiamin (B1 vitamini) ve myoinositol (B vitamini olarak kabul edilen vitamin), bitki hücrelerinin *in vitro* kültürü için önemli olarak kabul edilmektedir. Diğer vitaminler ise,

bitki hücre kültürü ortamına genellikle evrimsel nedenlerle eklenmektedir. Aminoasitler de yaygın organik tamamlayıcılar olarak yer almaktadır. En yüksek sıklıkta kullanılan aminoasit glycinedir (arginin, asparagine, aspartik asit, alanin, glutamik asit, glutamin ve proline de kullanılabilir) (Smith, 2000).

1.6.2. Karbon kaynağı

Sükroz, kolay bulunabilir ve ucuz olması, kolayca asimile edilebilmesi ve nispeten kararlı olması gibi nedenlerle en sık kullanılan karbon kaynağıdır. Sükrozun yanı sıra, diğer karbonhidratlar da (glukoz, maltoz, galaktoz ve sorbitol gibi) kullanılabilir (Smith, 2000).

1.6.3. Jelleşme ajanları

In vitro bitki hücre kültürü ortamları farklı kültür formlarına bağlı olarak, sıvı ya da yarı katı olarak kullanılabilir. Bitki hücre veya dokuları ortam yüzeyinde geliştirilmesi ise, herhangi bir kültür tipi için ortam katılaştırılmış olmalıdır. Agar, deniz yosunlarından elde edilen rutin uygulamalarda en sık olarak kullanılan jelleşme ajanı olarak idealdir. Doğal bir ürün olması nedeniyle kalitelidir (Smith, 2000).

1.6.4. Bitki büyüme düzenleyicileri

Bitki kültürlerinde kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin beş ana sınıfı vardır. Bunlar oksinler, sitokininler, giberellinler, absisik asit ve etilendir.

1.7. *In vitro* Kültür Yöntemleri

Çalışma bir bitkinin steril parçaları ile başlatılmaktadır. Bu parçalar eksplant olarak adlandırılmaktadır. Eksplantlar organ parçalarından, yaprak veya köklerden oluşur. Kültürün başlatılmasında birçok neden eksplantı etkileyebilmektedir (Smith, 2000).

1.7.1. *In vitro* kallus kültürü

Kallus kültürleri; ana bitkiden kesilen ve bölünme özelliğini yitirmemiş organ veya doku parçalarının karbon kaynağı (genellikle sakkaroz) ve bitki büyüme düzenleyicileri (genellikle bir oksin ve bir sitokinin) içeren yarı katı besi ortamında büyütülmesi sonucu oluşan morfolojik düzensizliğe sahip hücre yığını olarak açıklanabilir (Lindsey ve Yeoman, 1985).

Besi ortamına eklenen bitki büyüme düzenleyicileri, kullanılan bitkisel materyallerden ve buradan elde edilen kalluslardan morfojenetik değişiklikler meydana getirebilme yeteneğine sahiptir (Akı, 1997). Oksin ve sitokinin seviyeleri, bitki rejenerasyonu için önemlidir (Molnar ve Ördög, 2005). Özellikle oksin/sitokin oranının *in vitro* morfojenik işlemlerde rejenerasyonu sağlayan en önemli faktör olduğu bilinmektedir (Christianson ve Warnick, 1985). Yüksek oksin/sitokin oranı, genellikle kök oluşumunu teşvik ederken; düşük oksin/sitokin oranı ise sürgün oluşumunu teşvik etmektedir. Bunun yanı sıra, eşit oksin/sitokin oranının ise, organize olmamış hücresel çoğalmaya ve kallus oluşumuna sebep olduğu bilinmektedir (Yamaguchi ve ark., 2003). Fakat *in vitro* koşullarda bitki eksplantlarından kallus gelişiminin sağlanması için, oksin ve sitokin hormonlarının farklı konsantrasyonları kullanılmaktadır (Erden, 2011). Bunun nedeni olarak ise, her bitkide farklı düzeylerde bulunan endojen hormon miktarı gösterilmektedir.

1.8. Mikroçoğaltım

Mikroçoğaltım, bitki kısımlarından yapay besi ortamlarında ve steril şartlarda genetik yapı olarak birbirine benzeyen çok sayıda bitki üretmek amacıyla kullanılan bir doku kültürü tekniğidir.

Tüm Dünya’da yaklaşık 156 süs bitkisi, doku kültürü yöntemi ile farklı ticari laboratuvarlarda üretilmektedir. Doku kültürü, ucuz iş gücü ve düşük maliyet sağlamasına rağmen geleneksel çoğaltım metodlarından çok daha pahalıdır.

Dünya’da 20. yüzyılda klasik ıslah yöntemleri ile elde edilen yeni çeşitler, bitkisel üretimi önemli bir düzeyde arttırmasına rağmen, 21. yüzyılda artan nüfusun ihtiyaç duyacağı bitkisel ürünü karşılamada yetersiz kalacağı düşünülmekte ve bu gibi durumlarda biyoteknolojik yöntemlere başvurulmaktadır. Klonal çoğaltma amaçlı *in vitro* kültür tekniklerini ilk uygulayan araştırmacı Georges Morel olmuştur (Hu ve Wang, 1983). Morel, 1985 yılında orkidelerde sürgün uçlarını kullanarak hızlı bir şekilde mikroçoğaltımı sağlamıştır. Morel’ in bu başarısından sonra, ekonomik önemi olan bitkilerin *in vitro* kültür yolu ile çoğaltılması bu bitkilerin bilinen aseksüel yollarla çoğaltılmasına alternatif olarak görülmeye başlanmıştır. Bugün birçok sera bitkisinde *in vitro* çoğaltma yaygın olarak kullanılmaktadır (Hatipoğlu, 1999).

Yüksek Lisans Tez araştırmasının birinci kısmında, ülkemizde yetiştiriciliği yaygın olmayan, üretim istekleri net olarak bilinmeyen, ticari anlamda süs bitkisi olarak çok fazla tercih edilen, pahalı tropikal ve popüler bir tür olan *Anthurium andreanum* türünün Red Love (kırmızı çiçekli) ve Pink Champion (pembe çiçekli) çeşitlerinin yaprak ve yaprak sapı eksplantlarından sağlıklı kalluslar elde edilecektir.

İkinci kısmında ise kalluslardan sürgün eldesi ve mikroçoğaltım için *Anthurium andreanum* türünün iki çeşidi bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyon ve konsantrasyonları ile desteklenmiş olan MS ortamlarında alt kültür serilerine alınacaktır. Sürgün oluşumu ve bitkiciklerin gelişimi sağlanacaktır. Gelişen bitkiciklerin aklimatizasyonu (toprağa aktarım) gerçekleştirilecektir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Anthurium sp.* İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Chen ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada *Anthurium andraeanum* UH1060, Alii ve Anuenue çeşitlerinde kök eksplantlarından 2.2. µM BA içeren MS ortamında kallus ve sürgün elde etmişlerdir. Sürgünleri seraya transfer etmişlerdir. Anuenue çeşidi 16 ay içinde çiçeklenmiştir. Diğer çeşitlerin sürgünleri ise başarısız olmuştur.

Somaya ve ark. (1998) çalışmalarında *Anthurium* tohumları eksplantları kallus teşvikinde 2 mg/L 2,4-D kullanılan MS ortamın kullanmışlardır. Yaprak petiol kök kallus oluşumu en iyi 0.25 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L BA kombinasyonunda, sürgün oluşumu ise en iyi 1 mg/L BA kullanılan MS ortamında vermiştir. Köklendirme yaparken oksin kullanmadan başarıya ulaşmışlardır fakat 0.25 mg/L NAA kullanıldığında köklerin sayısının ve kalitesinin arttığı gözlemlenmiştir.

Wang (1999) yaptığı çalışmada *Anthurium schott* bitkisinin Pink Aristocrat, Patty Anne, Purple Viking, Royal Pink, Royal Orange ve Royal Red saksılara dikilmiş ve maksimum 30°C sıcaklıkta yetiştirmiştir. GA₃ koşullarında 7, 9 ve 13 ay sonunda değerlendirmiştir. Dikimden 7 ay sonra uygulanan GA₃, çiçek üretimini teşvik etmemiştir. Ilık ve sıcakta, Pink Aristocrat hariç, diğer çeşitlerde yaralanmalar olmuştur. Yaprak kenarlarında sarı yapraklar ve nekroz sıcak bölgesinde bitkiler üzerinde belirginleşmiştir. Pink Royal ve Royal Red bir yıl sonra floriferous az olmuştur. Diğer çeşitlerin çiçekleri yüksek sıcaklık altında soluk iken Royal Red çiçek rengi, yüksek sıcaklıktan etkilenmemiştir. Çalışma sonunda maksimum 30°C sıcaklığın *Anthurium* çeşitlerinin yetiştirilmesinde, kaliteli ve yüksek çiçek verimi sağlamak için tavsiye etmiştir.

Zhang ve ark. (2001) *A.andreanum* bitkisinin yaprak eksplantlarından 0.1 mg/L BA içeren MS ortamında kallus oluşumu sağlamışlardır. Sürgün oluşumu için ise 0.05 mg/L NAA ve 0.8 mg/L BA içeren MS ortamı kullanmışlardır. 0.1 mg/L NAA veya IBA içeren MS ortamlarında ise köklendirme başarısı sağlamışlardır.

Özçelik ve Özkan (2002) yaptıkları araştırmada yetiştirme ortamı olarak Nevşehir yöresinden temin edilen 4-16 mm çapında Pomza ve Mapito kullanmışlardır. *A. anderanum* her parselde 48 çift bitki olacak şekilde 4 defa dikmişlerdir. Deneme süresince yetiştirme ortamların ve bitkilerin beslenmesinde kullanılan standart besi solüsyonlarının

pH, EC ve bitki besi maddelerindeki değişimler ile ortamlardaki bitki su tüketimleri ve yaprak analizleri yapılarak sonuçlar irdelenmiştir. Ortamların başlangıç pH değerleri yetiştiricilikte düşmüştür. Bu düşüş Pomza'da daha fazla olmuştur. EC değerleri Pomza'da Mapito'ya göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Martin ve ark. (2003) *Anthurium andraeanum* bitkisinde çiçekli örneklerden lamina eksplantı olarak Tinora Kırmızı ve Senatör çeşitlerinin MS ortamında mikroçoğaltımını yapmışlardır. Gözlemlerine göre farklı çeşitlerinde pH büyüme düzenleyiciler lamina evrelerini etkilemiştir. Kallus oluşumu genç kahverengi lamina eksplantlarının genç yeşil lamina eksplantlarından üstün olduğu 1.11 μM BA ihtiva eden yarı MS ortamının iyi sonuç verdiği, 1.14 μM IAA, ve 0.46 μM Kin sürgün oluşumunun uyarılması için en etkili ortam olduğunu görmüşlerdir. Düşük konsantrasyonda BA kullanımı alt kültür sırasında kallus içermeyen sürgün çoğalması için gerekli olduğunu saptanmışlar, rejenerasyon sürgünler 0.54 μM NAA ve 0.93 μM Kin ile desteklenen, yarı MS ortamı ile köklenmesini sağlamışlardır. Köklenme yüzdesi sırasıyla Tinora Kırmızı ve Senatör çeşitlerinde %100 ve %99 başarılı olarak tanımlamışlardır.

Vargas ve ark. (2004) *A. andraeanum* tohumlarını 2.2 μM BA içeren MS ortamına ekimini yapmışlardır. İki hafta sonra tohumlarda %74 oranında çimlenmeyi sağlamışlar, dört hafta sonra 4 μM BA ve 0.05 μM NAA içeren MS ortamına almışlardır ve altkültür aktarımından dört hafta sonunda ortalamada, eksplant başına %3.6 sürgün elde etmişlerdir. 8.9 μM BA ve 2.7 μM NAA içeren MS ortamına aktarmışlar ve altı hafta sonunda kallus başına %43.8 sürgün olduğu gözlemlenmiştir. Saksılara transfer edilen bitkiciklerden %80 oranında başarılı olduğunu gözlemlenmiştir.

Silva ve ark. (2005) çalışmalarında *A. andreanum* türünün mikroçoğaltım tekniği ile cam şişeler içinde fiziksel etmenlerin etkisine bakmışlardır. Agar ve taşıyıcı tabanlı yüzeylerde havalandırmada bitkinin gelişimi incelemişlerdir. Çalışma sonunda yeterli havalandırma ile agarın en iyi substrat olduğu kanıtlamışlardır.

Lima ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada *A. andraeanum* bitkisinin *in vitro* köklendirilmesi ve arbuskular mikoriza fungusunun etkilerine bakmışlardır. Köklendirmede en iyi ortamın 5.71 μM NAA ilave edilmiş sıvı MS ortamının olduğunu gözlemlenmiştir. Köklerin arbuskular mikoriza fungusunun verilmeyen kontrol grubuna göre suyu ve fosforu daha iyi emdiği ve ortama daha kısa sürede alıştığını gözlemlenmiştir.

Nhut ve ark. (2006) *Anthurium* bitkisinin on çeşidinde mikroçoğaltım denemeleri yapmışlardır. Bunlar Carnaval, Neon, Choco, Sonate, Midori, Pistache, Tropical, Safari, Arizona ve Cancandır. 1 mg/L BA, 0.08 mg/L 2,4-D, büyüme düzenleyicisi bulunan tam MS ortamında çalışma yapmışlar ve 100 gün sonra en yüksek kallus gelişimi Pistache'de gözlemişlerdir. Carnaval ve Cancan da gelişme olmamıştır. 1 mg/L BA ilavesi olan ½ MS ortamında altkültüre alındığında Tropical %10.1 Choco %4.3 ve Pistache %3.5 oranında sürgün oluşmuştur. Bütün sürgünlere ¼ MS ortamına kömür ilave edilerek ekim yapmışlardır. 30 gün sonra bitkiler saksılara aktarıldığında iyice gelişmiştir. Bitkini toprağa alışma sürecinin tamamlanması 10.5 ay sürmüştür.

Duquenne ve ark. (2007) çalışmalarında *Spathiphyllum wallisii* Alain ve *Anthurium scherzerianum* 238'in somatik embriyo ve yapraklarından protoplastların izolasyonu üzerinde çalışmışlardır. *Spathiphyllum wallisii* ve *Anthurium scherzerianum* embriyo ve yapraklarından sırasıyla yaklaşık 106 g/L ve 105 g/L oranlarında protoplast izole etmişlerdir.

Viégas ve ark. (2007) bu araştırmada *A.andreanum* bitkisinin yaprak eksplantlarından kallus sağlamak için 1 mg/L BAP ve 0.08 mg/L 2,4-D ile ½ MS kullanmışlardır. Sürgün indüksiyon ortamı ise 0.5 mg/L BAP ile MS olduğunu belirtmişlerdir.

Atak ve Çimen (2009) *A.andraeanum* bitkisinin Arizona ve Sumi yaprak kalluslarından sürgünler elde etmişlerdir. Kallus indüksiyon ortamının 0.6 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L BA ile ½ MS bazal tuz olduğunu belirtmişlerdir. Sürgün için ise 250 mg/L NH₄NO₃, 0.1 mg/L 2, 4-D ve 1 mg/L BA ½MS ortamı kullanmışlardır. Köklenme ortamına 1 mg/L IBA ve %0.04 aktif karbonlar takviye etmişlerdir. Arizona çeşitli eksplantlarının sürgün sayısı Sumi'ye kıyasla artmıştır. Kök yüzdelerini %98 ve %95 olarak bulmuşlardır.

Harb ve ark. (2010) yaptıkları araştırmada, *A.andreanum* bitkisinin kallus oluşumu için 3 mg/L NAA ilave edilen MS ortamı kullanmışlardır. Maksimum sürgün oluşumu 0.5 mg/L NAA ve 2 mg/L 2 IP kombinasyonu olan MS ortamında meydana gelmiştir. Sürgünler 2 mg/L IBA ile ½ MS ortamında köklenmiştir. Köklenen bitkileri %100 başarı ile saksılara aktarmışlardır.

Maitra ve ark. (2012) çalışmalarında adventif tomurcuk eksplantından *Anthurium* türünün doğrudan rejenerasyonu çalışmışlardır. %15 hindistan cevizi suyu ile desteklenmiş 1 mg/L NAA, 3 mg/L BAP ve 1 mg/L NAA, 1 mg/L BAP ½ MS ortamları karşılaştırıldığında daha az sitokin olduğu grup daha az elverişli olduğu görülmüştür. Ayrıca 2 mg/L IBA köklenme için kullanılmış fakat çok yararlı olmamıştır. 1 mg/L NAA ve 3 mg/L IBA içeren ½ MS ortamda köklenmenin olduğu saptanmıştır. %84 oranında başarı sağlamışlardır.

Farsi ve ark. (2012) *A. andreaum* bitkisinin yaprak eksplantları 0.1 mg/L 2,4-D ve 1.5 mg/L BAP bulunan MS ortamına almışlardır. Oluşan kalluslar hiçbir bitki büyüme düzenleyicisi olmayan MS ortamına aktarıldığında altı hafta sonra sürgün oluştuğu görmüşlerdir. Köklendirme aşamasında da bitki büyüme düzenleyicisi olmayan MS ortam kullanılmış ve başarı sağlamışlardır. Elde edilen bitkicikler torf:perlit karışımı içeren saksılara alınmış ve aklimatizasyon işlemi başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Raad ve ark. (2012) *Anthurium andreaum* bitkisinin Casino ve Antadra çeşitlerinin kallus teşviki ve organogenesis kapasitesini ölçmek için petiol eksplantı ile çalışmışlardır. NAA ve BA düzenleyicilerinin farklı konsantrasyonları denediklerinde 65 gün sonra en iyi sonuç veren ortamın 0.5 mg/L NAA + 3 mg/L BA olduğunu saptamışlardır. Sürgün için ise 0.01 mg/L NAA + 1 mg/L BA ortamının olduğunu görmüşlerdir. Kallus ve sürgün gelişiminde Antadra çeşidinin Casino çeşidine göre daha çok gelişim gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Köklenme de ise 1 mg/L IBA + 0.2 mg/L Kin ortamı kullanılmış olup, Casino çeşidinin daha çok gelişim gösterdiği, toprağa aktarıldığında da %96 başarılı olduğunu belirlemişlerdir.

2.2. Diğer Süs Bitkileri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Geneyikli (2009) yaptığı çalışmada *Spathiphyllum* bitkisinin 3 çeşidinin sürgün ucu kültürü yöntemi ile farklı ortamlarda mikroçoğaltımı yapmıştır. Mikroçoğaltımın birinci denemesinde bitkicikler, Kin ve BA içeren MS ortamında kültüre almıştır. Çalışmanın ikinci denemesinde, 3 çeşitte, ve NAA'nın 12 farklı kombinasyonu kullanılarak kardeşlendirme oranları incelemiştir. Üçüncü denemede ise yüksek BA ve NAA 12 farklı kombinasyonunu içeren MS ortamlarına bitkicikler aktararak kardeşlenme oranları ve yüksek sitokin konsantrasyonunun neden olduğu somaklonal varyasyonlar incelemiş ve istatistiksel olarak hesaplamıştır. BA-Kin denemelerinde elde edilen en iyi kardeşlenme oranı 1 mg/L BA içeren MS ortamından elde etmiştir. BA, NAA ile kurulan 12 farklı

denemede ise en iyi kardeşlenme oranı sırasıyla 3 çeşitte 1 mg/L BA içeren ortamda kaydetmiştir. Üçüncü denemede ise 8 mg/L BA içeren ortamlarda gelişen bitkiciklerde yaprakların mızrak şeklinde deforme olduğu ve somaklonal varyasyon görüldüğü hem görsel hem de RAPD analizleri kullanarak saptamıştır.

Hasançebi ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada endemik bir tür olan *Astragalus chrysochlorus* Boiss ve Kotschy için sitokinden bir mikroçoğaltım ve kök kültürü protokolü geliştirilmişlerdir. Bu çalışma ile geliştirilen ve optimize edilen *in vitro* mikroçoğaltım, kallus ve kök kültürü protokolleri, *Astragalus* L. türlerinin vejetatif çoğaltımına ve sekonder metabolit çalışmaları için hücre/kök kültürlerinin kullanımına olanak sağladığını belirtmişlerdir.

Arıcı (2011) yaptığı bu çalışmada *Spathaphyllum* Sweet Chico çeşidinin doku kültürü teknikleri ile çoğaltım olanakları araştırmıştır. Meristemlerde en fazla sürgün ile 0.2 mg/L NAA ile 4 mg/L BAP hormon kombinasyonunda gerçekleştiğini gözlemiştir. En iyi kök oluşumunun 1 mg/L IBA içeren MS ortamı üzerinde gerçekleştiğini belirlemiştir. Uygun kök uzunluğuna sahip olan bitkiler torf ve kum 1:1 (v/v) karışımına dikimi yaparak doğal koşullara adaptasyonlarını sağlamıştır. Böylece *Spathaphyllum* Sweet Chiconun hızlı ve klonal çoğaltımı için bir protokol oluşturmuştur.

Mariani ve ark. (2011) *Aglaonema* türünün mikroçoğaltımını aksiller sürgünler kullanarak gerçekleştirmişlerdir. 1.5 mg/L TDZ ve 3 mg/L BAP ile desteklenmiş MS ortamında on hafta sonra sürgün oluşumu gerçekleştirmişlerdir. 3 mg/L IBA içeren MS ortamı üzerinde köklendirmeyi sağlamışlardır. Toprağa transferi %100 başarılı bir şekilde sağlamışlardır.

Kara (2011) yaptığı çalışmada, Lavanta bitkisinin lavander ve lavandin çeşitlerinde, *in vitro* mikroçoğaltım yoluyla sağlıklı çok sayıda fidan üretimini gerçekleştirmiştir. Bu araştırmanın ışığında, özellikle geleceği tehlike altında olan endemik bitkilerin, ülkemiz florasında bulunmayan ancak ekolojik olarak yetiştirilmesi mümkün olabilen bitkilerin mikroçoğaltımı yapılabileceğini ispatlamıştır.

Royandazgh ve ark. (2014) bu çalışmada *in vitro* mikroçoğaltım yöntemi ile *Lilium candidum* (akzambak soğancık) üretim süresi 1 yılda tek dönemden, yılda 3 dönem soğan üretimine indirmişlerdir. Yapılan denemeler sonucunda *L. candidum* bitkisinin soğan pul

yaprakları eksplant olarak kullanmışlar ve en iyi sonuçları 0.6 mg/L TDZ 0.2 mg/L NAA ve 0,3 mg/L aktif karbon içeren ortamdan elde etmişlerdir.

Sessiz (2015) *Hyacinthus orientalis* (sümbül) bitkisine ait olgunlaşmamış embriyolar çiçeklenmeden yaklaşık 8-11 gün sonra alınmış ve farklı konsantrasyonlarda TDZ, TDZ + NAA, Kin ve Kin + NAA içeren MS ortamlarında kültüre almıştır. Buradan çimlenen embriyolardan alınan basal yapraklar BAP ve NAA içeren MS ortamında kültüre almıştır. Sümbül basal yapraklarından kallus ve soğancık oluşumu gözlemiştir. Elde edilen soğancıklarda yaprak uzunluğu ve çap artışı sağlamak için önce modifiye MS ortamına, daha sonra 20 mg/L GA₃ içeren MS ortamına almıştır. *Hyacinthus orientalis* bitkisi soğanlarında soğanda çap artışı sağlamış ve köklendirme ortamına almıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Yüksek Lisans Tez araştırmasında Araceae familyasından *Anthurium andreanum* L. türüne ait olan Red Love ve Pink Champion çeşitleri kullanılmıştır. Bitki materyaline ait olan sertifikalı 4 adet anaç bitki, süs bitkileri satan Buse Çiçekçilik Ltd. Şti. firmasından alınmıştır.

3.1.2. Kimyasal maddeler

- Metanol (Sigma 24229),
- Etanol,
- Murashige and Skoog Basal Medium (MS) (M9274),
- myo-inositol
- Sukroz (Sigma S9378),
- Agar (Acumedia 7178),
- α 6-Benzylamino purine (BAP),
- 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2-4 D)
- Naphthaleneacetic acid (NAA) (Sigma N0640),
- Sodyum hipoklorit (NaClO)
- Perlit
- Hoagland çözeltisi

3.1.3. Sarf malzemeler

Petri kapları, piset, mezür, pens, bistüri, fayans, kurutma kağıdı, alüminyum folyo, streçfilm, beher, mikropipet uçları, eldiven.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki büyüme düzenleyicilerinin hazırlanması

Bitki büyüme düzenleyicilerinden sentetik olarak kullanılan oksinlerden 2,4-diklorofenoksitasetik asit (2,4-D) ve 1-naftalinasetik asit (NAA), sitokininlerden 6-benzilaminopürin (BAP) kullanılmıştır. Bu bitki büyüme düzenleyicileri stok solüsyon halinde hazırlanarak kullanılmışlardır. Stok solüsyon hazırlanırken 1 mg/mL olacak şekilde

bu bitki büyüme düzenleyicilerinin çözücüleri ve saf su ile hazırlanmıştır. BAP'ın ve NAA'nın çözücüsü NaOH, 2,4-D'nin ise etanoldür. Hazırlanan stoklar solüsyon miktarı genellikle 5 mL ya da 10 mL olarak hazırlanmıştır.

3.2.2. Besi ortamlarının hazırlanması

Kullanılan bütün eksplantlar, Murashige ve Skoog (MS) besi ortamında kültüre alınmışlardır. Hazır (Sigma-S5519) MS temel besi ortamının (Murashige ve Skoog, 1962) yanı sıra, karbon kaynağı olarak süzkroz (%3) (Sigma-S-5391) ve ortam yarı-katılaştırıcı olarak agar (%0.8) (Merck-1.01613.0500) kullanılmıştır. Ortamın pH'sı otoklavlamadan önce 1N NaOH ve 1N HCl kullanılarak 5.75 – 5.80 olarak ayarlanmıştır ve bu ayarlamadan sonra ortama agar ilave edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri besi ortamına otoklavlamadan önce ilave edilmiştir. Çalışmada *A. andreanum* bitkisinin yaprak eksplantlarından kallus teşviki üzerine farklı oksin ve sitokin oranının etkileri araştırılmıştır. Çizelge 3.1.'de verilen farklı konsantrasyonlarda 2,4-D, NAA ve BAP içeren MS besi ortamları kallus teşvik ortamı olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. BAP, 2,4-D ve NAA içeren kallus teşvik ortamları (mg/L)

Ortam No	2,4-D	NAA	BAP
1.Ortam	0.1	-	1.5
2. Ortam	0.2	-	2.5
3. Ortam	0.1	-	1.0
4. Ortam	0.1	-	3.0
5. Ortam	0.6	-	1.0
6. Ortam	1.0	-	1.0
7. Ortam	-	2.0	2.0
8. Ortam	-	4.0	2,0
9. Ortam	-	5.0	2.0

3.2.3. Eksplant sterilizasyonu

Bitki doku kültürü şartlarında yapay besi ortamları kullanılarak çalışılmaktadır. Bu yapay besi ortamı mikroorganizmaların gelişimi için de gerekli besi bileşenlerini barındırdığı için mikroorganizma gelişimine açıktır. Kullanılan bitki materyalinin mikroorganizmalarla bulaşmış hale geçmesine kontaminasyon denilmektedir. Bitki doku kültürü çalışmalarında bu kontaminasyon faktörünü ortadan kaldırmak için malzemeler ve hazırlanan besi ortamlarının sterilizasyonu çok önemlidir. Hazırlanan farklı sterilizasyon serilerinde farklı kontaminasyon yüzdeleri belirlenmiştir. Serilerin her birinde 10 petri her bir petride dört yaprak eksplantı bulunmaktadır ve her seri üç tekrarlı olarak hazırlanmıştır. Aynı seriler petiol için de hazırlanmıştır. Kullanılan solüsyonlar ve miktarları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Sterilizasyonda kullanılan solüsyonlar

Sterilizasyon No	Etanol(%70)	NaClO
1	1 dk etanol	5 dk NaClO %5
2	1 dk etanol	5dk NaClO %10
3	1 dk etanol	5dk NaClO %20
4	1 dk etanol	7 dk NaClO %5
5	1 dk etanol	7dk NaClO %10
6	1 dk etanol	7dk NaClO %20
7	1 dk etanol	10dk NaClO %5
8	1 dk etanol	10dk NaClO %10
9	1 dk etanol	10dk NaClO %20

Bitkilerin eksplant olarak kullanılacak yaprakları ve petiolleri akan çeşmede 20 dk boyunca kalmıştır. %70'lik etil alkolde bekletildikten sonra belirli oranlarda sodyum hipoklorit (NaClO) içerisinde 1-2 damla Tween-20 ilave edilen karışımda beklerken steril kabin içerisine alınmıştır son olarak üç defa steril saf sudan geçirilerek sodyum

hipokloritin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Steril kurutma kağıtları ile kurutularak çalışmaya hazır hale getirilmiştir.

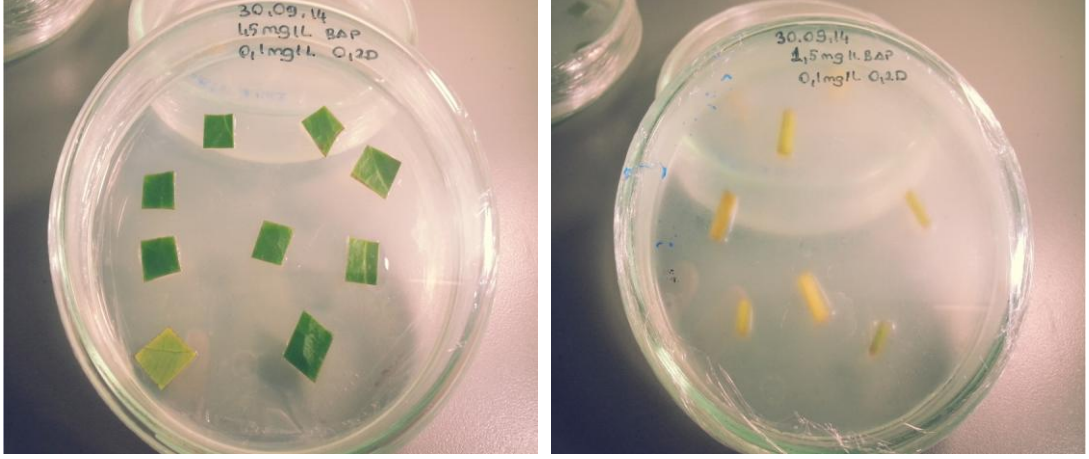
3.2.3.1. Cam Malzemelerin ve besi ortamlarının sterilizasyonu

Denemelerde kullanılan cam malzemelerin tümü öncelikle deterjanlı ve sodyum hipokloritli su ile yıkanarak organik maddelerden arındırılmaya çalışılmıştır. Kurutulan bütün cam malzemeler ve eksplant kesimi için kullanılan fayanslar alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra 121°C'de 1 atmosfer basınç altında 15 dk otoklavda sterilize edilmiştir.

Belirlenen miktarlarda hazırlanan yapay besi ortamları erlen mayer içerisinde 121°C'de 1 atmosfer basınçta 15 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir. Çalışmada kullanılan yapay besi ortamlarının içine agar eklediğinden dolayı ortamlar tamamen soğuyup katılaşmadan önce yaklaşık 45-50°C'ye geldiğinde steril cam petrilere 20 mL olacak şekilde dökülmüştür. Bu şekilde henüz sıcakken petrilere dökülen besi ortamlarında kontaminasyon riski azalmıştır. Kullanılan petrilerin etrafı ise streç film ya da parafilm ile üç kat olacak şekilde kapatılmıştır.

3.2.4. Kallus eldesi ile ilgili yöntemler

Bitkilerin sağlıklı ve genç yaprak ve petiollerinden alınan ve yüzey sterilizasyonu yapılan yapraklar 1x1 cm ve petioller de 1 cm olacak şekilde bistüri yardımı ile kesilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda 2,4-D, NAA ve BAP ilave edilen MS besi ortamını ve bitki büyüme düzenleyicisi ilave edilmeyen MS0 besi ortamını 20 mL olarak içeren her bir petrinin alt yüzeyleri altta bırakılarak yaprak eksplant ekimi yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (oksinler, sitokininler) uygulanarak bu maddelerin *A. andreanum* bitkisinin yaprak ve petiol eksplantlarından kallus oluşturma potansiyelleri incelenmiştir. Bu amaçla MS0 besi ortamına Şekil 3.1'de gösterilen 2,4-D, NAA ve BAP kombinasyonunun farklı konsantrasyonu ilave edilerek denemeler her seride 20 petri olacak şekilde üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Petrilerin etrafı streç film ile kaplanmıştır. Daha sonra Şekil 3.2.'de gösterildiği gibi petriler 4 hafta boyunca 27±2°C'de karanlıkta, (Puchooa ve Sookun, 2003; Nhut ve ark., 2006; Te-chato ve ark., 2006) sonraki haftalarda ise 16/8 gece/gündüz fotoperiyodunda ve 25±2°C ve 28.000 lüks floresan ışık şiddetine ayarlanmış bitkiler Şekil 3.3.'deki gibi bitki yetiştirme odasına yerleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Kültür başlangıç aşamasındaki eksplantlar



Şekil 3.2. Eksplantların karanlık ortamda bitki yetiştirme odasına yerleştirilmesi

Elde edilen kalluslar 4 haftada bir olmak üzere alt kültüre alınmıştır. Kallus kültürlerinin gelişimleri bitki yetiştirme odasında olmuştur. Eksplantların kültür ortamlarına aktarımlarının tamamı VFSS 1206 Dan-Laf Laminar Flow Kabin içerisinde yapılmıştır. Hazırlanan kültür ortamlarına aktarılan eksplantlardaki değişimler. Olympus SP-800UZ fotoğraf makinesi ile fotoğraflandırılmıştır.



Şekil 3.3. Ekim yapılan petrilerin bitki yetiştirme odasına yerleştirilmesi

3.2.5. Sürgün eldesi yöntemleri

Araştırmanın daha sonraki aşamalarında *A. andreanum* Red Love ve Pink Champion çeşitlerinin yaprak ve petiol eksplantlarından elde edilen kallusların geliştirilerek sürgün oluşturabilmesi için farklı bitki büyüme düzenleyicisi kombinasyon ve konsantrasyonları ile devam edilmiştir.

Çalışmanın tamamen steril şartlar altında olması için, kullanılan fayans, pens, bistüri ve petriler %99.5'lik etil alkolle tamamen temizlenerek laminar akışlı steril kabin içerisine alınmıştır. Kullanılanlar, steril kabin içerisindeyken UV lambası yarım saat süreyle açık bırakılarak sterilize edilmiş ve aktarımlar steril kabin içerisinde yapılmıştır. Fayans üzerinde pens ve bistüri yardımı ile sadece gelişen kalluslar ayrılıp taze hazırlanmış ortamlara aktarılmıştır. $\frac{1}{2}$ MS ortamına eklenen 0.5 mg/L'lik BAP konsantrasyonunda başarılı bir şekilde sürgün elde edilmiştir.

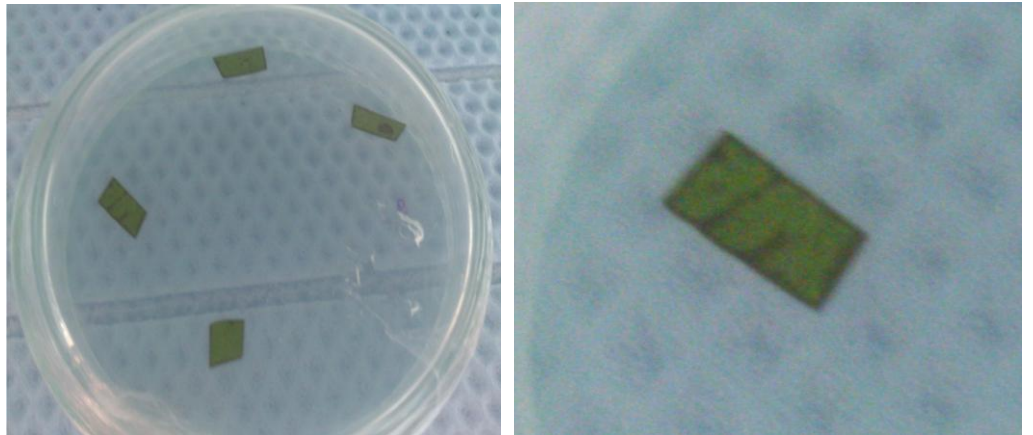
BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Yüzeysel Sterilizasyonu ile İlgili Bulgular

Bitkilerin eksplant olarak kullanılacak yaprakları ve petiollerin sterilizasyonu yapılırken bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS0 besi ortamında seride yer alan 10'ar petride en iyi sonucun Çizelge 3.2.'de gösterilen 6. denemenin verdiği görülmüştür. Bitki yaprak ve petiolleri akan çeşmede 20 dk boyunca kalmıştır. 1 dakika %70'lik etil alkolde bekletildikten sonra 7 dakika %20'lik sodyum hipoklorit ve 1-2 damla Tween-20 ilave edilen karışımda beklerken steril kabin içerisine alınmıştır. Son olarak üç defa steril saf sudan geçirilerek sodyum hipokloritin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Petriler 2 hafta durmak üzere bitki yetiştirme odasına yerleştirilmiştir. Eksplant olarak kullanılacak yaprak ve petiollerin 1 dakikadan fazla etanolde durduğunda eksplantların kenarlarının karardığı gözlenmiştir. Eksplant olarak kullanılacak yaprak ve petiollerin 7 dakikadan fazla sodyum hipokloritte durduğunda eksplantların kenarlarının karardığı gözlenmiştir, 7 dakikadan az durduğunda ise steril süresinin yeterli olamamasından kaynaklanan kontamine oluşumu gözlenmiştir.

Yapraklarda yüzeysel sterilizasyon için denenen 9 seriden alınan sonuçlara göre, en yüksek ve en düşük kontaminasyon değerleri Çizelge 3.2.'deki 1., 2. ve 6. serilerinde sırası ile %80, %85 ve %10 olarak saptanmıştır. Bunun yanı sıra eksplantlarda meydana gelen kararma problemi de 9. ve 6. yüzeysel sterilizasyon serileri ile bağlantılı olarak sırası ile %87 ve %12 olarak saptanmıştır.



Şekil 4.1. Sterilazyondaki kararma problemi

4.2. Kültür Ortamlarına İlişkin Bulgular

4.2.1. Kallus teşvik ortamlarına ilişkin bulgular

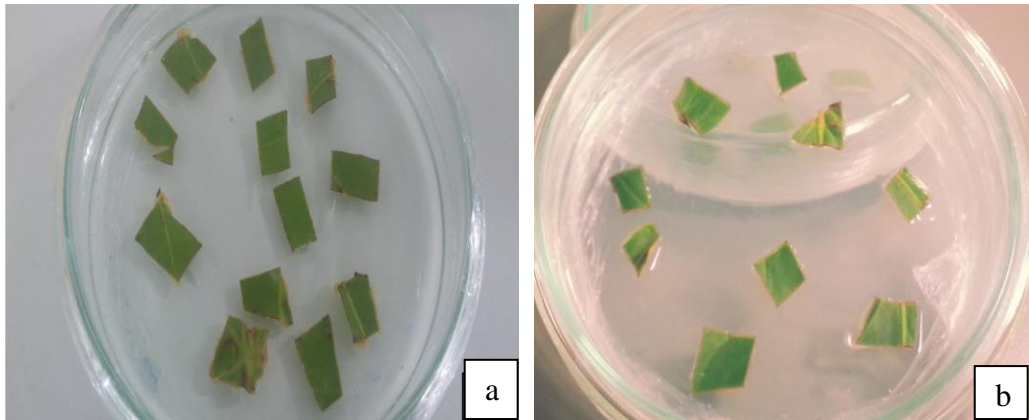
Kallus teşvik ortamlarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyon ve konsantrasyonları (Çizelge 3.1.) kallus oluşumları üzerinde farklılık göstermiştir.

Çizelge 3.1.'de verilen kallus oluşununu teşvik edici bitki büyüme düzenleyicilerini (NAA, 2,4-D, BAP) içeren MS besi ortamı serilerinde, eksplantın ortama aktarılmasını takip eden beş hafta sonunda kallus gelişiminin olumlu yönde gerçekleştiği saptanmıştır. Diğer ortamlarda ise önemli bir gelişme olmamıştır. En iyi kallus gelişim ortamının ise 0.1:1.5 mg/L 2,4-D:BAP içeren MS besi ortamı olduğu belirlenmiştir.

Bu ortamda ekimi yapılan eksplantların %83 oranında kallus oluşturduğu belirlenmiştir. Kallus gelişiminin en zayıf olduğu ortamların ise %0 olmak üzere 7.-8. ve 9. ortamlar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

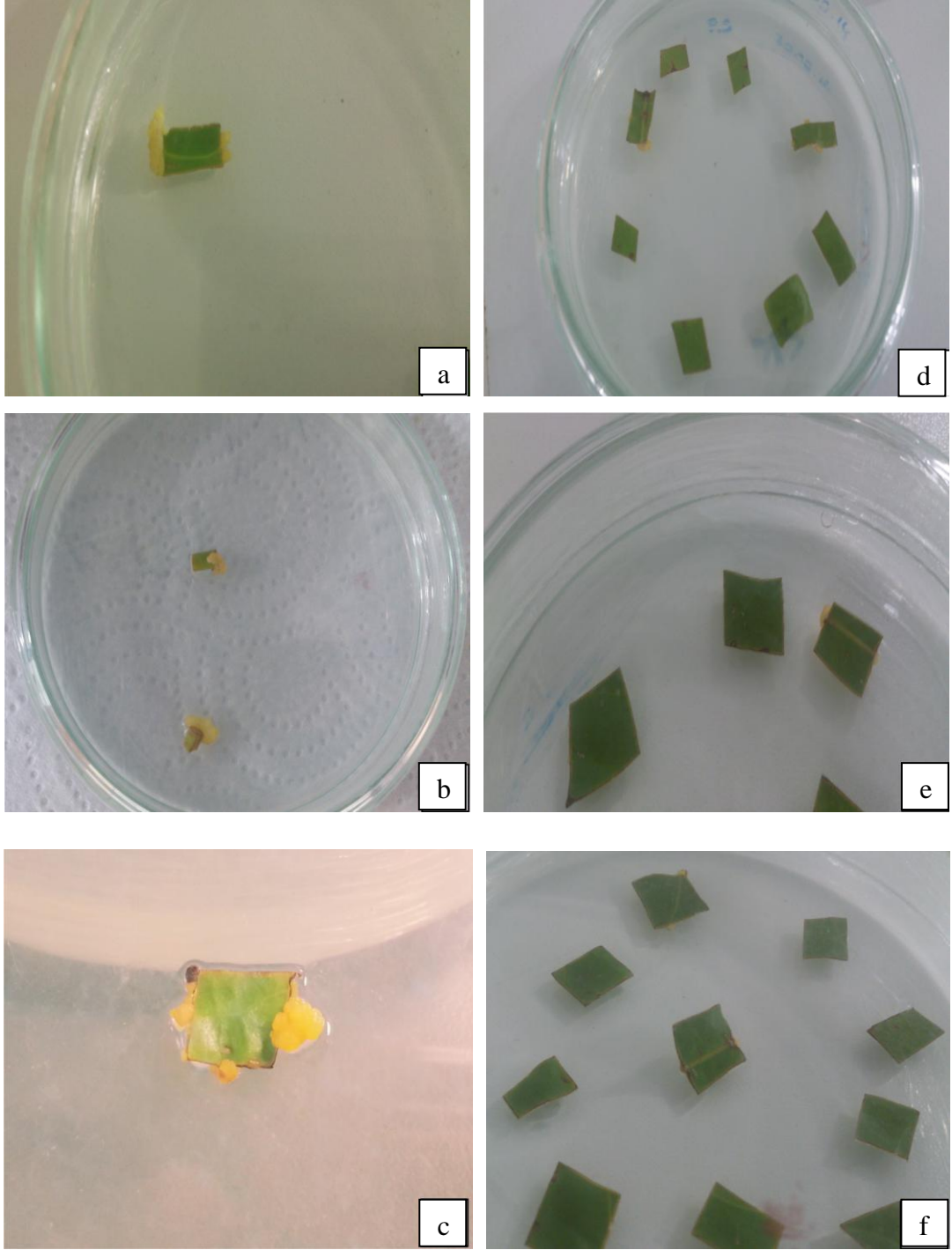
A. andreanum türünün Pink Champion eşidinde eksplantlardan kallus gelişimi en fazla %6 oranında uyarıldığından dolayı sürgün oluşturma çalışmalarına Red Love eşidi ile devam edilmiştir (Çizelge 4.2.).

A. andreanum türünün (a) Red Love ve (b) Pink Champion eşidinde 0.1:1.5 mg/L 2,4-D:BAP içeren MS besi ortamlarına eksplant ekimi yapıldıktan beş hafta sonra eksplantların yaralı yüzeylerinde gözlenen kabarmalar Şekil 4.2.'de verilmiştir.



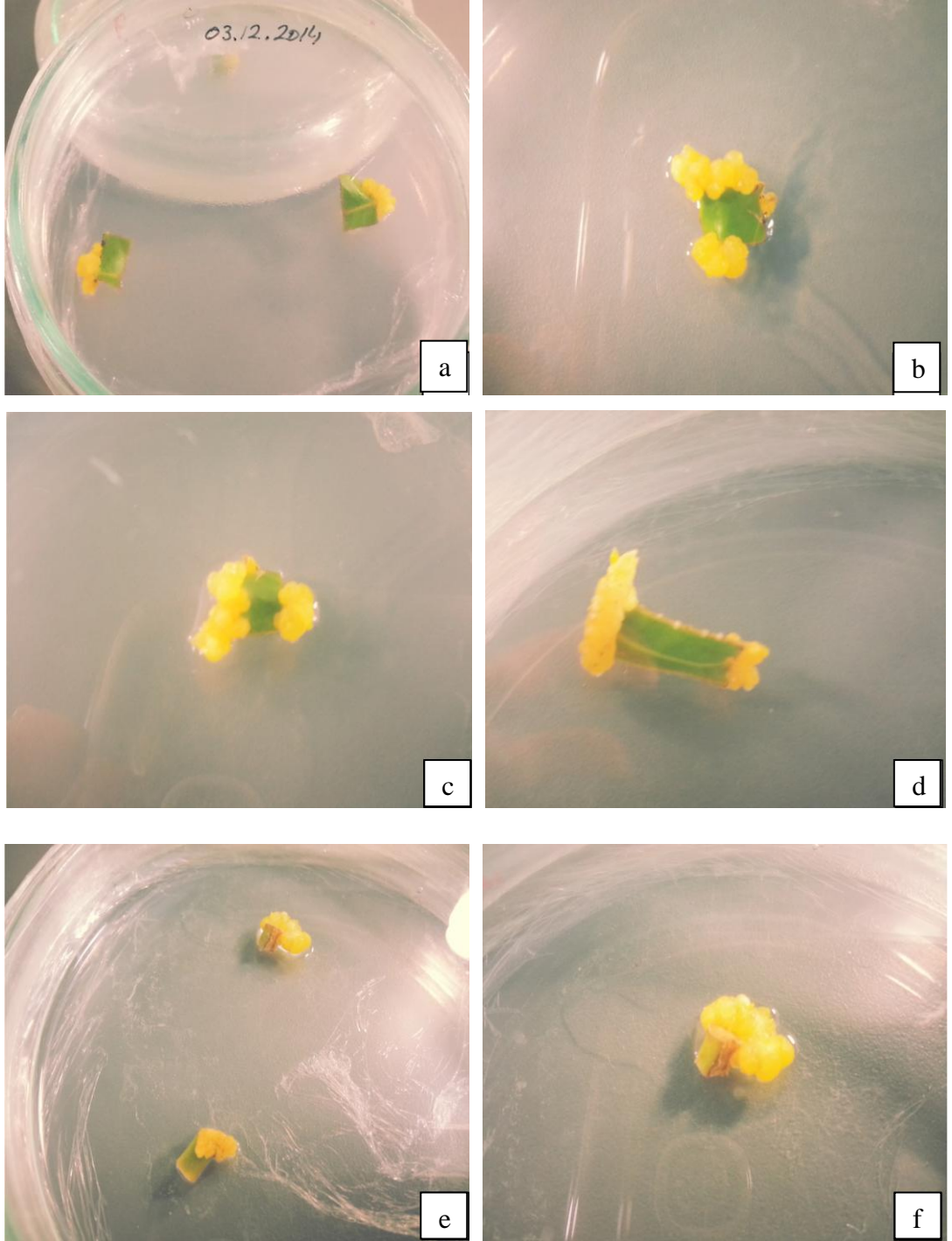
Şekil 4.2. Eksplant ekiminden 5 hafta sonra meydana gelen kabarmalar

0.1:1.5 mg/L 2,4-D:BAP içeren MS besi ortamlarına eksplant ekimi yapıldıktan 8 hafta sonra Red Love ve Pink Champion eksplantların yaralı yüzeylerinde gözlenen kallus Şekil 4.3'te verilmiştir. Red Love eŐidinde (a, b, c) gelişme gözlemlenirken, Pink Champion eŐidinde (d, e, f) geliŐmenin çok az olduğu görülmektedir.

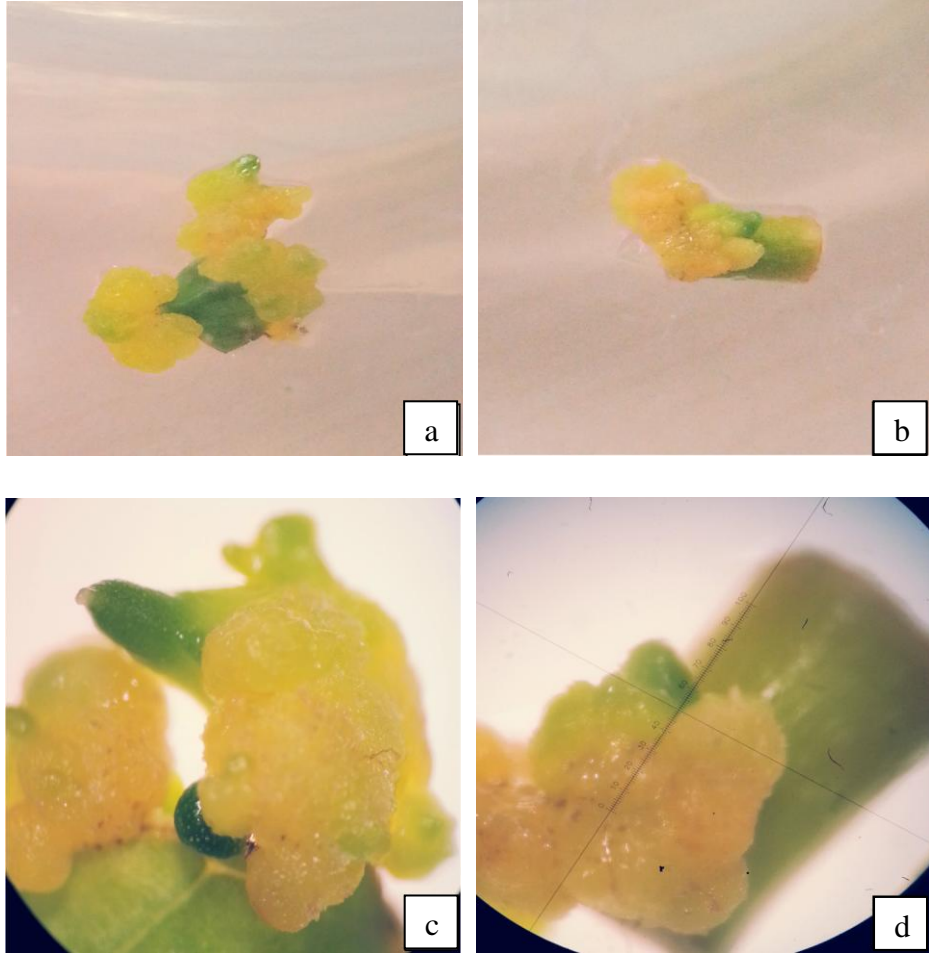


Şekil 4.3. Eksplant ekiminden sekiz hafta sonra Red Love, Pink Champion

0.1:1.5 mg/L 2,4-D:BAP içeren MS besi ortamlarına Red Love çeşidinde eksplant ekimi yapıldıktan 10 hafta sonra (Şekil 4.4.) ve 13 hafta sonra (Şekil 4.5.) eksplantların yaralı yüzeylerinde gözlenen daha yoğunlaşmış sarı renkte ve gevrek yapıdaki kallus oluşumları gözlemlenmiştir. Pink Champion çeşidinde ise kayda değer bir gelişme olmadığı için çalışmaya sadece Red Love çeşidi ile devam edilmiştir.



Şekil 4.4. Eksplant ekiminden on hafta sonra (a-d) yaprak, (e-f) petiol



Şekil 4.5. Eksplant ekiminden onüç hafta sonra (a) yaprak (b) petiol (c-d) stereo mikroskop görüntüsü

4.2.2. Ortamlar arası değişimlere ilişkin istatistiksel analiz sonuçları

Red Love ve Pink Champion çeşitlerinde birbirinden bağımsız 3 tekrarlı yapılan ölçümler tek yönlü varyans analizleri ve ortalamalar arası farklılıklar karşılaştırıldığında ortamlar arasında kontrole göre $p < 0,001$ düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir. Ortamlar arası kontrole göre yüzdelik artışı ve standart sapmaları Çizelge 4.1. ve 4.2.'de verilmiştir. Anova sonuçları ise Çizelge 4.3. ve 4.4.'de verilmiştir.

Bu ortamda ekimi yapılan eksplantların %83 oranında kallus oluşturduğu belirlenmiştir. Kallus gelişiminin en zayıf olduğu ortamların ise %0 olmak üzere 7.-8. ve 9. ortamlar olduğu belirlenmiştir.

A. andreaenum türünün Pink Champion çeşidinde eksplantlardan kallus gelişimi en fazla %6 oranında uyarıldığından dolayı sürgün oluşturma çalışmalarına Red Love çeşidi ile devam edilmiştir.

Çizelge 4.1. Red Love çeşidindeki standart sapma ve kallus oluşma yüzdesi

Ortamlar	Standart Sapma	Kallus Yüzdesi
1.Ortam	8.30 ± 1.85	%83
2.Ortam	6.38 ± 2.05	%63
3.Ortam	5.20 ± 1.80	%52
4.Ortam	3.78 ± 1.69	%37
5.Ortam	3.21 ± 1.47	%21
6.Ortam	1.48 ± 1.12	%14
7.Ortam	0.06 ± 0.25	%0
8.Ortam	0.35 ± 0.60	%0
9.Ortam	0.48 ± 0.59	%0

Çizelge 4.2. Pink Champion çeşidindeki standart sapma ve kallus oluşma yüzdesi

Ortamlar	Standart Sapma	Kallus Yüzdesi
1.Ortam	0.60 ± 0.58	%6
2.Ortam	0.38 ± 0.64	%3
3.Ortam	0.28 ± 0.55	%2
4.Ortam	0.23 ± 0.49	%2
5.Ortam	0.21 ± 0.45	%2
6.Ortam	0.13 ± 0.34	%1
7.Ortam	0.03 ± 0.18	%0
8.Ortam	0.06 ± 0.25	%0
9.Ortam	0.05 ± 0.21	%0

Çizelge 4.3. Red Love çeşidinde gruplar arası tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları (***)
p<0,001)

	Ortalama Kareler	F Değeri	Anlamlılık Düzeyi
Gruplar Arası	4123.648148	257.2193834	,000***

Çizelge 4.4. Pink Champion çeşidinde gruplar arası tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları
(***) p<0,001)

	Ortalama Kareler	F Değeri	Anlamlılık Düzeyi
Gruplar Arası	16.2	10.2277267	,000***

4.2.3. Sürgün teşvik ortamlarına ilişkin bulgular

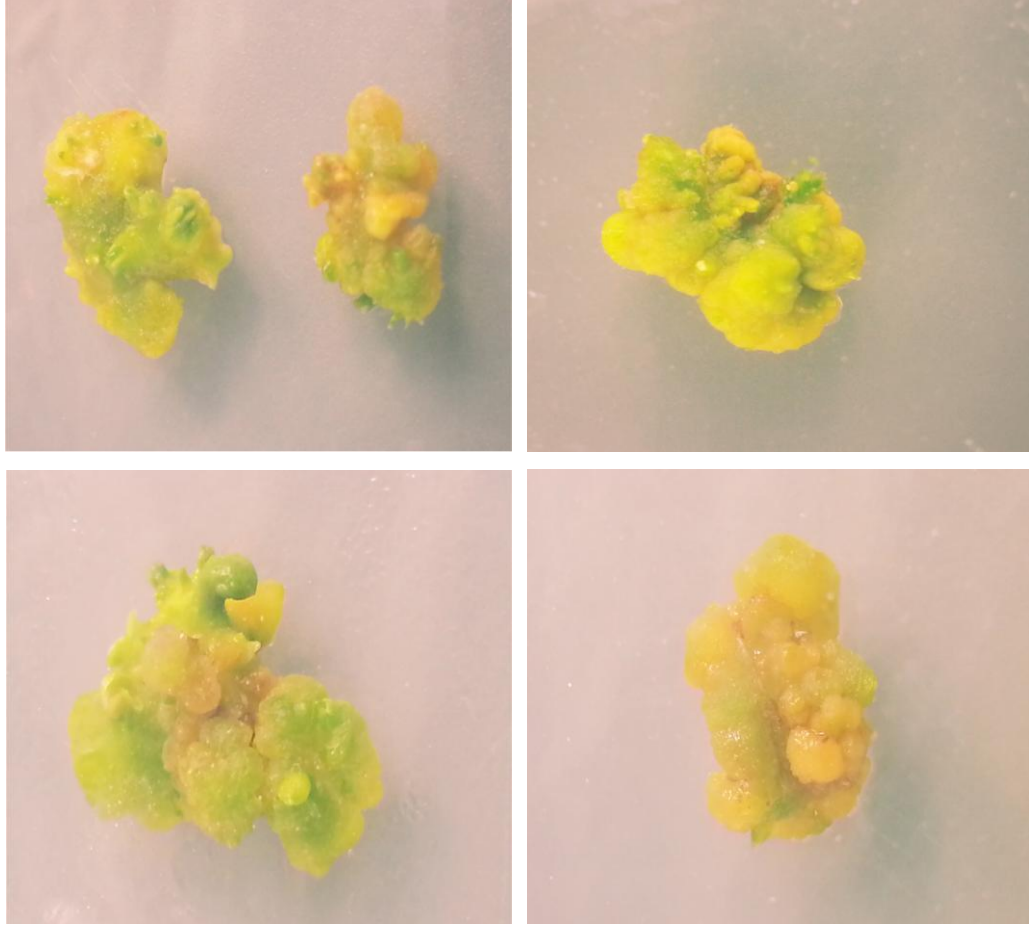
Tez kapsamında, eksplantlardan geliştirilen onüç haftalık kalluslar sürgün gelişimi için yeni ortamlarına aktarılmışlardır. Sürgün teşvik ortamlarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinden 0.5 mg/L BAP içeren ½ MS besi ortamına aktarımı yapılmıştır. Kalluslar önce sarı sonraki haftalarda ise yeşil renk almışlardır. Bu ortama aktarımı yapılan kalluslarda %86 oranında sürgün oluşumu saptanmıştır.

0.5 mg/L BAP ½ içeren MS besi ortamında onüç haftalık kallus aktarımı yapıldıktan bir hafta sonra kallusların gelişimi Şekil 4.6.'da verilmiştir. Kalluslardaki küçük sürgün başlangıçları görülmeye başlanmıştır.



Şekil 4.6. Bir hafta sonra oluşan sürgün primordiumları

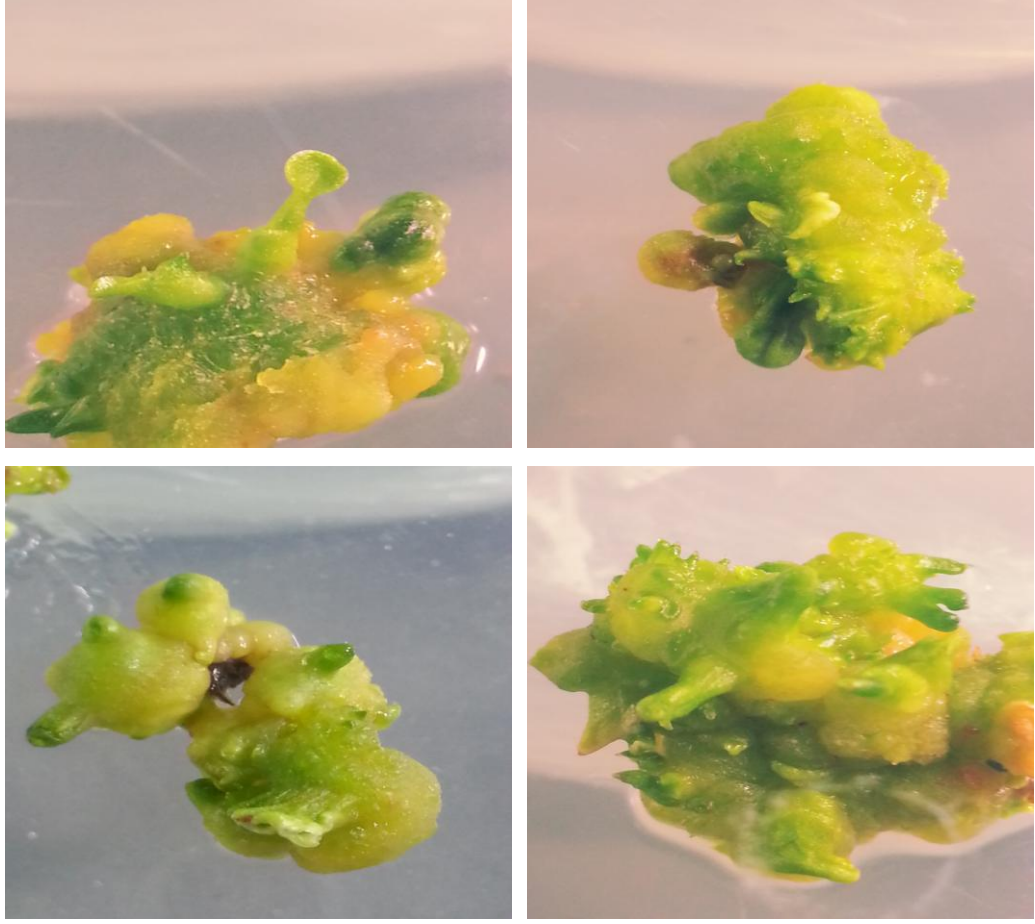
Sürgün ortamına alındıktan altı hafta sonraki görüntüleri Şekil 4.7.'de verilmiştir. Kalluslar sarıdan yeşile geçişi iyice belli olmaktadır. Bu aşamada ana organ belli olmayıp sadece kallus ve gelişen sürgünler gözlemlenmektedir.



Şekil 4.7. Altı hafta sonraki sürgün primordiumları

Doku kültürü çalışmaları esnasında her bir eksplanttan geliştirilen kalluslar sürgün oluşturma potansiyelleri açısından karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma esnasında çalışma deseninde kullanılan, her bir tekrarda 20'şer petri ve her bir petride 5'er eksplant olacak şekilde eksplant başına oluşan sürgün hesabı yapılmıştır. Hesaplama için 0.5 mg/L BAP ½ MS içeren sürgün gelişim ortamındaki on haftalık *A. andreanum* Red Love çeşidine ait olan sürgün primordiumları tek tek sayılmıştır. On haftalık olan ve çok fazla gelişim gösteren sürgünler her bir petriye bir adet gelecek şekilde ayrılmıştır. Yapılan hesaplamalar neticesinde sürgün yüzdesinin kallus başına %86 olduğu bulunmuştur. Tüm sayımlar üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Onuncu haftada sürgün primordiumlarından gelişmekte olan *A. andreanum* Red Love çeşidine ait bitkicikler Şekil 4.8.'de verilmiştir. Yaprak yapısı bazı örneklerde bariz şekilde belirginleşmiştir. Köklenme bulunmamaktadır.



Şekil 4.8. On hafta sonraki sürgün primordiumlarından gelişen bitkicikler

On üç hafta sonunda *A. andreanum* Red Love çeşidine ait bitkiciklerin gelişimi Şekil 4.9'da görünmektedir. Oluşan bitkiciklerdeki yaprak ve petiyol gelişimleri net olarak görünmektedir.



Şekil 4.9. Onüç hafta sonraki sürgün primordiumlarından gelişen bitkicikler

Sürgün primordiumlarından gelişen *A. andreanum* Red Love çeşidinde onsekizinci haftada yaprak ve petiol gelişimlerinin yanı sıra kök gelişimlerinin de olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.10. Onsekiz hafta sonraki sürgün primordiumlarından gelişen bitkicikler

4.2.4. *In vitro* bitkilerin aklimatizasyonu

Sağlıklı olarak geliştirilen *in vitro* bitkiciklerden 2 tanesi deneme amaçlı olarak steril edilmiş torf içeren macenta kaplarına aktarılmıştır. Toprak koşullarına sağlıklı olarak uyum gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Bitkiciklerin steril edilmiş :perlit içeren macenta kaplarına aktarımı

4.3. Tartışma

Tamamlanan araştırmada, ülkemizde yetiştiriciliği yaygın olmayan, üretim istekleri net olarak bilinmeyen, ticari anlamda süs bitkisi olarak çok fazla tercih edilen, pahalı tropikal ve popüler bir tür olan *Anthurium andreanum* bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyon ve konsantrasyonlarında kültüre alınan Red Love çeşidinin mikroçoğaltımı başarı ile tamamlanmıştır. Diğer çeşit olan Pink Champion da ise farklı bitki büyüme düzenleyicileri denenmesine rağmen kallus uyartımı çok zayıf olarak saptanmıştır ve sürgün ve mikroçoğaltım aşamasına geçilememiştir. Bu çeşidin, *in vitro* koşullarda optimizasyonunun güç olmasının genetik kökenli olma olasılığı yüksektir. Çeşitler elde edilirken; gelişim yollarında farklılaşma ve epigenetik düzenlenme mekanizmaları neticesinde bazı biyokimyasal yolların engellenmesi mümkündür. Bu çeşitlerin *in vitro* ortama uyumlarının sağlanmasında farklı bitki büyüme düzenleyicileri kullanılabilir. Bu çalışmada kullanılan dokuz farklı kallus geliştirme ortamında da cevap alınamamıştır. Bu nedenle de Red Love çeşidi ile araştırmaya devam edilmiştir.

A.andreanum türü ile ilgili olarak daha önce yapılan araştırmalarda, bu türe ait olan farklı çeşitlerin *in vitro* potansiyellerinde farklılık olduğu belirlenmiştir. Bu yönü ile araştırma diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmada *A. andreanum* türünün iki çeşidine ait eksplant olarak kullanılacak yaprakların ve petiollerin sterilizasyonu yapılırken bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS0 besi ortamında seride yer alan 10'ar petride denemeler yapılmıştır. Eksplantlar 1 dk % 70'lik etanolde bekletilip, 7 dk'da % 20'lik NaClO'da beklediğinde en iyi sonuç alındığı görülmüştür. Uzun süre beklemelerde eksplantlarda kararırma, kısa süre beklediğinde ise kontaminasyon oranının fazla olduğu saptanmıştır. Konu ile ilgili ve yakın olan diğer araştırma sonuçlarına bakıldığında;

Atak ve Çelik (2009) yaprak eksplantlarını 1 dk %70'lik etanolde bekletip gentamisin solüsyonunda 30 dk beklettikten sonra 12 dk %20'lik NaClO'da bekletmişlerdir. Mahanta ve Paswan (2001) ise; araştırmalarında eksplantları 1 dk %70'lik etanolde ve 2 dk %0.1'lik HgCl₂'de bekletmişlerdir. Martin ve ark. (2003), Duong ve ark., (2007), Bejoy ve ark., (2008) sadece %0.1'lik HgCl₂'de 7-12 dk bekletip steril sudan geçirmişlerdir. Teng ve ark. (1997), Vargas ve ark. (2004) %1-3'lük NaClO'da 15-20 dk bekletmişlerdir. Başka bir çalışmada Gantait ve ark., (2008) eksplantları 5 dk NaClO ve %0.1'lik HgCl₂'de bekleterek sterilizasyonu gerçekleştirmiştir. Jahan ve ark., (2009) ise bizim çalışmamızla en yüksek benzerlik oranı ile 1 dk %70lik etanolde bekledikten sonra %0.01 tween ekli olan % 1.5 lik NaClO'da 8 dk bekletmiştir.

Doku kültürünün başarısı eksplantların doğru şekilde seçilmesi ile yakından ilişkilidir. Te-chato ve ark. (2006) yaptıkları bir araştırmada *A. andreanum* türünün nod-internod ve yaprak eksplantlarını kullanmışlardır.

Tamamlanan yüksek lisans araştırmasında yaprak ve petiol eksplantlarının her ikisi de kullanılmıştır.

A. andreanum bitkisinin yaprak ve petiolleri kallus teşviki için dokuz farklı konsantrasyonlarda BAP-2,4-D ve BAP-NAA içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır. Bu ortamlarda kallus oluşumu, en iyi 0.1 mg 2,4-D 1.5 mg/L BAP içeren MS ortamında olmuştur. Sürgün gelişimi için ise 1.5 mg/L BAP içeren ½ MS ortamı denenmiş ve başarılı olunmuştur. Buna benzer çalışmalara bakıldığında;

A. andreanum bitkisinin Mauritius Orange çeşidinin petiol eksplantlarından kallus ve sürgün teşviki için sadece 0.5 mg/L 2,4-D içeren MS ortamı kullanılmış, başarılı olunmuştur (Prakash ve ark., 2001).

A. andreaenum bitkisinin yaprak eksplantlarından 0.1 mg/L BA içeren MS ortamında kallus oluşumunun sağlandığı bir diğer araştırmada, sürgün oluşumu için ise 0.05 mg/L NAA ve 0.8 mg/L BA içeren MS ortamı kullanılmıştır. 0.1 mg/L NAA veya IBA içeren MS ortamlarında ise köklendirmede başarı sağlanmıştır (Zhang ve ark., 2001).

On farklı *Anthurium* çeşidinde gerçekleştirilen bir diğer araştırmada ise 1 mg/L BA, 0.08 mg/L 2,4-D, büyüme düzenleyicisi bulunan tam MS ortamında çalışma yapılmıştır. Uygulamadan yüz gün sonra en yüksek kallus gelişimi sadece bir çeşitte gözlenmiş, bazı çeşitlerde ise hiç gelişme olmamıştır. Bütün sürgünlere ¼ MS ortamına kömür ilave edilerek ekim yapılmıştır. Otuz gün sonra bitkiler saksılara aktarıldığında iyice gelişmişlerdir (Nhut ve ark., 2006).

Sağlıklı olarak geliştirilen *in vitro* bitkicikler steril edilmiş, torf içeren macenta kaplarına aktarılmıştır. Toprak koşullarına sağlıklı olarak uyum gösterdikleri belirlenmiştir.

A. andreaenum bitkisinin yaprak eksplantlarından kallus uyartımı için 1 mg/L BAP ve 0.08 mg/L 2,4-D ile ½ MS'in kullanıldığı bir araştırmada, sürgün teşvik ortamının 0.5 mg/L BAP ile tam MS olduğu saptanmıştır (Viégas ve ark., 2007).

A. andreaenum bitkisinin Agnihotri çeşidinin yaprak eksplantlarından kallus gelişimi için en iyi sonuç 1 mg/L BAP ve 0.5 mg/L 2,4-D bitki büyüme düzenleyicilerinin ilave edildiği MS ortamında alınmıştır. En iyi sürgün teşvik ortamı ise 0.3 mg/L BAP içeren MS ortamı olmuştur (Bejoy ve ark., 2008).

Kallustan sürgün gelişimi için uygun ortam olarak 0.5 mg/L BAP ile ½ MS kullanılarak başarılı sürgün eldesi sağlanmıştır. Bu sonuçlar Viégas ve ark., (2007) ve Bejoy ve ark. (2008)'un yapmış oldukları araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

A. andraeanum türünün Arizona ve Sumi çeşitlerinin yaprak eksplantından kallus ve buradan da sürgün oluşumu gerçekleştirilmiştir. Kallus uyartım ortamı 0.6 mg/L 2,4-D, 1 mg/L BA ile ½ MS bazal tuz oluşturmuştur. Köklenme ortamı 1 mg/L IBA ve %0.04 aktif karbon ile takviye edilmiştir. Arizona çeşidinde elde edilen sürgün sayısı Sumi çeşidine göre daha fazla bulunmuştur. Kök yüzdeleri %98 ve % 95 olarak bulunmuştur (Atak ve Çelik, 2009).

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda süs bitkilerinin, doku kültürü yöntemleri ile mikroçoğaltımı yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Dünyada ve ülkemizde yaygın bir şekilde ticareti yapılan diğer süs bitkileri ile ilgili olarak da doku kültürü çalışmaları yapılması ülke ekonomisi açısından anlamlı olacaktır.

Bu araştırmada, ülkemiz açısından yüksek ekonomik değere sahip olan ve süs bitkisi olarak da çok fazla tercih edilen *Anthurium andreanum* türünün iki çeşidi üzerinde doku kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. *Anthurium andreanum* türünün çok fazla çeşidi bulunmaktadır. Bu çeşitler üzerinde klasik ıslah ve çaprazlama çalışmaları günümüzde yaygın bir şekilde devam etmektedir. Doku kültürünün avantajı ise bu çalışmaların hem steril şartlarda hem de daha kısa sürede ve her aşamasının gözlemlenerek gerçekleştirilebilmesidir.

Bitki türlerine ait çeşitler elde edilirken, gelişim yollarında, farklılaşma ve epigenetik düzenlenme mekanizmalarının devreye girmesi bu çeşitlerin üretimini dahi engelleyebilecek sonuçlara yol açmaktadır. Günümüzde bu tür problemlerin aşılması açısından daha çok genetik mühendisliği, gen aktarımı teknikleri tercih edilmektedir. Ancak bu yöntemlerin tüketicilerin bir bölümü tarafından kabul edilememesi neticesinde ekonomik kayıplar meydana gelebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı süs bitkilerinin ya da gıda ve tıbbi amaçlı kullanılacak bitki türlerinin eldesinde doku kültürü teknikleri daha güvenilir görülmektedir.

Yüksek lisans araştırmasında ileride bu tür değerli bitkilerin doku kültürü, kallus eldesi, mikroçoğaltım ile çoğaltılması konularında gerçekleştirilecek olan araştırmalara kaynaklık edebilecek nitelikte hazırlanmıştır. Özellikle mikroçoğaltım üzerine yoğunlaşılması ve aklimatizasyon yöntemlerinin daha fazla geliştirilerek ticari anlamda önemli nitelikte olabilecek süs bitkilerinden fide yetiştirilmesi önem arz etmektedir. Araştırmamızda kullandığımız *in vitro* yöntem ile süs bitkisi fidelerinin steril, hızlı ve güvenilir bir şekilde elde edilebileceği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akı C., 1997. *Capsicum annuum* L.'un Bazı Varyeteleri Üzerinde Doku Kültürü Çalışmaları. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- Arıcı E.Ş., 2011. *In vitro* Microporopagation of *Spathiphyllum* Sweet Chico: Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye.
- Atak Ç., Çelik Ö., 2009. Micropropagation of *Anthurium andreanum* from Leaf Explants. *Pak. J. Bot.*, 41: 1155-1161.
- Baboğlu M., Gürel E., Özcan S., 2002. *Bitki Biyoteknolojisi Doku kültürü ve Uygulamaları* (2.baskı) Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya. 374 s.
- Barabé D., Lacroix C., 2002. Aspects of Floral Development in *Caladium* Bicolor (Araceae). *Can. J. Bot.* 80: 899-905.
- Başer K.H.C., 2003. Dietary Supplements of Plant Origin. In: Maffei, M., Ed. *Industrial Plants as Sources of Dietary Supplements*. Taylor and Francis, London. 31-42.
- Bejoy M., Sumitha V.R., Anish N.P., 2008. Foliar Regeneration in *Anthurium andraeanum* *Hort. cv. Agnihotthri. Biotech.*, 7 (1): 134-138.
- Bown D., 2000. *Aroids: Plants of the Arum Family*, (2nd ed.). Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Cabrera L.I., Salazar G.A., Chase M.W., Mayo S.J., Bogner J., Davila P., 2008. Phylogenetic Relationships of Aroids and Duckweeds (Araceae) Inferred From Coding and Noncoding Plastid DNA. *Am J. of Bot.*, 95 : 1153 – 1165.
- Castro A.C., Resende L.V., Guimarães W.N.R., Loges V., 2004. Uso De Técnicas Moleculares Em Estudo De Diversidade Genética Em Antúrio. *Rev Bras Hortic Ornam.*, 10:6–9.
- Chen F.C., Kuehnle A.R., Sugii N., 1997. *Anthurium* Roots for Micropropagation and Agrobacterium Tumefaciens-Mediated Transfer. *Plant Cell Tissue Org. Cult.*, 49: 71-74.
- Chen J., McConnell D.B., Henny R.J., Everitt K.C., 2003. Cultural Guidelines for Commercial Production of Interiospace *Anthurium*. University of Florida, IFAS Publisher, Florida. IFAS extension, EHN956.
- Christianson M.L., Warnick D.A., 1985. Temporal Requirement for Phytohormone Balance in The Control of Organogenesis. *In vitro. Dev. Biol.*, 112 (2): 494-497.
- Croat T., 1994. The Use of New World Araceae as Drug Plants. *Jpn J of Bot.*, 69: 185-203.

- Cusimano N., Barrett M., Hettterscheid W.L.A., Renner S.S., 2010. A Phylogeny of The Areae (Araceae) Implies That *Typhonium*, *Sauromatum* and The Australian Species of *Typhonium* Are Distinct Clades. *Taxon*, 59 (2) : 439 – 447.
- Çördük N., 2007. *Nicotiana tabacum* L. Samsun (tütün)'da *In vitro* Rejenerasyon Sistemlerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Dalar A., 2008. Biber (*Capsicum annum* L.) Bitkisi Çeşitlerinin Farklı Doku Kültürü Yöntemleri ile Mikroüretimi. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, Türkiye.
- Duong T.N., Nguyen D., Nguyen N.H.V., Chau D.K., Dinh V.K., Do N.V., 2007. Impact of *Anthurium sp.* Genotype on Callus Induction Derived from Leaf Explants, and Shoot and Root Regeneration Capacity from Callus. *J. Applied Hort. Lucknow*, 9: 135-137.
- Duquenne B., Eeckhaut T., Werbrouck S., Huylenbroeck J., 2007. Effect of Enzyme Concentrations on Protoplast Isolation and Protoplast Culture of *Spathiphyllum* and *Anthurium*. *Plant Cell Tissue Org Cult.*, 91:165-173.
- Dufour L., Guérin V., 2003. Growth, Developmental Features and Flower Production of *Anthurium anthurium* L. In Tropical Condition. *Sci Horticulturae*, 98: 25-35.
- Erden D., 2011. *Catharanthus roseus* L. (G) Don. Türünün *In vitro* Biyokütle Gelişimi Üzerinde Farklı Stres Faktörlerinin Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Farsi M., Taghavizadeh Y.M., Qasemiomran V., 2012. Micropropagation of *Anthurium andreanum* cv. Terra. *Afr J of Biotech.*, 11 (68): 13162-13166.
- French J.C., Chung M.G., Hur Y.K., 1995. Chloroplast DNA Phylogeny of the Ariflorae P.J.Rudall, P.J. Cribb, D.F. Cutler, C.J. Humphries (Eds.), *Monocotyledons: Systematics and Evolution*, *Royal Botanic Gardens, Kew*, 255–275 p.
- Gantait S., Mandal N., Bhattacharyya S., Das P.K., 2008. *In vitro* Mass Multiplication with Pure Genetic Identity in *Anthurium andreanum* L. *Plant Tissue Cult Biotech.*, 18: 113-122.
- Gantait S., Mandal N., 2010. Tissue Culture of *Anthurium andreanum*: A Significant Review and Future Prospective. *Int J of Bot.*, 6: 207-219.
- Geneyikli E., 2009. Barış Zambağı'nın (*Spathiphyllum*) Bazı Çeşitlerinde Mikroçoğaltım Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.

- Grayum M.H., 1990. Evolution and Phylogeny of the Araceae. *Ann Mo Bot Gard.*, 77: 628.
- Govaerts R., Frodin D., 2002. World Checklist and Bibliography of Araceae (and Acoraceae). *Royal Botanic Gardens, Kew*, 560 p.
- Hamidah M., Karim A.G.A., Debergh P., 1997. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Anthurium scherzerianum*. *Plant Cell Tissue Org Cult.*, 48: 189-193.
- Harb E. M., Talaat N. B., Weheeda B.M., El-Shamy M.A., Omira G.A., 2010. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* from Shoot Tip Explants. *J of Appl Sci Res.*, 6(8): 927-931.
- Hasançebi S., Kara T., Çakır Ö., Arı Ş., 2010. Micropropagation and Root Culture of Turkish Endemic *Astragalus chrysochlorus* (*Leguminosae*). *TÜBİTAK* 35: 203-210.
- Hatipoğlu R., 1999. İki Adi Fiğ (*Vicia sativa* L.) Çeşidinde Farklı Dozlarda Gama Işını Uygulamasıyla Elde Edilen M1 Bitkilerinin Bazı Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. *Ç. Ü. Zir. Fak. Derg.*, 14 (1) : 61-70.
- Herk M., Van Koppen M., Smeding S., Van Der Elzen C.J., Van Rosmalen N., Van Dijk J., Lont A., Van Spingelen J., 1998. In: Anthura, B.V. Ed., *Cultivation Guide Anthurium*. *Bleiswijk, Holland*, 140 p.
- Hu C.Y., Wang P., 1983. Meristem, Shoot Tip and Bud Cultures. In: *Handbook of Plant Celi Culture I. Technioues for Propagation and Breeding* Eds. Evans, D.H., Sharp, V. R., Ammirato, P. V., Yawada, Y. McMillian Pupl. Co., New York and London. 970p.
- İşlek C., Koç E., Üstün A.S., 2010. Biber (*Capsicum annum* L.) Tohumlarında Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin *In vitro* Çimlenme Üzerine Etkisi. *BAÜ Fen Bil. Enst. Derg.*, 12(2): 42-49.
- Jahan M.T., Islam M.R., Khan R., Mamun A.N.K., Ahmed G., Hakim L., 2009. *In vitro* Clonal Propagation of *Anthurium* (*Anthurium andreanum* L.) Using Callus Culture. *Plant Tissue Cult. Biotech.*, 19: 61-69.
- Kara N., 2011. Uçucu Yağ Üretiminde Kullanılan (*Lavandula sp.*) Çeşitlerinin Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım Aşamalarının Araştırılması. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye.
- Liendo M., Mogollón N., 2009. Multiplicacion Conal *in vitro* del Anturio (*Anthurium andraeanum* L. cv. Nicoya). *Bioagro*, 21:179–182.

- Lima F.C., Ulisses C., Camara T.R., Cavalcante U.M., Albuquerque C.C., Lilia W., 2006. *Anthurium andraeanum* L. cv. Eidibel *In vitro* Rooting and Acclimatization with Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Revista Brasil. Ciencia. Agra.*, 1: 13-16.
- Lindsey K., Yeoman M.M., 1985. Dynamics of Plant Cell Cultures. In: *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*. Ed. -in-Chief Vasil I. K., London, New York. 2: 61-101.
- Mahanta, S., Paswan L., 2001. *In vitro* Propagation of *Anthurium* from Auxillary Buds. *J. Ornamental Hort.*, New Seri., 4: 17-21.
- Maitra S., Ghosh P.D., Roychowdhury N., Satya P., 2012. Effect of Culture Media on *In vitro* Regeneration of *Anthurium* (*Anthurium andraeanum* L.) from Axillary Bud Explants. *Int J of Bio Stress Man.*, 3(1):035-039.
- Mariani T.S., Fitriani A., Silva J.A.T., Wicaksono A., Chia T.F., 2011. Micropropagation of *Aglaonema* Using Axillary shoot Explants. *Int J of Bas Appl Sci., IJBAS-IJENS* Vol: 11 No: 01.
- Martin K.P., Joseph D., Madassery J., Philip V.J., 2003. Direct Shoot Regeneration from Lamina Explants of Two Commercial Cut Flower Cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *In vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, 39: 500-504.
- Mayo S.J., Bogner J., Boyce P.C., 1997. The Genera of Araceae *Royal Botanic Garden, Kew*, 370 p.
- Molnár Z., Ördög V., 2005. Microalgal and Cyanobacterial Extracts in The Tissue Cultures of Higher Plants (pea, tobacco, beet). *Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis*, 49 (1-2): 39-40.
- Morsünbül T., Solmaz S., Üstün G., Yonar T., 2010. Bitki Gelişim Düzenleyici (BGD)'lerin Çevresel Etkileri ve Çözüm Önerileri. *U. Ü. Müh.-Mim. Fak. Derg.*, Cilt:15 Sayı:1.
- Murashige T., Skoog F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol Plantarum*, 15: 473-497.
- Nhut D.T., Duy N., Vy N.N.H., Khue C.D., Khiem D.V., Vinh D.N., 2006. Impact of *Anthurium* sp. Genotype on Callus Induction Derived from Leaf Explants, Shot and Root Regeneration Capacity from Callus. *J of Appl Horticulture*, 8(2): 135-137.

- Özçelik A., Özkan C.F., 1998. Farklı Yetiştirme Ortamlarında Resirküle (Kapalı) Sistemde Kesme Çiçek *Anthurium andraeanum* Yetiştiriciliği TÜBİTAK-Proje No : TARP-2303.
- Prakash D., Choudhary M.L., Prasad K.V., Nagesh N., 2001. Regeneration of Plantlets from Petiole Explants of *Anthurium andraeanum* L. cv. Mauritius Orange *Phytomorph*, 51: 83-85.
- Puchooa D., Sookun D., 2003. Induced mutation and *In vitro* Cultured of *Anthurium andraeanum*. *AMAS, Food Agri Res Counc.*, 17-27.
- Raad M.K., Zanjani S.B., Shoor M., Hamidoghli Y., Sayyad A.R., Masouleh A.K., Kaviani B., 2012. Callus Induction and Organogenesis Capacity from Lamina and Petiole Explants of *Anthurium andraeanum* L. (Casino and Antadra). *AJCS* 6(5):928-937.
- Rothwell G.W., Van Atta M.R., Ballard H.W., Jr Stockey R.A., 2004. Molecular Phylogenetic Relationships Among Lemnaceae and Araceae Using the Chloroplast trnL–trnF Spacer. *Mol Phylogenet Evol.*, 30:378–385.
- Rout G.R., Mohapatra A., Mohan J.S., 2006. Tissue Culture of Ornamental Pot Plant: A *Critical Review on Present Scenario and Future Prospects. Biotechnology Advances*, 24, 531-560.
- Royandazagh S.D., Pehlivan C.E., Teykin E.E., Çiftçi H.S., 2014 *Lilium candidum* L' da *In vitro* Mikroçoğaltım ile Kozmetik Sanayisine Ham Madde Temini. *Turk J of Agric Nat Sci.*, 2: 1911-1916.
- Sessiz U., 2015. Sümbül Bitkisinin (*Hyacinthus orientalis* L.) *in vitro* Mikroçoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi. Dicle Üniversitesi, Diyarbakır, Türkiye.
- Silva J.A.T., Nagae S., Tanaka M., 2005. Effect of Physical Factors on Micropropagation of *Anthurium andraeanum*. *Plant Tissue Cult.*, 15(1): 1-6.
- Smith R., 2000 Plant Tissue Culture. *Tex AES.*, Texas A&M University, College Station, U.S.A., 2231.
- Somaya K.U., Narayanaswamy P., Jayaprasad K.V., 1998. Micropropagation Studies in *Anthurium andraeanum* L. *Karnataka J. Agric. Sci.*, 11: 466-470.
- Tam S.M., Boyce P.C., Upson T.M., Barabé D., Bruneau A., Forest F., Parker J.S., 2004. Intergeneric and Intrafamilial Phylogeny of Subfamily Monsteroideae (Araceae) Revealed by Chloroplast trnL–F sequences. *Am J of Bot.*, 91: 490–498.
- Taşcıoğlu Y., Sayın C., 2005. Türkiye’de Kesme Çiçek Üretim ve İhracat Yapısı. *Ak. Ü. Zir. Fak. Derg.*, 18(3), 343-354.

- Te-chato S., Susanon T., Sontikun Y., 2006. Medium Influencing Embryogenesis and Organogenesis in *Anthurium* sp. Cultivar, Explant Type and Culture. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 28(4): 717-722.
- Teng W.L., 1997. Regeneration of *Anthurium* Adventitious Shoots Using Liquid or Raft Culture. *Plant Cell Tissue Org Cult.*, 49: 153-156.
- Titiz S., Çakıroğlu N., Yıldırım T.B., Çakmak S., 2000. Süs Bitkileri Üretim ve Ticaretindeki Gelişmeler. *Türkiye Mühendisler ve Mimarlar Odası Ziraat Mühendisleri Odası, Kongresi, Ankara, Türkiye.*
- Tombolato A.F.C., Quirino E.A., 1996. Multiplicação *in vitro* de Nova Seleções de *Anthurium andraeanum* L. *Rev Bras Horti Orn.*, 2:37-46.
- Vargas T.E., Mejias A., Oropeza M., Garcia E., 2004. Plant Regeneration of *Anthurium andraeanum* cv. Rubrun. *Elect J of Biotechnol.*, 7(3): 282-286.
- Viégas J., Rocha M.T.R., Ferreira-Moura I., Rosa D.L., Souza J.A., Correa M.G.S., Silva J.A.T., 2007. *Anthurium andreanum* (Linden ex Andre) Culture: *In vitro* and *Ex vitro*. *Floricult. Ornamental Biotech.*, 1: 61-65.
- Wang Y., 1999. Greenhouse Performance of Six Potted *Anthurium* Cultivars in a Subtropical Area. *HortTechnology* 9(3):409-412.
- Yamaguchi M., Kato H., Yoshida S., Yamamura S., Uchimiya H., Umeda M., 2003. Control of *In vitro* Organogenesis by Cyclin-Dependent Kinase Activities in Plants. *PNAS*, 100 (13): 8019-8023.
- Yazgan M.E., Korkut A.B., Barış, E., Erkal, S., Yılmaz R., Erken K., Gürsan, K., Özyavuz M., 2005. Süs Bitkileri Üretiminde Gelişmeler. *Ziraat Mühendisleri Odası VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, Ankara.*
- Yılmaz İ., 2009. Avrupa Birliği'ne Uyum Sürecinde Türk Kesme Çiçek Sektörünün Swot (Gtzf) Analizi. *Ak. Ü. Zir. Fak. Derg.*, 22(1):103-112.
- Zhang G.H., Xu B.Y., Peng C.Z., Lu L., 2001. Shoot Cutting Tissue Culture and Propagation *in vitro* of *Anthurium andreanum* L. *Acta Agriculture. Shanghai*, 17: 13-16.
- A'dan Z'ye Bitkiler Dünyası* (bt) <http://azbitki.com/anthurium-andreanum>.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gizem AYGÜN

Doğum Yeri : İzmir

Doğum Tarihi : 01.02.1989

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/Biyoloji

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Katıldığı Projeler : Bilimsel Araştırma Projeleri

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : İzmir Özel Sada Hastanesi 2009

İLETİŞİM

E-posta Adresi : gizzemaygun@hotmail.com