

KİLİS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YEREL SOĞAN (*Allium cepa* L.) GENOTİPLERİNİN HAPLOİDİYE
YATKINLIĞININ BELİRLENMESİ**

Sinan ŞAHİNALP

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI KARAKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2019
KİLİS

KABUL VE ONAY SAYFASI

Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI KARAKAN danışmanlığında, Sinan ŞAHİNALP tarafından hazırlanan ‘**YEREL SOĞAN (*Allium cepa* L.) GENOTİPLERİNİN HAPLOİDİYE YATKINLIĞININ BELİRLENMESİ**’ adlı tez çalışması 14/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı (Kurumu)	İmza
Başkan	Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI KARAKAN (Kilis 7 Aralık Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri ABD)	
Üye	Doç. Dr. Tamer SERMENLİ (Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri ABD)	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI (Kilis 7 Aralık Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri ABD)	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../201... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Tez No:

Bu tez çalışması Kilis 7 Aralık Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklemiştir. Proje No: 10967

Dr. Öğr. Üyesi Hülya DEDE

Enstitü Müdür V.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YEREL SOĞAN (*Allium cepa* L.) GENOTİPLERİNİN HAPLOİDİYE YATKINLIĞININ BELİRLENMESİ

Sinan ŞAHİNALP

Kilis 7 Aralık Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI KARAKAN

Haziran 2019, 38 sayfa

Bu çalışmada, Kilis ili başta olmak üzere Türkiye' nin farklı illerinde yerel olarak yetiştirilen bazı soğan (*Allium cepa* L.) genotiplerinin haploidiye yatkınlıklarının çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, 13 farklı genotipten alınan toplam 2925 adet çiçek tomurcuğu kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, eksplantlarda kallus oluşumu, kallusların bitkiye dönüşümü ve tomurcuklardan doğrudan bitki gelişimi üzerine genotipin etkisi önemli bulunmuştur. Denemede kalluslardan ve tomurcuklardan doğrudan bitki gelişimi yoluyla 39 adet bitki elde edilmiş ve yapılan ploidi analizleri sonucu bu bitkilerden birinin haploid olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Soğan, haploidi, gynogenezis, tomurcuk kültürü

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF HAPLOIDY FREQUENCIES OF THE LOCALLY GROWN ONION (*Allium cepa* L.) GENOTYPES

Sinan ŞAHİNALP

Kilis 7 Aralık University

Graduate School of Naturel and Applied Sciences

Department of Horticulture

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Faika YARALI KARAKAN

June 2019, 38 pages.

In this study, it was aimed to determine the haploidy frequencies of the locally grown onion (*Allium cepa* L.) genotypes in different regions of Turkey, especially Kilis, by flower bud culture. A total of 2925 flower buds from 13 different genotypes were used in the study. As a result of the research, the effect of genotype on callus formation, callus transformation of plants and direct plant formation was found to be statistically significant. In the experiment, 39 plants were obtained from calluses and direct plant growth of flowerbuds and ploidy analysis revealed that one of these plants was haploid.

Keywords: Onion, haploidy, gynogenesis, flower bud culture

TEŐEKKÖR

Tez çalıőmamın her safhasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren danışman hocam, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI KARAKAN'na, çalıőmam süresince yardım ve desteklerini esirgemeyen aileme teőekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans tez jürisinde yer alan hocalarıma tezimin biçimlenmesinde ve değerlendirilmesinde verdikleri olumlu katkılardan dolayı teőekkür ederim.

Bu tez alıőması Kilis 7 Aralık Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklemiştir. Proje No: 10967

Sinan ŞAHİNALP

Kilis, Haziran 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	10
3.1 Materyal	10
3.2 Yöntem.....	11
3.2.1 Soğan başlarının dikimi.....	11
3.2.2 Ön kültür ortamı.....	11
3.2.3 Çiçek tomurcuklarının ana bitkilerden alınması ve sterilizasyonu .	12
3.2.4 Tomurcuk kültürü yöntemi.....	13
3.2.5 Gelişen eksplantların büyüme ortamına (EM) transfer edilmesi	16
3.3 Yapılan Ölçüm ve Değerlendirmeler:.....	18
3.3.1 Eksplant gelişim aşamalarının belirlenmesi	18
3.3.2 Camsılaştan ve gelişmeyen eksplant sayısının belirlenmesi	20
3.3.3 Ploidi seviyesinin belirlenmesi	20
3.3.4 Bitkilerin dış koşullara alıştıırılması	21
3.3.5 İstatistiki değerlendirme	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	23
4.1 Eksplant Gelişimi Üzerine Genotipin Etkisi	23
4.1.1 Eksplantlarda kallus oluşumu üzerine genotipin etkisi	23
4.1.2 Kallusların bitkiye dönüşümü üzerine genotipin etkisi.....	24
4.1.3 Eksplantlardan doğrudan bitki gelişimi üzerine genotipin etkisi....	25
4.1.4 Eksplantlarda camsılaşma üzerine genotipin etkisi.....	27
4.1.5 Gelişmeyen eksplantların genotiplere göre dağılımı.....	28
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	30

6. KAYNAKLAR.....	34
7. ÖZGEÇMİŞ	38



SİMGELER DİZİNİ

BA	Benziladenin
B5	Gamborg besin ortamı
BDS	Dunstan ve Short besin ortamı
cm	Santimetre
°C	Santigrat derece
CaCl ₂ .2H ₂ O	Kalsiyum klorür dihidrat
CoCl ₂ .6H ₂ O	Kobalt klorür heptahidrat
CuSO ₄ .5H ₂ O	Bakır sülfat pentahidrat
EM	Büyüme ortamı
FeSO ₄ .7H ₂ O	Demir sülfat heptahidrat
g	Gram
g/da	Gram/dekar
g/l	Gram/litre
KI	Potasyum iyodür
KCl	Potasyum klorür
KNO ₃	Potasyum nitrat
l	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mg/l	Miligram/litre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MS	Murashige ve Skoog besin ortamı
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum sülfat heksahidrat
MnSO ₄ .5H ₂ O	Mangan sülfat pentahidrat
NaCl	Sodyum klorür
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	Disodyum EDTA dihidrat
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	Sodyum dihidrojen fosfat
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Sodyum molibdat dihidrat
NH ₄ H ₂ PO ₄	Amonyum dihidrojen fosfat
(NH ₄) ₂ SO ₄	Amonyum sülfat
NH ₄ NO ₃	Amonyum nitrat
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Çinko sülfat heksahidrat
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
2,4- D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
%	Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Soğan bitkilerinin gelişme dönemindeki görünümleri.....	11
Şekil 3.2. Çiçeklenme dönemindeki soğan bitkileri.....	13
Şekil 3.3. Çiçek tomurcuklarının sterilizasyon aşamaları; a. Çiçeklenme aşamasındaki tomurcuklar, b. Çiçek tomurcuklarının %70'lik etanol içerisinde 3 dakika tutulması, çiçek tomurcuklarının %15'lik clorox çözeltisinde 30 dakika tutulması, c. Çiçek tomurcuklarının çift distile su ile yıkanması, çalkalanması ve süzülmesi	13
Şekil 3.4. Çiçek tomurcuklarının ön kültür ortamına dikilmesi; a. Çiçek tomurcuklarının saplarının kesilmesi, b. Çiçek tomurcuklarının besin ortamına dikilmesi.....	14
Şekil 3.5. Bitki büyütme kabinine yerleştirilen petripler.....	15
Şekil 3.6. Büyüme ortamına aktarılan <i>in vitro</i> bitkicikler	16
Şekil 3.7. Büyüme ortamında (EM) gelişmesini sürdüren bitkiler.....	17
Şekil 3.8. Kültür ortamındaki farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar: a. Kültür ortamına yeni alınmış tomurcuklar, b. Kültür ortamında tomurcukların açılması, c. Kültür ortamında tomurcukların şişmesi ve kallus oluşumu, d. Doğrudan sürgün gelişimi, e. Kök ve sürgün gelişimi	19
Şekil 3.9. Tomurcuklarda yumurtalığın içinden doğrudan sürgün gelişimi	19
Şekil 3.10. Kültürde gelişmeyen (a) ve camsılaştıran (b) soğan tomurcukları.....	20
Şekil 3.11. <i>In vitro</i> bitkilerin dış ortam koşullarına alıştırılması; a. Steril koşullarda kavanozlara dikilen <i>in vitro</i> soğan bitkileri, b. Dış ortam koşullarına aktarılmış <i>in vitro</i> soğan bitkisi	22
Şekil 4.1. Farklı soğan genotiplerinde kallus oluşturan eksplant sayısı ve kallustan meydana gelen bitki sayısı	25
Şekil 4.2. Farklı soğan genotiplerinden alınan tomurculardan doğrudan gelişen bitki sayısı	26
Şekil 4.3. Farklı soğan genotiplerinde camsılaştıran eksplant sayısı.....	28
Şekil 4.4. Gelişmeyen eksplantların genotiplere göre dağılımı	29

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan soğan genotipleri ve temin edildikleri yerler	10
Çizelge 3.2. Tomurcuk kültüründe kullanılan BDS ortamının bileşimi	12
Çizelge 3.3. Büyüme ortamının (EM) bileşimi	17
Çizelge 3.4. Çekirdek izolasyon tamponu (NIB) *	21
Çizelge 4.1. Farklı soğan genotiplerinin ön kültür ortamındaki eksplantlarda kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri)	24
Çizelge 4.2. Ön kültür ortamında oluşan kallusların bitkiye dönüşümü üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi (adet/petri)	25
Çizelge 4.3. Eksplantlardan doğrudan gelişen bitki sayısı üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi (adet/petri)	26
Çizelge 4.4. <i>In vitro</i> 'da elde edilen bitkilerde yapılan ploidi analizi sonuçları	27
Çizelge 4.5. Ön kültür ortamındaki eksplantlarda camsılaşma üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi (adet/petri)	28

1. GİRİŞ

Amaryllidaceae familyasına mensup olan soğan (*Allium cepa* L.) Türkiye’de olduğu gibi Dünya’da da yaygın olarak yetiştirilen bir sebze türüdür. Toplam 1.094.343.707 ton olan dünya sebze üretiminin 102.997.290 ton ile %9’unu soğan oluşturmaktadır (Anonymous, 2018). Türkiye’nin toplam sebze üretimi 30.825.569 ton olup; taze soğan üretimi 138.993 ton, kuru soğan üretimi ise 2.131.513 ton’dur. Türkiye’de soğan üretiminin toplam sebze üretimi içindeki payı ise %6.91’dir (Anonim, 2018).

Soğanda tohumdan tohum üretimi 2-3 yıl sürmektedir. Bu nedenle soğanda 2-3 yılda bir generasyon ilerlenebilmekte, kendileme depresyonundan dolayı ise kendileme işlemine ancak 2 veya 3 generasyon devam edilebilmektedir. Bu durum hibrit çeşit ıslahında ihtiyaç duyulan genotipik ve fenotipik homojenite gösteren ebeveyn saf hatların elde edilmesini güçleştirmektedir. Bu nedenle, ıslah çalışmalarında ıslah süresini kısaltmak, çeşit adaylarını ve özellikle hibrit çeşit ıslahında ebeveyn olarak kullanılan saf hatları kısa sürede geliştirmek önem kazanmaktadır. Biyoteknolojik yöntemler, ıslah çalışmalarının süresinin kısaltılmasında ve ebeveyn saf hatlarının kısa sürede elde edilmesinde alternatif bir yöntem olarak büyük yarar sağlamaktadır (Bohanec, 2002; Alan ve ark., 2014; Dhatt ve Thakur, 2014; Yaralı, 2014; Singh ve ark., 2018; Khar ve ark., 2018).

Somatik hücrelerindeki kromozom sayısı, gamet hücrelerinde bulunan kromozom sayısı kadar olan bitkilere haploid bitki adı verilmektedir. Haploid bitkiler, her bir lokustaki allelerden sadece bir seriyi içermekte ve bu özellikleri ile ıslah çalışmalarında önemli kullanım alanı bulmaktadır. Haploid bitkilerin kromozom sayılarının katlanması ile tüm genomu homozigot saf hatlar elde edilebilmektedir. Böylece uzun yıllara gereksinim duyan saflaştırma işlemi, kısa sürede yapılabilmekte; kombinasyon ıslahı ve hibrit çeşit ıslahı programlarında zaman kazanılmaktadır (Chen ve ark., 2011; Dhatt ve Thakur, 2014; Yaralı, 2014; Khar ve ark., 2018).

Haploid bitkiler, normal bitkilerde bulunan tüm organlara sahiptir ancak, diploidleri ile kıyaslandığında hücre, yaprak ve çiçekleri daha küçüktür ve bitki daha kısadır (Keller, 1990a; Sulistyaningsih ve ark., 1997). Haploid bitkilerin bitki ıslah programlarında

kullanılabilmeleri için yeniden verimli diploid bitkilere dönüştürülmesi gerekmektedir. Haploid bir bitkinin kromozomlarının bazı kimyasal maddeler yardımıyla veya spontan olarak katlanması sonucunda kromozom sayısı diploid hale getirilebilir. Bu işleme dihaploidleştirme (dihaploidizasyon), elde edilen bitkilere ise “katlanmış haploid” adı verilmektedir.

Dihaploidizasyon tekniği kullanılarak hıyar, kabak, ayçiçeği, arpa, buğday, soğan, pırasa ve şekerpancarında katlanmış haploidler elde edilebilmiştir (Palmer ve Keller, 2005; Reed, 2005; Forster ve ark., 2007; Murovec ve Bohanec, 2012; Dhatt ve Thakur, 2014).

In vitro haploid embriyo ve bitki elde etmede kullanılan yöntemleri temel olarak androgenik ve gynogenik yöntemler olmak üzere iki grup altında toplamak mümkündür. Bu yöntemlerden ilkinde başlangıç materyali olarak erkek gamet (anter ve mikrospor kültürü), ikinci yöntemde ise dişi gamet (yumurta (ovul), yumurtalık (ovaryum) ve çiçek tomurcuğu) kullanılmaktadır. Ancak, her bitki türünde katlanmış haploidleri elde etmek mümkün olmamaktadır. Ayrıca, her tür farklı bir dihaploidizasyon tekniğine tepki vermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda *Allium* türlerinin androgenezise tepki vermedikleri buna karşın gynogenezis yoluyla haploid bitkiler meydana getirebildikleri belirlenmiştir (Keller ve Korzun, 1996; Forster ve ark., 2007; Yaralı ve Yanmaz, 2013; Dhatt ve Thakur, 2014; Yaralı, 2014).

Gynogenezis çalışmalarında başarıyı etkileyen ana unsur kullanılan genotipin haploidiye yatkınlığıdır. Soğanda yapılan gynogenezis çalışmalarında haploid embriyo oluşumu, embriyo oranı, rejenerasyon oranı, canlılık oranı, embriyo kalitesi ve ploidi seviyesinin kullanılan genotipe bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Keller ve Korzun, 1996; Mukhambetzhonov, 1997; Geoffriaru ve ark., 1997; Bohanec ve Jakse, 1999; Judkevieiene ve ark., 2005; Reed, 2005; Sulistyaningsih ve ark., 2006; Sourı ve ark., 2007; Forodi ve ark., 2009; Chen ve ark., 2011; Yaralı, 2014; Dhatt ve Thakur, 2014; Singh ve ark., 2018).

Soğan ıslah çalışmalarında yurt dışında yaygın olarak kullanılan gynogenezis tekniğine ait uygulamalara ülkemizde de son yıllarda başlanmıştır. Tekniğin kendi laboratuvar

koşullarımıza optimizasyonunun sağlanabilmesi için denemeler yürütülmüş ve ülkemizde soğan ıslahında çalışacaklara yol gösterici olacak adımlar atılmıştır (Yaralı 2014; Alan ve ark., 2014; Alan ve ark., 2017). Ancak, yerel çeşitlerin veya genotiplerin çoğunluğunun haploidiye tepkileri bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmalarda ülkemizin soğan genotiplerinin gynogenezise yatkınlığının belirlenmesi ve gynogenezis meydana getirme kapasitesi yüksek çeşit veya genotiplerin soğan ıslah programlarına dahil edilmesi önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, Kilis ili de dâhil olmak üzere ülkemizin farklı illerinde yerel olarak yetiştirilen soğan genotiplerinin haploidiye yatkınlığının belirlenmesi ve ümitvar görülen genotiplerin soğan ıslah programlarında kullanılma olanağının araştırılması hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Dişi gametten haploid embriyo elde etmeye yönelik çalışmalarda başarıyı etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerin başında genotip gelmektedir. Gynogenezis yoluyla elde edilen gynogenik haploid embriyo oranı, embriyo kalitesi ve embriyodan bitki rejenerasyonu tür ve çeşitlere göre farklılık göstermektedir. Dolayısıyla haploid bitki üretiminde genotip seçimi başarı sınırlarını belirlemektedir (Keller ve Korzun, 1996; Mukhambetzhonov, 1997; Palmer ve Keller, 2005; Reed, 2005; Chen ve ark., 2011, Murovec ve Bohanec, 2012; Yaralı ve Yanmaz, 2013; Dhatt ve Thakur, 2014; Singh ve ark., 2018).

Keller (1990a) tarafından yürütülen ve soğanda ilk haploid bitkinin elde edildiği çalışmada, farklı *Allium* türleri ve farklı soğan çeşitlerinin yumurta, yumurtalık ve çiçek tomurcukları kullanılmıştır. BDS ortamında kültüre alınan yumurta ve çiçek tomurcuklarında tür ve çeşitlere göre değişen oranlarda kallus gelişimi sağlanmıştır. Ancak sadece soğanda yumurtadan bitki rejenerasyonunun meydana geldiği bildirilmiştir. Soğanda kültüre alınan yumurtalıklardan genotiplere göre %0,08- 0,58 arasında değişen oranlarda doğrudan embriyo gelişimi ile bitkicikler elde edilmiştir. Kromozom sayılarıyla bu bitkilerin tamamının haploid olduğu ve morfolojik olarak da diploidlerden daha küçük oldukları tespit edilmiştir.

Keller (1990b), 1984 ve 1987 yılları arasında yaptığı çalışmada altı pırasa çeşidi, frenk soğanı, *Allium fistulosum*, *Allium altaicum* ile soğan ve *Allium fistulosum*'un bazı hibritlerinden oluşan toplam 29 çeşit kullanmıştır. Kullanılan tür ve çeşitlerde kallus oluşum oranları farklılık göstermiş, en yüksek kallus oluşum oranlarının *A. altaicum*, *A. fistulosum* ve *A. porrum*' da meydana geldiğini bildirmiştir.

Bohanec ve ark. (1995), üç hibrit (Daytona F₁, XPH 739 F₁ ve XPH 3371 F₁) ve bir açık tozlanan (Belokranjka) olmak üzere dört farklı soğan çeşidinde gynogenezis meydana gelme frekansını araştırmıştır. Araştırmacılar embriyo meydana gelme frekansının genotip tarafından önemli derecede etkilendiğini bildirmişlerdir.

Geoffriau ve ark. (1997), tarafından yürütülen çalışmada Kuzey Avrupa, Doğu Avrupa, Güney Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri orijinli açık tozlanan, kendilenmiş ve sentetik klonlardan oluşan 22 soğan genotipi kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan 50.380 çiçek tomurcuğundan 1.265 embriyo (%2,5) elde edilmiştir. Araştırmada gynogenik embriyo oluşumu üzerine genotip ve çeşit etkisinin önemli olduğu, kültüre alınan çiçek tomurcuklarında embriyo verimi ve bitki rejenerasyonunun %0-17 ve %0-11 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Martinez ve ark. (1997), Val 14 INTA ve Torrentina soğan çeşitlerinde *in vitro* gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etme olanaklarını araştırmıştır. Araştırma sonucunda, gynogenik embriyo veriminin kullanılan çeşitlere göre farklılık gösterdiği, Val 14 INTA çeşidinin ovaryum gelişiminin Torrentine çeşidinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Bohanec ve Jakse (1999), Avrupa, Kuzey Amerika ve Japonya orijinli uzun gün soğan çeşitlerinin gynogenik embriyo meydana getirme kabiliyetlerini araştırmıştır. Gynogenik embriyo veriminin kullanılan çeşitler arasında farklılık gösterdiği, ortalama embriyo veriminin %18,6- 22,6 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları, Amerika orijinli ıslah materyalinin, Avrupa ve Japonya orijinli olanlara göre ortalama olarak 5 ve 9 kat daha fazla gynogenik embriyo meydana getirme kabiliyetine sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Hassandokht ve ark. (2000), 6 İran (Ghermez-e-Azarshahr, Sefid-e-Kashan, Sefid-e-Kamare-e-Khomain, Sefid-e-Qom, Dorcheh-e-Esfahan and Gholigheseh-e-Zanjan) ve 2 İtalyan (Borettana ve Klr) soğan çeşidinin gynogenezise tepkilerini araştırmıştır. Araştırma sonucunda embriyo oluşum oranı ve kallus oluşturma yüzdesi üzerinde kültür ortamları arasındaki farkın önemli ($P<0.05$) olduğu ve kullanılan kültür ortamı ile çeşitler arasında da interaksiyonun yüksek olduğu tespit edilmiştir. İran soğan çeşitleri içinde en yüksek embriyo oluşum oranının Gholigheseh-e-Zanjan çeşidinde %0,80; en düşük embriyo gelişim oranının ise Sefid-e-Kamare-e-Khomain çeşidinde %0,34 olduğu bildirilmiştir.

Bohanec ve ark. (2001), soğanda haploidi meydana gelme frekansının büyük oranda genotipe bağlı olduğunu bildirmiştir. 39 farklı uzun gün soğan genotipi üzerinde yapılan çalışma ile haploid bitki oranının %0 ile %22,6 arasında (ortalama %4,16) değiştiği belirlenmiştir.

Sulistyarningsih ve ark. (2002), sitoplazmik erkek kısır (CMS) *Allium galanthum* ve *Allium cepa* L. arasındaki hibritlerden çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etme olanaklarını araştırmıştır. Araştırmada 535 çiçek tomurcuğu B5 ortamında kültüre alınmış ve embriyolardan elde edilen 25 bitkiden 13'ünün bitkiye dönüşümü sağlanmıştır. Araştırma sonucunda elde edilen 11 bitkinin haploid, diğer iki bitkinin ise diploid olduğu belirlenmiştir.

Bohanec ve ark. (2003), haploid bitki üretiminde genotip etkisini belirlemek amacıyla Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilmiş 22 soğan hattını kullanmıştır. Araştırma sonucunda, B0223B ve B2923B genotiplerinin haploidi meydana getirme frekansının diğer genotiplerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Araştırmada ayrıca kendilemenin soğanda gynogenezis meydana getirme frekansına etkisi de değerlendirilmiştir. B2923B genotipinin kendilenmesiyle meydana gelen hatlarda haploidi frekansının arttığı, B2923B-6 genotipinde en yüksek ortalama haploidi meydana getirme oranının %53,6 olduğu belirlenmiştir. Bunun yanısıra kendileme yoluyla elde edilen sadece tek bir bitkide haploidi meydana gelme frekansının %82,8'e kadar yükseldiği tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda kendilemenin haploid soğan üretiminde etkili bir yöntem olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Michalik ve ark. (2003), 30 farklı Polonya soğanı genotipine ait 32.802 çiçek tomurcuğunun kullanıldığı iki yıl süren çalışmasında 310 (%0,9) embriyo elde etmiştir. Araştırma sonucunda kullanılan çeşitlerin embriyo veriminin büyük oranda genotipe bağlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada sadece bir genotipte %10 oranında embriyo gelişimi sağlanırken 9 genotipte gynogenezis oluşumunun başarısız olduğu, 12 genotipte %0,2-0,8 ve 8 genotipte %1,0-4,3 oranında embriyo meydana geldiği tespit edilmiştir.

Judkeviciene ve ark., (2005), *Allium schoenoprasum* L., *Allium fistulosum* L., *Allium angulosum* L., *Allium ursinum* L., *Allium porum* L., *Allium cepa* L. var. *agregatum* ve *Allium cepa* L. olmak üzere 7 farklı *Allium* türü ile *Allium cepa* L.'nin 10 farklı çeşidinin gynogenezise tepkisini belirlemek amacıyla yürüttükleri araştırma sonucunda, gynogenik embriyo meydana gelme oranının türlere ve çeşitlere göre farklılık gösterdiğini tespit etmiştir. Türlerin gynogenik embriyo meydana getirme oranı *Allium fistulosum* L.'da %4,1; *Allium cepa* L.'da %3,2 ve *Allium porum* L.'de %1,8 olarak belirlenmiştir. *Allium cepa* L. çeşitlerindeki gynogenezis meydana gelme sıklığının (%1,1) ise hibrit çeşitlerle (%0,3) karşılaştırıldığında ortalama dört kat daha yüksek olduğunu tespit edilmiştir.

Cho ve ark. (2006), çalışmalarında *in vitro* gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etmek amacıyla ticari olarak üretimi yapılan açık tozlanan 10 farklı uzun gün soğan çeşidi (Top-one, Hwanggeumal, Higuma, Chunsim, Sprit, Brahma, Candy, Tamara, Wolf, Getsurin) ile 4 farklı F₁ hibrit çeşidi kullanmıştır. Araştırma sonucunda, gynogenezise tepkinin çeşitler arasında farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen bitkilerde yapılan ploidi analizleriyle bu bitkilerin %24,5'inin haploid, %44,9'unun mikroploid ve %16,3'ünün diploid olduğu tespit edilmiştir.

Sulistyaningsih ve ark. (2006), çiçek tomurcuğu kültürü yöntemiyle Endonezya orijinli Dili-white, Yogya ve Dili-red soğan çeşitlerinin gynogenezise tepkilerini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada ana bitkileri sera şartlarında yetiştirmiştir. Araştırmada toplam 6.812 çiçek tomurcuğu kullanılmış ve 89 bitki elde edilmiştir. Gynogenezise tepki bakımından ana bitkiler arasında önemli farkların bulunduğu ve Dili-white soğan çeşidinden 87, Dili-red ve Yogya'dan ise birer bitki elde edildiği bildirilmiş, yapılan analizler elde edilen bitkilerden sadece iki tanesinin haploid (Dili-white) olduğunu tespit edilmiştir.

Souri ve ark. (2007), 9 farklı İran soğan çeşidini kullandıkları çalışmada gynogenik bitki elde etmek amacıyla tomurcuk kültürü yöntemini kullanmıştır. Gynogenezise tepkinin genotipler arasında değişim gösterdiği, en yüksek embriyo gelişiminin Sefid-e-Naishabur (%5,06) ve Eghlid-e-Fars (%4,51) çeşitlerinden elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmada en düşük bitki rejenrasyonu Tarom-e-Zanjan (%0,19) çeşidinde

gözlenirken, en yüksek bitki rejenerasyonu ise Eghlid-e-Fars (%2,19) çeşidinden elde edilmiştir.

Ebrahimi ve Zamani (2009), iki farklı İran soğan çeşidinde (Sefid-e Kurdistan, Sefid-e Neishabour) çiçek tomurcuğu kültürü ile gynogenezis uyartımı üzerine poliaminlerin (putresin ve spermidin) etkisini araştırmıştır. Araştırmacılar, gynogenezise tepkinin çeşitler arasında farklılık gösterdiği; en yüksek gynogenik embriyo oluşumunun (%6,90) Sefid-e Kurdistan çeşidinde meydana geldiği, Sefid-e Neishabour çeşidinde ise bu oranın %3,33 olduğunu bildirilmişlerdir. Yapılan ploidi analizleri Sefid-e Kurdistan çeşidinden elde edilen bitkilerin %72,2'sinin; Sefid-e Neishabour çeşidinde ise %75,0'mın haploid olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Yaralı (2014), besin ortamında kullanılan farklı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının soğanda gynogenik embriyo oluşumuna etkisini belirlemek amacıyla yürüttüğü çalışmada Türkiye'de yetiştirilen iki farklı soğan çeşidi (Bayram 1 ve Yakut) ile soğanda yapılan gynogenezis çalışmalarında kontrol bitkisi olarak kullanılan OH-01 soğan çeşidini kullanmıştır. Araştırma sonucunda elde edilen *in vitro* bitki oranı ve haploid embriyo oluşumunun genotipler arasında farklılık gösterdiği, yapılan ploidi analizi ile yalnızca OH-01 soğan çeşidinden haploid bitki elde edildiğini bildirmiştir.

Fayos ve ark. (2015), çalışmalarında Fuentes de Ebro, BGHZ1354, Recas ve Rita olmak üzere farklı İspanyol soğan çeşitlerinin gynogenezise yatkınlığını araştırmışlardır. Denemede kontrol olarak gynogenezis meydana getirme potansiyeli yüksek olan OH-01 popülasyonu kullanılmıştır. Kullanılan soğan çeşitlerinin embriyo meydana getirme kabiliyetlerinin birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Çeşitler arasında Recas çeşidinin %2,09'luk oranla en yüksek değere sahip olduğu, buna karşın Fuentes de Ebro çeşidinde ise bu oranın %0,53 olduğu bildirilmiştir. Bu oranların tümü OH-01 popülasyonundan elde edilen değerlerden (%15) daha düşük olmuştur.

Khar ve ark. (2018), aralarında açık tozlanan, yerel çeşit ve hibrit çeşitlerin de bulunduğu 7 farklı tropikal kısa gün soğan çeşidinin haploidiye yatkınlığını araştırmıştır. Araştırmada, embriyo oluşumu yönünden genotipler arasında önemli

farklılıkların olduğu, açık tozlanan ve hibrit çeşitlerin embriyo oluşturma kapasitelerinin yerel çeşitlerle kıyaslandığında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın yerel çeşitlerin kallus oluşturma oranının ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda %33 oranında haploid, spontan diploid ve tetraploid bitkiler elde edilmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırma 2016-2018 yılları arasında Kilis 7 Aralık Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait Bitki Doku Kültürü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1 Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 13 soğan genotipi kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan soğan genotipleri ve temin edildikleri yerler

Genotip	Temin edildiği yer
Genotip 1	Ceyhan/Adana
Genotip 2	Merkez/Amasya
Genotip 3	Bismil/Diyarbakır
Genotip 4	Kırıkhan/Hatay
Genotip 5	Islahiye/ Gaziantep
Genotip 6	Merkez/Kilis 1
Genotip 7	Merkez/Kilis 2
Genotip 8	Merkez/Kilis 3
Genotip 9	Merkez/Kilis 4
Genotip 10	Musabeyli/ Kilis 5
Genotip 11	Nizip/ Gaziantep
Genotip 12	Merkez/Şanlıurfa 1
Genotip 13	Siverek/Şanlıurfa 2

3.2 Yöntem

3.2.1 Soğan başlarının dikimi

Soğan genotiplerine ait tohumluk başlar 22.11.2016 tarihinde Kilis 7 Aralık Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde hazırlanan 20 litrelik saksılara dikilmiş ve kültürde kullanılacak çiçek tomurcukları elde edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Soğan bitkilerinin gelişme dönemindeki görünüşleri

3.2.2 Ön kültür ortamı

Ön kültür ortamı olarak daha önceki araştırmacıların bulgularına göre soğanda *in vitro*'da gynogenik embriyo uyartımı üzerine başarılı sonuçlar veren BDS (Dunstan ve Short, 1997) ortamı kullanılmıştır (Alan ve ark., 2003-2004; Bohanec, 2009; Yaralı ve Yanmaz, 2013; Yaralı, 2014). Kültür ortamına bitki büyümesini düzenleyici madde olarak 2 mg/l 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) ve 2 mg/l 6-BA (Benzylaminopurine) ilave edilmiş, ortama %0,7 oranında agar ilave edilmiş ve pH'sı 5,8'e ayarlanmıştır (Geoffriau ve ark., 1997; Bohanec ve Jakse, 1999; Alan ve ark., 2003; Sulistyaningsih ve ark., 2006; Yaralı, 2014). BDS ortamının bileşimi Çizelge 3.2' de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Tomurcuk kültüründe kullanılan BDS ortamının bileşimi

Kimyasal madde	Miktar (mg/l)
BDS makro elementler (10x)	
NH ₄ H ₂ PO ₄	2300
CaCl ₂ .2H ₂ O	1500
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	1500
KNO ₃	25300
MgSO ₄ .7H ₂ O	2470
(NH ₄) ₂ SO ₄	1340
NH ₄ NO ₃	3202
BDS mikro elementler (100x)	
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5
CuSO ₄ .5H ₂ O	3,9
KI	75
MnSO ₄ .5H ₂ O	1320
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	200
Fe EDTA (100x)	
FeSO ₄ .7H ₂ O	2780
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	3730
Vitaminler (100x)	
MS thiamine-HCl	1000
MS myo-inositol	50000
Pyridoxine-HCl	100
Nikotinik asit	100
L-proline	20000
Jelleşme ajanı (g/l)	
Agar (phytagar)	7,2
pH	6,0

3.2.3 Çiçek tomurcuklarının ana bitkilerden alınması ve sterilizasyonu

Kültürde kullanılacak olan çiçek tomurcukları antesisten 3-5 gün önce, çiçek tomurcukları açmadan ana bitkilerden alınarak (Muren, 1989; Geoffriau ve ark., 1997; Luthar ve Bohanec, 1999; Puddephat ve ark., 1999; Musial ve ark., 2001; Sulistyaningsih ve ark., 2002-2006; Alan ve ark., 2003; Judkeviciene ve ark., 2005; Javornik ve ark., 1998); %70'lik ethanol içinde 3 dakika bekletildikten sonra, %15'lik kloroks çözeltisi (%0,9 sodyum hipoklorit+ %0,1 tween-20) içerisinde 30 dakika tutulmuş ardından 3 defa distile su ile yıkanarak sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Yaralı, 2014; Şekil 3.2; Şekil 3.3).



Şekil 3.2. Çiçeklenme dönemindeki soğan bitkileri



Şekil 3.3. Çiçek tomurcuklarının sterilizasyon aşamaları; a. Çiçeklenme aşamasındaki tomurcuklar, b. Çiçek tomurcuklarının %70'lik etanol içerisinde 3 dakika tutulması, çiçek tomurcuklarının %15'lik clorox çözeltisinde 30 dakika tutulması, c. Çiçek tomurcuklarının çift distile su ile yıkanması, çalkalanması ve süzülmesi

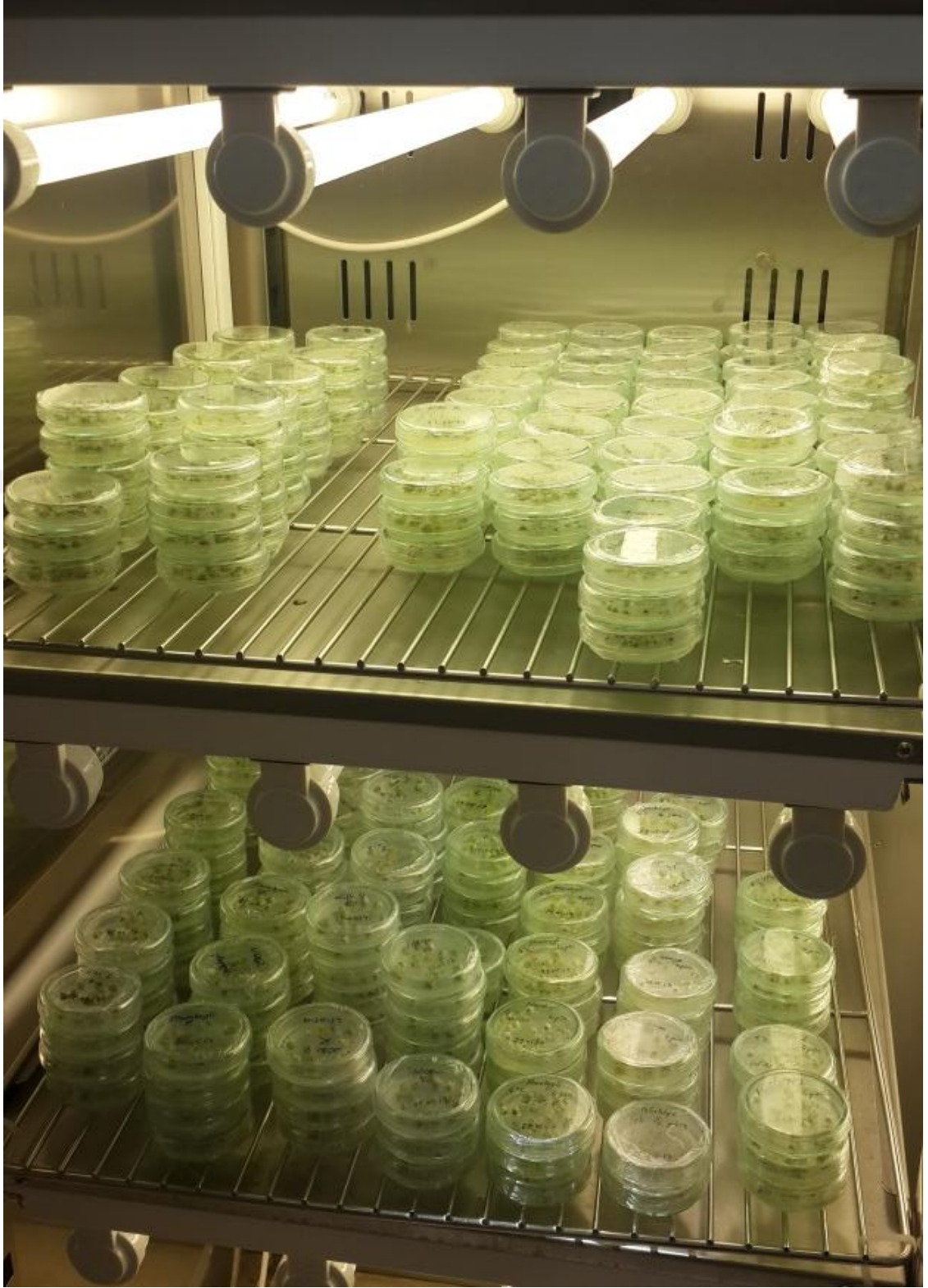
3.2.4 Tomurcuk kültürü yöntemi

Allium türlerinde gynogenik embriyo uyartımında kültüre alma yönteminin etkisi yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. Gynogenezis yoluyla haploid embriyo elde edilmesinde kullanılan 2 ana yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler tomurcuk ve yumurtalık kültürü yöntemleridir. Denemede tomurcuk kültürü yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla çiçeklenmeden 3-5 gün önceki aşamadaki çiçek tomurcuklarını taşıyan çiçek topları sabahın erken saatinde saplı olarak kesilmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Sterilizasyon işlemi tamamlanan tomurcuklar steril kabin içinde çiçek sapları

kesildikten sonra eksplantlar, 121 °C'de 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edilen (Jakse ve ark., 1996; Sulistyaningsih ve ark., 2006) 15 ml besin ortamı ile doldurulan steril petrilere her petriye 15 adet olmak üzere steril şartlarda her genotipten 15 petri olacak şekilde ekilip (Şekil 3.4), hava almayacak şekilde streç film ile sarıldıktan sonra, 25 °C'de, 16/8 saat gün uzunluğuna sahip bitki büyütme kabininde kültüre alınmıştır (Sulistyaningih ve ark., 2002-2006; Yaralı, 2014; Şekil 3.5).



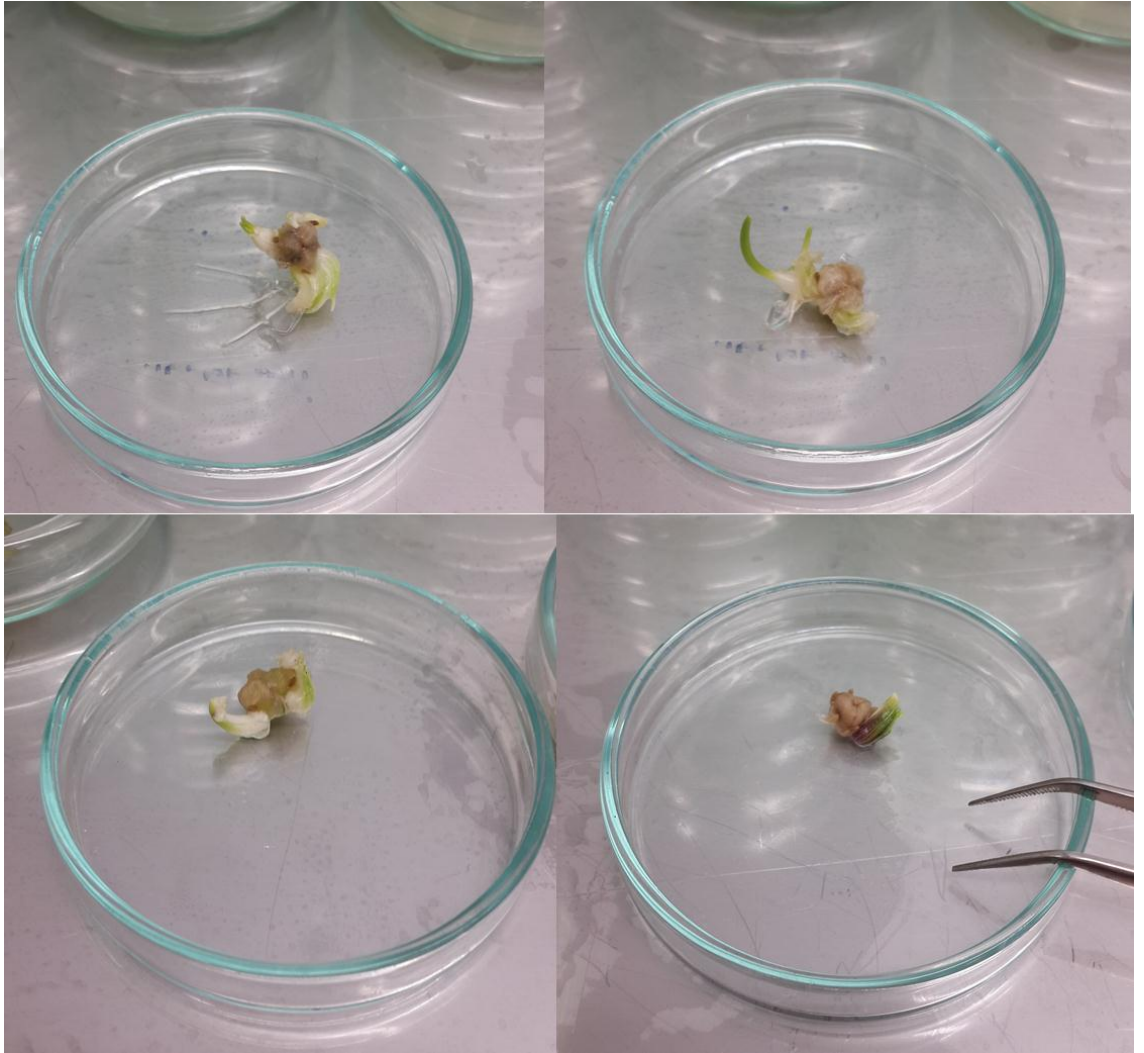
Şekil 3.4. Çiçek tomurcuklarının ön kültür ortamına dikilmesi; a. Çiçek tomurcuklarının saplarının kesilmesi, b. Çiçek tomurcuklarının besin ortamına dikilmesi



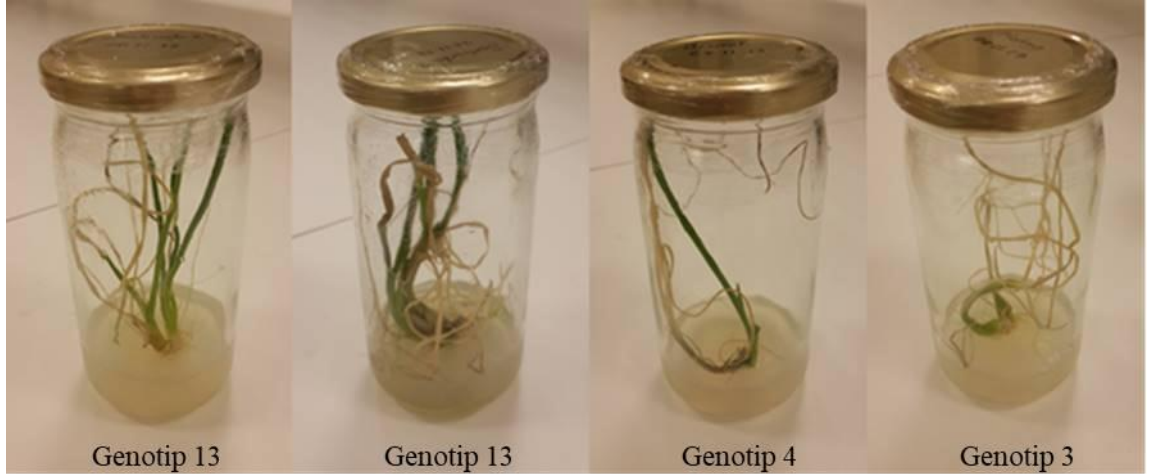
Şekil 3.5. Bitki büyütme kabineine yerleştirilen petriler

3.2.5 Gelişen eksplantların büyüme ortamına (EM) transfer edilmesi

Ön kültür ortamında gelişen eksplantlar ve bitkicikler 25 ml büyüme ortamı (EM) ile doldurulmuş cam kavanozlara transfer edilmiştir (Alan ve ark., 2003; Jakse ve ark., 2003; Yaralı, 2014; Şekil 3.6, Şekil 3.7). Büyüme ortamının içeriği Çizelge 3.3’de verilmiştir.



Şekil 3.6. Büyüme ortamına aktarılan *in vitro* bitkicikler



Şekil 3.7. Büyüme ortamında (EM) gelişmesini sürdüren bitkiler

Çizelge 3.3. Büyüme ortamının (EM) bileşimi

Kimyasal madde	Miktar (mg/l)
BDS makro elementler (10x)	
NH ₄ H ₂ PO ₄	2300
CaCl ₂ .2H ₂ O	1500
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	1500
KNO ₃	25300
MgSO ₄ .7H ₂ O	2470
(NH ₄) ₂ SO ₄	1340
NH ₄ NO ₃	3202
BDS mikro elementler (100x)	
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5
CuSO ₄ .5H ₂ O	3,9
KI	75
MnSO ₄ .5H ₂ O	1320
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	200
Fe EDTA (200x)	
FeSO ₄ .7H ₂ O	5560
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	7460
Vitaminler	
MS thiamine-HCl	10
MS myo-inositol	500
Pyridoxine-HCl	1
Nikotinik asit	1
L-proline	200
Karbonhidrat ve jelleşme ajanı (g/l)	
Agar (phytagar)	7,2
Sakkaroz	30
pH	5,9

3.3 Yapılan Ölçüm ve Değerlendirmeler:

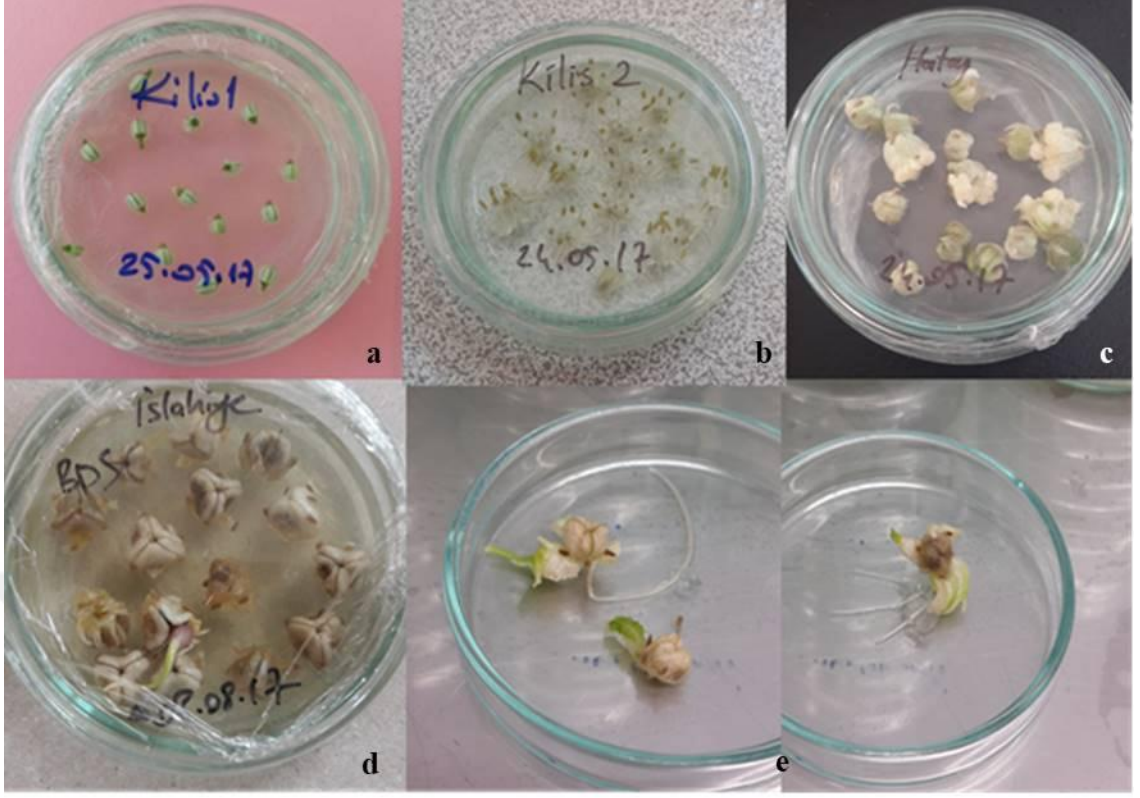
3.3.1 Eksplant gelişim aşamalarının belirlenmesi

Ön kültür ortamına alınan eksplantlarda (tomurcuk ve yumurtalık kültürlerinde) dikimden 1 hafta sonra gözlem ve ölçüm çalışmaları başlamıştır. Kültürlerde aşağıda belirtilen gelişme aşamaları değerlendirilmiş ve bu değerler sayısal olarak belirlenmiştir. Şekil 3.8 ve Şekil 3.9’da farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar görülmektedir.

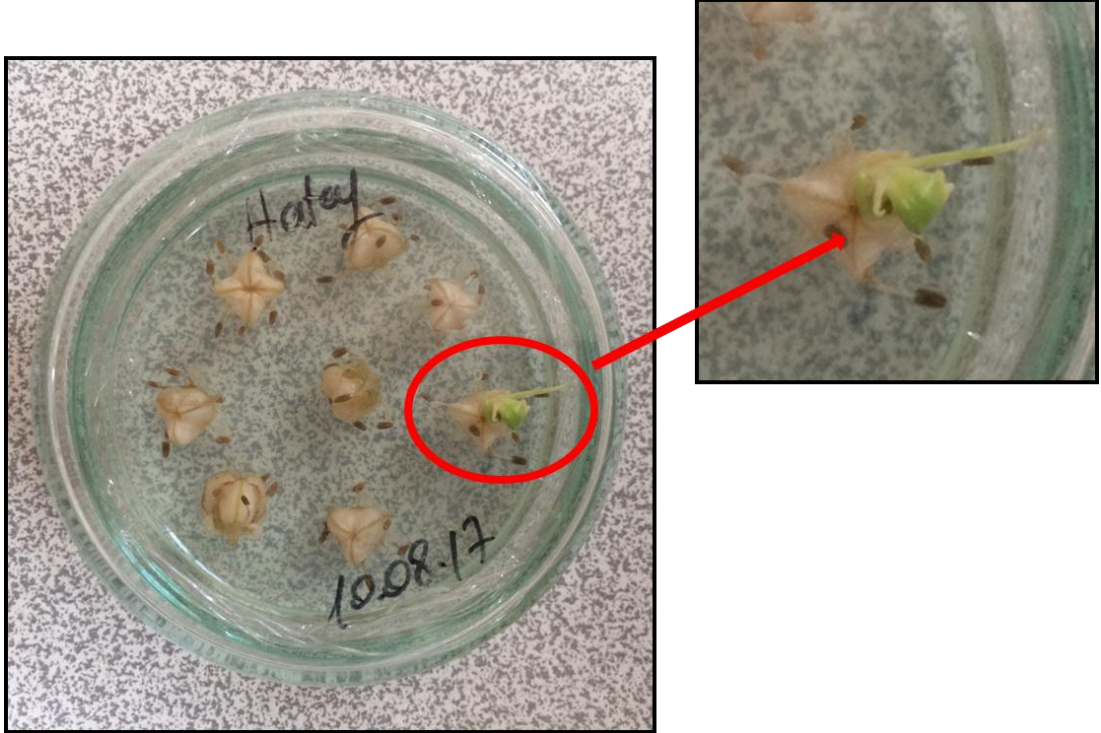
Kallus oluşturma: Tomurcukların dip kısmında kallus dokusu oluşup oluşmama durumu sayı ve yüzde olarak belirlenmiştir.

Kalluslardan bitki oluşumu: tomurcuklarda meydana gelen kallus dokusundan bitki oluşup oluşmama durumu sayı olarak belirlenmiştir.

Doğrudan bitki gelişimi: Eksplantlardan doğrudan sürgün gelişimi yoluyla yumurtalığın içinden çıkan sürgün sayısı ve oranı olarak değerlendirilmiştir.



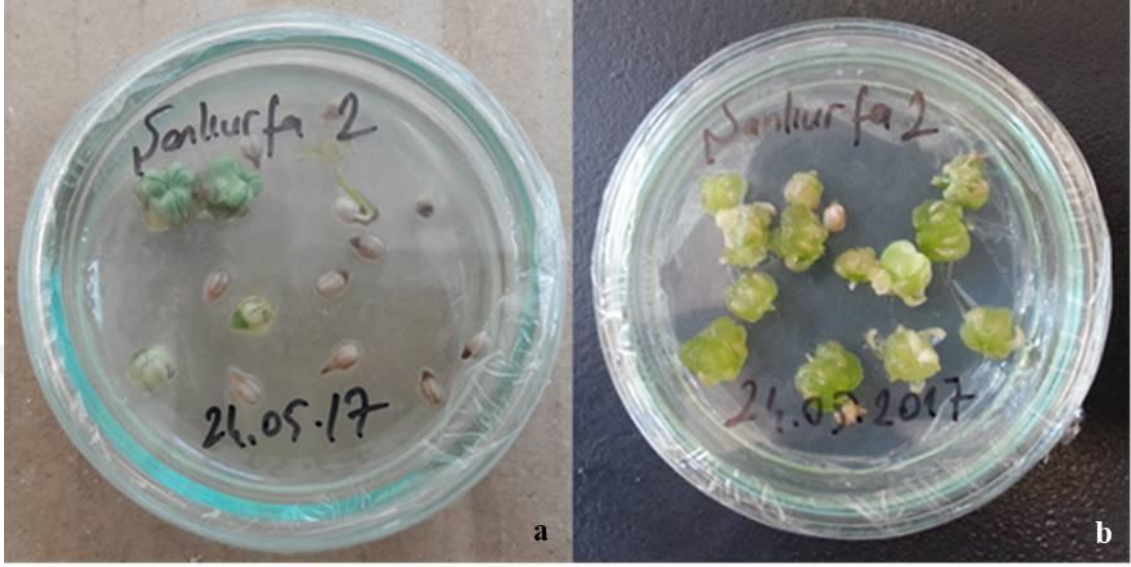
Şekil 3.8. Kültür ortamındaki farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar: a. Kültür ortamına yeni alınmış tomurcuklar, b. Kültür ortamında tomurcukların açılması, c. Kültür ortamında tomurcukların şişmesi ve kallus oluşumu, d. Doğrudan sürgün gelişimi, e. Kök ve sürgün gelişimi



Şekil 3.9. Tomurcuklarda yumurtalığın içinden doğrudan sürgün gelişimi

3.3.2 Camsılaşan ve gelişmeyen eksplant sayısının belirlenmesi

Dikim sonrası soğan eksplantlarında camsılaşma görülen ve gelişmeyen eksplantlar sayı ve oran olarak belirlenmiştir (şekil 3.10).



şekil 3.10. Kültürde gelişmeyen (a) ve camsılaşan (b) soğan tomurcukları

3.3.3 Ploidi seviyesinin belirlenmesi

Denemede elde edilen bitkiciklerin gelişimi izlenmiş ve üç-dört yapraklı aşamaya gelen bitkilerin DNA miktarları ve ploidi seviyeleri Pamukkale Üniversitesi Bitki Genetiği ve Tarımsal Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait laboratuvarda flow sitometri (Beckman Coulter Cell Lab Quanta SC Flow cytometer) yardımıyla belirlenmiştir. Flow sitometri ile yapılacak ölçümlerde kullanılmak üzere petri kabının içerisine ölçümleri yapılacak *A. cepa* bitkisinin ve kontrol olarak kullanılan yulaf (*Avena sativa* L.) bitkisinin taze sürgünlerinden yaklaşık 50 g (6-8 cm) kadar örnek alınmıştır. Örneklerin zerine 1,5 ml çekirdek izolasyon tamponu (NIB) ilave edilmiştir. Analiz için kullanılan NIB izolasyon zltisinin içeriği izelge 3.4'de verilmiştir. NIB içinde bulunan dokular jilet yardımı ile çok ince olarak kıyılarak homojenize edildikten sonra 37 m'lik porlara sahip plastik filtreden geçirilerek 2 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Bu işlemin ardından tüpteki ztlер 10.000 devir hızda 5 saniye santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminde sonra tüpün kaidesinde yapışmış olan DNA'nın üzerinde

kalan tüm sıvı dökülmüş ve 500 µl NIB eklenerek tüpler vortekslemiştir. Ardından tüplere 10 µl propidium iodide (PI) stok çözeltisi (1 mg/ml) ilave edilerek tekrar vorteksleme işlemi yapılmıştır. Bu işlemin ardından örnekler örnek kaplarına konmuş ve DNA miktarları flow sitometri ile ölçülmüştür. Flow sitometri ile ölçüm sonucu ortaya çıkan pikler Arumuganathan ve Earle (1991)'e göre “Örneğin nükleer DNA miktarı = (Örnek *A. cepa* bitkisinden çıkan floresan değeri/ *Avena sativa* 'nın floresan değeri) X 23,45 pg (kontrol olarak kullanılan *Avena sativa* 'nın DNA miktarı)” şeklinde hesaplanarak örneklerin DNA miktarları ve ploidi seviyeleri belirlenmiştir (Alan ve ark., 2003).

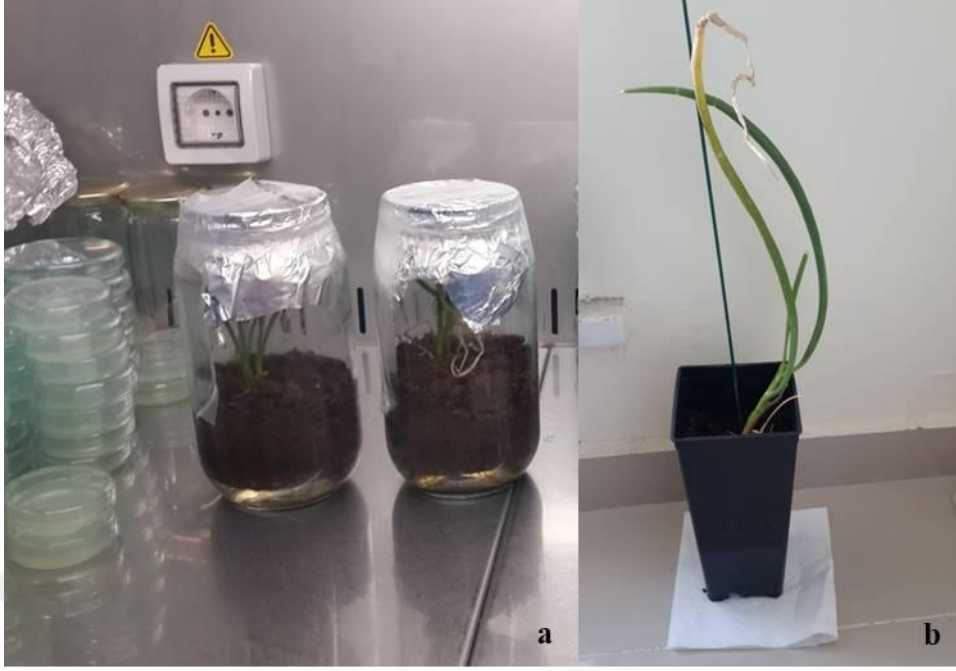
Çizelge 3.4. Çekirdek izolasyon tamponu (NIB)*

Kimyasal	Kimyasal miktarı	Final konsantrasyon miktarı
HEPES	360 mg	15 mM
Na ₂ EDTA	37,22 mg	1 mM
KCl	597 mg	80mM
NaCl	116,9 mg	20 mM
Triton X-100	200 l	% 0,2 (v/v)
Sükroz	10,3 g	300 mM
Spermin	17,4 mg	0,5 mM
PVP-40	1 g	% 1

* NIB tamponu hazırlandıktan sonra pH sı 7,5 olarak ayarlanır ve kullanılana kadar -20° C de saklanır.

3.3.4 Bitkilerin dış koşullara alıştırılması

Yaklaşık 3-4 gerçek yaprağa sahip olan *in vitro* gynogenik bitkiler steril torf ile doldurulmuş 1 litrelik kavanozlara aktarılmıştır. Aktarma işleminin ardından bitkiler steril su ile sulanmış ve kavanozların ağız kısımları steril aleminyum folyo ile kapatılmıştır. Bu işlemin ardından streç film ile sarılan kavanozlara bitkilerin hava almaları ve dış ortam koşullarına kademeli olarak alışabilmeleri amacıyla delikler açılmıştır. Ardından bitkiler ortam koşulları ayarlanan büyütme kabinine (13 saat aydınlık- 11 saat karanlık, 19 °C sıcaklık) transfer edilmiştir (Şekil 3.11). İki hafta sonra bitkiler kavanozlardan çıkarılarak saksılara dikilmiştir.



Şekil 3.11. *In vitro* bitkilerin dış ortam koşullarına alıştırılması; a. Steril koşullarda kavanozlara dikilen *in vitro* soğan bitkileri, b. Dış ortam koşullarına aktarılmış *in vitro* soğan bitkisi

3.3.5 İstatistiki değerlendirme

Deneme, eksplantarda kallus oluşumu, kallusların bitkiye dönüşümü, doğrudan gelişen bitki sayısı ve haploid bitki oluşumu üzerine genotip etkisini belirlemek amacıyla tesadüf parselleri deneme düzenine göre kurulmuştur. Varyans analizlerini takiben farklı grupları belirlemek için Tukey testi kullanılmıştır. Hesaplamalar JMP paket programı ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Eksplant Gelişimi Üzerine Genotipin Etkisi

Farklı soğan genotiplerinin ön kültür ortamına dikilen tomurcuklarda kallus oluşumu, kallustan bitki oluşumu, eksplantlardan doğrudan bitki gelişimi, camsılaşma, enfeksiyon oluşumu ve gelişmeyen eksplant oluşumuna etkisi değerlendirilmiştir.

4.1.1 Eksplantlarda kallus oluşumu üzerine genotipin etkisi

Farklı soğan genotiplerinin ön kültür ortamına dikilen tomurcuklarda kallus oluşumuna etkisi Çizelge 4.1'de, kallus oluşturan ekplant sayısı ve kallustan oluşan bitki sayısı Şekil 4.1'de verilmiştir.

Varyans analizi sonuçlarına göre eksplantlarda kallus oluşumu üzerine genotipin etkisi önemli olmuştur. Çizelge 4.1 incelendiğinde; en yüksek kallus oluşum oranına (%28,0) 11 numaralı genotipin sahip olduğu, bunu sırasıyla %27,13 ile 13 numaralı genotipin ve %26,67 ile 5 numaralı genotipin izlediği görülmektedir. En düşük kallus oluşum oranı (%11,13) 1 numaralı genotipten elde edilirken, 8 numaralı genotipte kallus oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1. Farklı soğan genotiplerinin ön kültür ortamındaki eksplantlarda kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Genotip 1	1,67 d	11,13
Genotip 2	2,67 b-d	17,80
Genotip 3	2,07 cd	13,80
Genotip 4	2,87 a-d	19,13
Genotip 5	4,00 ab	26,67
Genotip 6	3,33 a-c	22,20
Genotip 7	2,73 a-d	18,20
Genotip 8	0,00 e	00,00
Genotip 9	1,80 d	12,00
Genotip 10	3,33 a-c	22,20
Genotip 11	4,20 a	28,00
Genotip 12	3,93 ab	26,20
Genotip 13	4,07 ab	27,13

Aynı sütundaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($p \leq 0,05$)

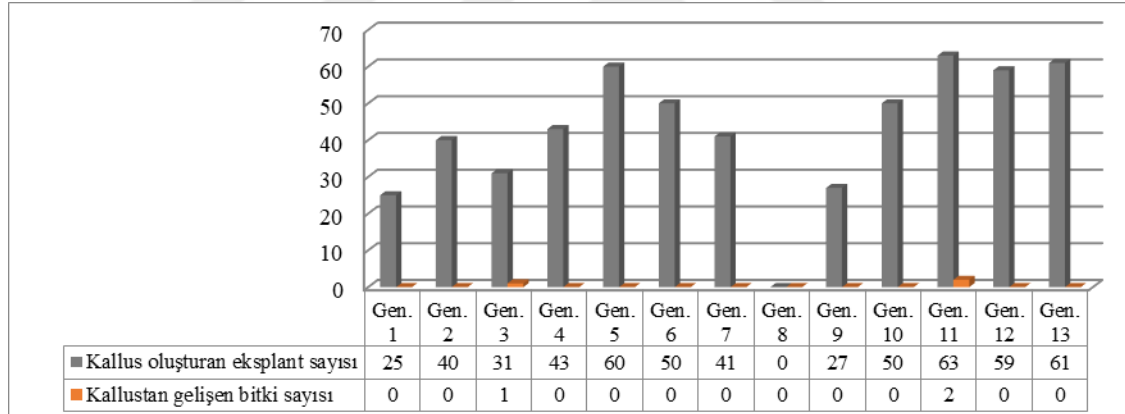
4.1.2 Kallusların bitkiye dönüşümü üzerine genotipin etkisi

Ön kültür ortamında oluşan kallusların bitkiye dönüşümü üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1 incelendiğinde, genotipler arasında yalnızca 3 numaralı genotipte 1 adet ve 11 numaralı genotipte ise 2 adet bitkinin kallustan meydana geldiği görülmektedir.

Çizelge 4.2. Ön kültür ortamında oluşan kallusların bitkiye dönüşümü üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi (adet/petri)

Genotip	Kallustan oluşan bitki sayısı	Kallustan oluşan bitki oranı (%)
Genotip 1	0,00 a	0,00
Genotip 2	0,00 a	0,00
Genotip 3	0,07 a	0,47
Genotip 4	0,00 a	0,00
Genotip 5	0,00 a	0,00
Genotip 6	0,00 a	0,00
Genotip 7	0,00 a	0,00
Genotip 8	0,00 a	0,00
Genotip 9	0,00 a	0,00
Genotip 10	0,00 a	0,00
Genotip 11	0,13 a	0,87
Genotip 12	0,00 a	0,00
Genotip 13	0,00 a	0,00

Aynı sütundaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.1. Farklı soğan genotiplerinde kallus oluşturan eksplant sayısı ve kallustan meydana gelen bitki sayısı

4.1.3 Eksplantlardan doğrudan bitki gelişimi üzerine genotipin etkisi

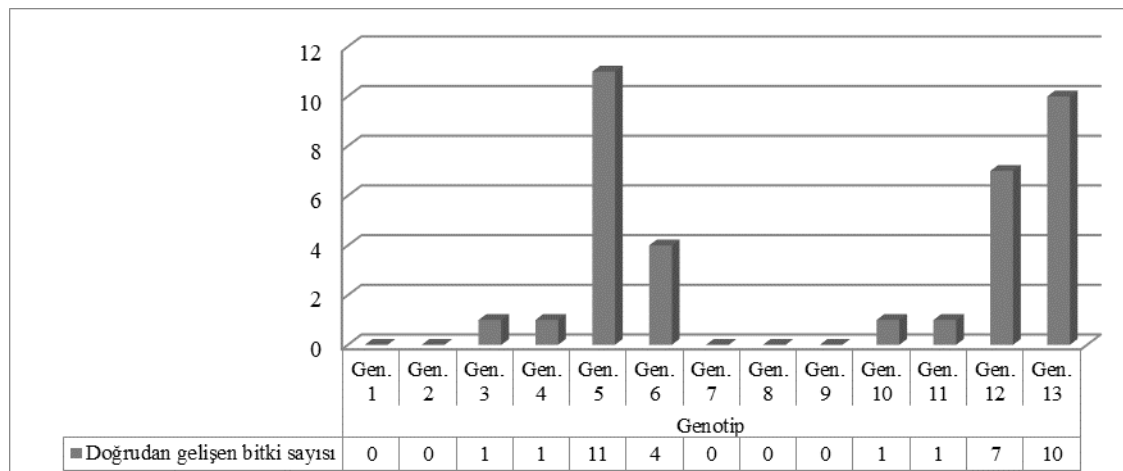
Farklı soğan genotiplerinden alınan tomurcuklardan doğrudan bitki gelişimi üzerine genotipin etkisi Çizelge 4.3’de, doğrudan meydana gelen bitki sayısı ise Şekil 4.2’de verilmiştir.

Varyans analizi sonuçlarına göre eksplantlardan doğrudan bitki gelişimi üzerine genotip etkisi önemli olmuştur. Araştırmada kullanılan 13 genotipten yalnızca 8 tanesinde doğrudan sürgün gelişimi gözlenmiştir. Doğrudan sürgün gelişimi yoluyla elde edilen 36 bitkinin; 11 tanesi (%4,87) 5 numaralı genotipten, 10 tanesi (%4,47) 13 numaralı genotipten, 7 tanesi (%3,13) 12 numaralı genotipten, 4 tanesi (%1,80) 6 numaralı genotipten, 4 tanesi ise 3, 4, 10 ve 11' numaralı genotiplerden birer adet olmak üzere elde edilmiştir. Araştırmada 1, 2, 7, 8 ve 9 numaralı genotiplerden alınan çiçek tomurcuklarında doğrudan bitki gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.3. Eksplantlardan doğrudan gelişen bitki sayısı üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi (adet/petri)

Genotip	Doğrudan gelişen bitki sayısı	Doğrudan gelişen bitki oranı (%)
Genotip 1	0,00 b	0,00
Genotip 2	0,00 b	0,00
Genotip 3	0,07 b	0,47
Genotip 4	0,07 b	0,47
Genotip 5	0,73 a	4,87
Genotip 6	0,27 ab	1,80
Genotip 7	0,00 b	0,00
Genotip 8	0,00 b	0,00
Genotip 9	0,00 b	0,00
Genotip 10	0,07 b	0,47
Genotip 11	0,07 b	0,47
Genotip 12	0,47 ab	3,13
Genotip 13	0,67 a	4,47

Aynı sütundaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($p \leq 0,01$).



Şekil 4.2. Farklı soğan genotiplerinden alınan tomurculardan doğrudan gelişen bitki sayısı

Kalluslardan ve tomurcuklardan doğrudan sürgün gelişimi yoluyla meydana gelen toplam 39 bitkicik büyüme ortamına (EM) transfer edilmiştir. Bu ortamda 13 numaralı genotipe ait sadece 2 bitki yaşatılabılmıştır. 3-4 yaprağa sahip bitkilerden alınan örneklerde flow sitometri yardımıyla ploidi seviyesi belirlenmiş (Çizelge 4.4), elde edilen bitkilerden birinin haploid, diğerinin ise diploid olduğu tespit edilmiştir. Dış ortam koşullarında yaşamını sürdüren bitki diploid bitki olmuştur.

Çizelge 4.4. *In vitro*'da elde edilen bitkilerde yapılan ploidi analizi sonuçları

Analiz edilen materyaller	Nükleer DNA miktarı	Ploidi seviyesi
Diploid soğan(kontrol)	33,49	2n
Genotip 13 (Şanlıurfa 2)	31,03	2n
Genotip 13 (Şanlıurfa 2)	16,79	n

4.1.4 Eksplantlarda camsılaşma üzerine genotipin etkisi

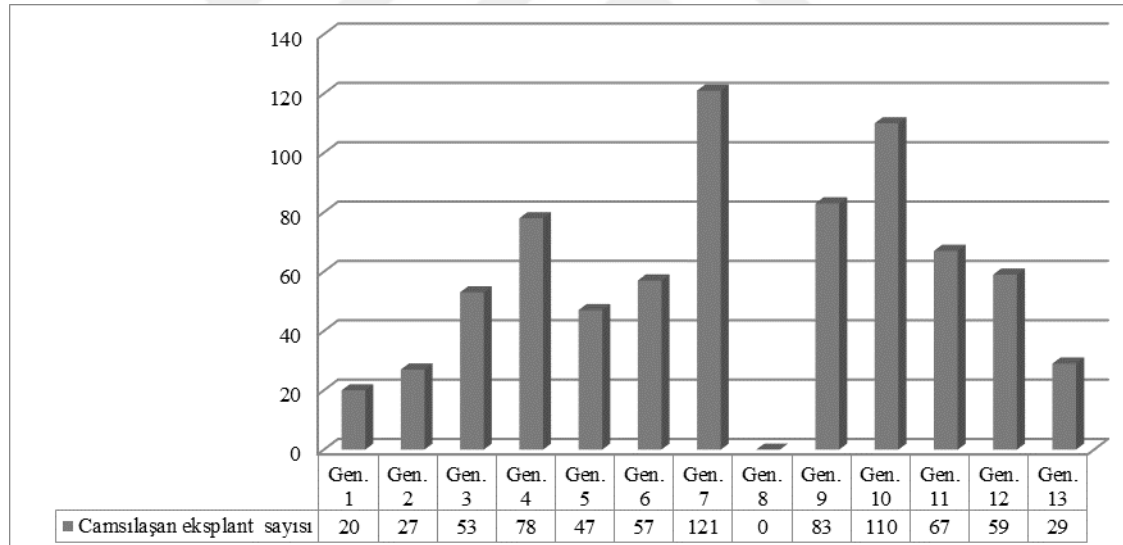
Farklı soğan genotiplerinden alınan tomurcuklardan camsılaşma üzerine genotipin etkisi Çizelge 4. 5'de, camsılaşan eksplant sayıları ise Şekil 4.3' de verilmiştir.

Varyans analizi sonuçlarına göre eksplantlarda camsılaşma üzerine genotip etkisi önemli ($p \leq 0,01$) olmuştur. Çizelge 4.5 incelendiğinde, %53,80 ile en fazla camsılaşma oranına 7 numaralı genotipin sahip olduğu, bunu sırasıyla %48,87 ile 10 numaralı genotipin ve %36,87 ile 9 numaralı genotipin izlediği görülmektedir. En düşük camsılaşma oranına ise %8,87 oranı ile 1 numaralı genotip sahip olmuştur. En fazla camsılaşan eksplant sayısı 7 numaralı genotipte 121 adet; en düşük değer 1 numaralı genotipte 20 adet olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3).

Çizelge 4.5. Ön kültür ortamındaki eksplantlarda camsılaşıma üzerine farklı soğan genotiplerinin etkisi (adet/petri)

Genotip	Camsılaşılan eksplant sayısı	Camsılaşılan eksplant oranı (%)
Genotip 1	1,33 gh	8,87
Genotip 2	1,80 f-h	12,00
Genotip 3	3,53 c-f	23,53
Genotip 4	5,20 cd	34,67
Genotip 5	3,13 d-g	20,87
Genotip 6	3,80 c-f	25,33
Genotip 7	8,07 a	53,80
Genotip 8	0,00 h	0,00
Genotip 9	5,53 bc	36,87
Genotip 10	7,33 ab	48,87
Genotip 11	4,47 cd	29,80
Genotip 12	3,93 c-e	26,20
Genotip 13	1,93 e-h	12,87

Aynı sütundaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir ($p \leq 0,01$)

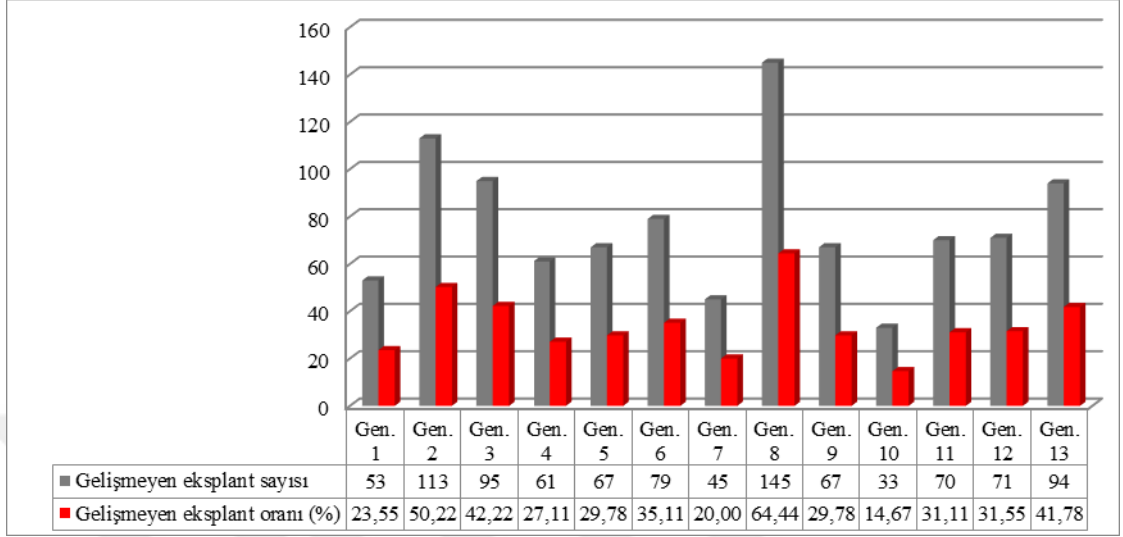


Şekil 4.3. Farklı soğan genotiplerinde camsılaşılan eksplant sayısı

4.1.5 Gelişmeyen eksplantların genotiplere göre dağılımı

Ön kültür ortamında gelişmeyen eksplantların genotiplere göre dağılımı Şekil 4.4'de verilmiştir. Şekil 4.4 incelendiğinde, en fazla gelişmeyen eksplant sayısının 145 adet

(%64,44) ile 8 numaralı genotipten, en az gelişmeyen eksplant sayısının ise 33 adet (%14,67) ile 10 numaralı genotipten elde edildiği görülmektedir.



Şekil 4.4. Gelişmeyen eksplantların genotiplere göre dağılımı

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde soğanda gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etme çalışmaları yurtdışındaki araştırmacılar tarafından başarılı bir şekilde sürdürülmektedir. Ülkemizde ise konu ile ilgili çalışmalar son yıllarda ivme kazanmasına rağmen özellikle yerli çeşitlerin kullanıldığı araştırmaların sayısı sınırlı kalmıştır. Bu nedenle çalışmalarda ülkemizin soğan genotiplerinin gynogenezise yatkınlığının belirlenmesi ve gynogenezis meydana getirme kapasitesi yüksek çeşit veya genotiplerin soğan ıslah programlarına dahil edilmesi önem arz etmektedir. Ayrıca yurt dışında yapılan çalışmalarla gynogenezise eğilimli olduğu belirlenen genotiplerin de devreye sokulması, ülkemiz genotiplerinin potansiyelini ortaya konulması açısından önemlidir.

Bu çalışmada, Kilis ili de dâhil olmak üzere ülkemizin farklı illerinde yetiştirilen bazı soğan (*Allium cepa* L.) genotiplerinin haploidiye yatkınlıklarının tomurcuk kültürü yoluyla tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Kilis ili (Merkez ve Musabeyli) başta olmak üzere Adana (Ceyhan), Amasya (Merkez), Diyarbakır (Bismil), Hatay (Kırıkhan), Gaziantep (Islahiye ve Nizip) ve Şanlıurfa (Merkez ve Siverek) illerinde yerel olarak yetiştiriciliği yapılan soğan genotiplerine ait başlar temin edilmiştir.

Dişi gametten haploidi uyartımında başarıyı etkileyen en önemli faktör genotiptir. Haploidiye yönelik çalışmalarda tüm koşullar yerine getirilse bile kullanılan türün haploidiye eğilimi yoksa başarı şansı hemen hemen hiç yoktur. Dolayısıyla gynogenezis yoluyla elde edilen gynogenik haploid embriyo oranı, embriyo kalitesi ve embriyodan bitki rejenerasyonu tür ve çeşitlere göre farklılık göstermektedir (Keller ve Korzun, 1996; Michalik ve ark., 2003; Alan ve ark., 2004; Judkevieiene ve ark., 2005; Palmer ve Keller, 2005; Reed, 2005; Cho ve ark., 2006; Kim ve ark., 2007; Chen ve ark., 2011, Murovec ve Bohanec, 2012).

Araştırmada sonuçları, kültür ortamında tomurcuklarda kallus oluşumunun genotipler arasında farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. En fazla kallus oluşum oranına (%28,0) 11 numaralı genotipin sahip olduğu, bunu sırasıyla %27,13 ile 13 numaralı genotipin ve %26,67 ile 5 numaralı genotipin izlediği belirlenmiştir. En düşük kallus oluşum oranı (%11,13) 1 numaralı genotipten elde edilirken, 8 numaralı genotipte kallus

oluşumu gözlenmemiştir. Keller (1990b) yaptığı çalışmada kullanılan tür ve çeşitlerde kallus oluşum oranların farklılık gösterdiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Hassandokht ve ark. (2000)'nin 6 İran ve 2 İtalyan soğan çeşidini kullandıkları çalışmada da kallus oluşturma yüzdesinin çeşitler arasında farklılık gösterdiğini tespit edilmiş, İran soğan çeşitleri içinde en yüksek embriyo oluşum oranının Gholigheseh-e-Zanjan çeşidinde %0,80; en düşük embriyo gelişim oranının ise Sefid-e-Kamare-e-Khomain çeşidinde %0,34 olduğu bildirilmiştir.

Kallusların bitkiye dönüşümü üzerinde genotipler arasında farklılık olduğu, genotipler arasında yalnızca 3 numaralı genotipte 1 adet ve 11 numaralı genotipte ise 2 adet bitkinin kallustan meydana geldiği tespit edilmiştir. Ön kültür ortamındaki eksplantlardan doğrudan sürgün gelişimi yoluyla da *in vitro* bitkiler elde edilmiştir. Doğrudan sürgün gelişimi yoluyla bitki eldesinde de genotip etkisi önemli olmuş, kullanılan 13 genotipten yalnızca 8 tanesinde doğrudan sürgün gelişimi yoluyla yumurtalıkların içinden bitki gelişimi gözlenmiştir. Doğrudan sürgün gelişimi yoluyla elde edilen 36 bitkinin; %4,87'si 5 numaralı genotipten, %4,47'si 13 numaralı genotipten, %3,13'ü 12 numaralı genotipten, %1,80'i 6 numaralı genotipten, %0,47'si ise 3, 4, 10 ve 11 numaralı genotiplerden elde edilmiştir. Keller (1990a) tarafından yürütülen ve soğanda ilk haploid bitkinin elde edildiği çalışmada, farklı *Allium* türleri ve farklı soğan çeşitleri kullanılmış ve sadece soğanda yumurtadan bitki rejenerasyonunun meydana geldiği bildirilmiştir. Soğanda kültüre alınan yumurtalıklardan genotiplere göre %0,08- 0,58 arasında değişen oranlarda doğrudan embriyo gelişimi ile bitkicikler elde edilmiştir. Geoffriau ve ark. (1997) tarafından yürütülen, genetik orijinlerine (Kuzey Avrupa, Doğu Avrupa, Güney Avrupa, Amerika Birleşik Devletleri) ve genetik yapılarına göre (açık tozlanan, kendilenmiş, sentetik klon) ayrılan 22 soğan çeşidinin kullanıldığı başka bir araştırmada ise; gynogenik embriyo oluşumu üzerine genotip ve çeşit etkisinin önemli olduğu, kültüre alınan çiçek tomurcuklarında embriyo verimi ve bitki rejenerasyonunun %0-17 ve %0-11 arasında değiştiği bildirilmiştir. Benzer şekilde Bohanec ve Jakse (1999), tarafından yapılan ve Avrupa, Kuzey Amerika ve Japonya orijinli uzun gün soğan çeşitlerinin kullanıldığı bir diğer çalışmada ana bitkiler arasında gynogenik embriyo veriminin dikkate değer ölçüde farklılık gösterdiği, ortalama embriyo veriminin %18,6- 22,6 arasında değiştiği ve Amerika orijinli ıslah

materyalinin, Avrupa ve Japonya orijinli olanlara göre ortalama olarak 5 ve 9 kat daha fazla gynogenik embriyo meydana getirme kabiliyetine sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bohanec ve ark. (2001) tarafından yapılan 39 farklı uzun gün soğan genotipinin kullanıldığı araştırmada da benzer sonuçlara ulaşılmış, soğanda haploidi meydana gelme frekansının büyük oranda genotipe bağı olduğunu ve haploid bitki oranının %0 ile %22,6 arasında (ortalama %4,16) deđiştđi belirlenmiştir. Farklı İspanyol soğan çeşitlerinin gynogenezise yatkınlığının araştırdığı ve Fayos ve ark. (2015) tarafından yürütölen çalışmada da kullanılan soğan çeşitlerinin embriyo meydana getirme kabiliyetlerinin birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Çeşitler arasında Recas çeşidinin %2,09'luk oranla en yüksek değere sahip olduğu, buna karşın Fuentes de Ebro çeşidinde ise bu oranın %0,53 olduğu bildirilmiştir.

Kallustan ve doğrudan sürgün oluşumu yoluyla meydana gelen toplam 39 bitkicik büyüme ortamına (EM) transfer edilmiştir. Bu ortamda 13 numaralı genotipe (Siverek/Şanlıurfa 2) ait sadece 2 bitki yaşatılabilmiştir. *In vitro*'da yaşamını sürdüren ve 3-4 yaprağına sahip bitkilerden alınan örneklerde flow sitometri yardımıyla ploidi seviyesi belirlenmiş ve direkt sürgün gelişimi yoluyla elde edilen bitkilerden birinin haploid, diğlerinin ise diploid olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma sırasında eksplantlarda camsılaşma, enfeksiyonlar ve gelişmeyen tomurcuklardan dolayı kayıplar yaşanmıştır. Ön kültür ortamında kültüre alınan tomurcuklarda yukarıda belirtilen nedenlerle meydana gelen kayıplar genotipler arasında da farklılık göstermiştir. En fazla camsılaşma oranına (%53,80) 7 numaralı genotipin sahip olduğu, bunu sırasıyla % 48,87 ile 10 numaralı genotipin ve % 36,87 ile 9 numaralı genotipin izlediği tespit edilmiştir. En düşük camsılaşma oranına ise %8,87 oranı ile Genotip 1 sahip olmuştur. Besin ortamındaki yüksek karbonhidrat, oksin ve sitokinin miktarının camsılaşmaya neden olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Paques ve Boxus 1987; Ziv 1991). Nitekim Yaralı (2014) tarafından yapılan çalışmada da ortam bileşimlerinin camsılaşma üzerine etkili olduğu, kültüre alınan tomurcuk ve yumurtalıklardaki camsılaşma oranının ortamdaki oksin, sitokinin miktarından etkilendiği ve oksin, sitokinin kullanılmayan ortamlarla karşılaştırıldığında, oksin, sitokinin dozunun artmasıyla camsılaşma oranının da arttığı tespit edilmiştir.

Ön kültür ortamında meydana gelen kayıpların çoğu gelişmeyen eksplantlar nedeniyle ortaya çıkmıştır. Ön kültür ortamında gelişmeyen eksplantların genotiplere göre dağılımı incelendiğinde, 8 numaralı genotipin %64,44 oranı ile en yüksek gelişmeyen eksplant oranına sahip olduğu tespit edilirken, en az gelişmeyen eksplant oranına sahip genotip ise %14,67 oranı ile 10 numaralı genotip olarak belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada, Türkiye’de yetiştirilen bazı yerel soğan genotiplerinin haploidiye yatkınlığının tespiti ve ümitvar görülen genotiplerin soğanda yapılacak ıslah çalışmalarında kullanılması için referans bitki adaylarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Araştırmada kallus oluşumu, kallusların bitkiye dönüşümü ve eksplantlardan doğrudan bitki gelişimi üzerine genotip etkisi önemli bulunmuştur. Çalışmada kalluslardan ve doğrudan bitki gelişimi yoluyla 39 adet bitki elde edilmiştir. Yapılan ploidi analizleri sonucu Şanlıurfa ili Siverek ilçesinden temin edilen 13 numaralı genotipten elde edilen bir adet bitkinin haploid olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla hem eksplantlarda kallus oluşumu hem de doğrudan bitki meydana getirme kabiliyetlerinin yüksek olduğu tespit edilen 12, 13 ve 5 numaralı genotiplerin diğer genotiplerle kıyaslandığında, soğan ıslahı çalışmalarında haploid bitki elde edilmesi açısından daha başarılı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Alan, A.R., Mutschler, M.A., Brants, A., Cobb, E., Earle, E.D., 2003. Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* stearn. *Plant Science*, 165(6): 1201-1211.
- Alan, A.R., Brants, A., Cobb, E., Goldschmied, A., Mutschler, M.A., Earle, E.D., 2004. Fecund gynogenic lines from onion (*Allium cepa* L.) breeding materials. *Plant Science*, 167(5): 1055-1066.
- Alan, A.R., Kaska, A., Celebi-Toprak, F., 2014. Production of fully homozygous genotypes from various edible *Alliums*. *International Journal of Secondary Metabolite*: 1(1): 77.
- Alan, A.R., Kaska, A., Aslan, E., Celebi-Toprak, F., 2017. Turkish doubled haploid onion (*A. cepa* L.) lines. The 3rd. International Symposium on EuroAsian Biodiversity 05-08 July 2017, Minsk – BELARUS.
- Anonim, 2018. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. Web Sitesi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Erişim Tarihi: 24.12.2018).
- Anonymous, 2018. FAO Statistics Division. Web Sitesi: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. (Erişim Tarihi: 24.12.2018)
- Arumuganathan, K., Earle, E.D., 1991. Nuclear DNA content of some important plant species by flow cytometry. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9: 208-218.
- Bohanec, B., Jakse, M., Ihan, A., Javornik, B., 1995. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants. *Plant Science*, 104: 215-224.
- Bohanec, B., Jakse, M., 1999. Variations in gynogenic response among long-day onion (*Allium cepa* L.) accessions. *Plant Cell Reports*, 18: 737-742.
- Bohanec, B., Jakse, M., Javornik, B., 2001. Present status of haploid induction in onion: analysis of procedure and its limitations. *Acta Horticulturae*, II International Symposium on Edible *Alliaceae* (ISHS), 555: 91-98:
- Bohanec, B., 2002. Doubled haploid onions. p145-148. In: *Allium* crop science: recent advances. Rabinowich, H. and Currah, L. (eds.), CABI Publishing House, Wallingford, UK
- Bohanec, B., Jakse, M., Havey, M.J., 2003. Genetic analyses of gynogenetic haploid production in onion. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128(4): 571-574.
- Bohanec, B., 2009. Doubled haploids via gynogenesis. *Advances In Haploid Production In Higher Plants*. Ed.: Forster, Brian P., Touraev, Alisher, Jain, S. Mohan, Springer Science Business Media B.V., Page: 35-46.
- Chen, J.F., Cui, L., Malik, A.A., Mbira, K.G., 2011. *In vitro* haploid and dihaploid production via unfertilized ovule culture. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, Volume: 104, Pages: 311-319. DOI 10.1007/s11240-010-9874-6.
- Cho, K.S., Hong, S.Y., Yun, B.Y., Kwon, Y.S., Huh, E.J., 2006. Production and analysis of doubled haploid lines in long-day onion (*Allium cepa*) through *In vitro* gynogenesis. *Hort Environ. Biotechnol.* 47(3): 110-116.
- Dhatt A.S., Thakur P., 2014. Production of doubled haploids in onion: A Review. *J. Hort. Sci.* Vol: 9(2): 107-112.
- Dunstan, D.I., Short, K.C., 1997. Improved growth of tissue cultures of onion, *Allium cepa*. *Physiol Plant.* 41: 70-72.

- Ebrahimi, R., Zamani, Z., 2009. Effect of polyamines on *in vitro* gynogenesis of onion (*Allium Cepa* L.) Am- Eurasian J. Sustain. Agric., 3(1): 71-75.
- Fayos, O., Vallés, M.P, Garcés-Claver, A., Mallor, C., Castillo, A.M., 2015. Doubled haploid production from spanish onion (*Allium cepa* L.) germplasm: embryogenesis induction. Plant Regeneration and Chromosome Doubling. Front. Plant Sci. 6: 384. doi: 10.3389/fpls.2015.00384.
- Forodi, B.R., Hassandokht, M., Kashi, A., Sepahvand, N., 2009. Influence of spermidine on haploid plant production in Iranian onion (*Allium Cepa* L.) populations through *in vitro* culture. Horticulture Environment and Biotechnology, Vol: 50(5): 461-466.
- Forster, B.P., Bors, E.H., Kasha, K.J., Touraev, A., 2007. The resurgence of haploids in higher plants. Trends in Plant Science, vol: 12(8): 368-375.
- Geoffriau, E., Kahane, R., Rancillac, M., 1997. Variation of gynogenesis ability in onion (*Allium cepa* L.). Euphytica 94: 37-44.
- Hassandokht, M.R., Kashi, A., Campion, B., Bozorgipour, R., 2000. Study of haploid production in Iranian onions (*Allium Cepa* L.) via *in vitro* gynogenesis. Seed and Plant, 16(3): 300-312.
- Jakse, M., Bohanec, B., 1994. Effect of media composition on gynogenesis of onion cultivars. Proceedings of the International Colloquium on Impact of Plant Biotechnology on Agriculture, edit by: Javornik, B., Bohanec, B., Kreft, I., Ljubljana (Slovenia), Nov 1994. p.: 35-41.
- Jakse, M., Bohanec, B., Ihan, A., 1996. Effect of media components on the gynogenic regeneration of onion (*Allium cepa* L.) cultivars and analysis of regenerants. Plant Cell Reports. Vol: 15(2): 934-938.
- Jakse, M., Bohanec, B., Havey, M.J., 2002. Genotypic and environmental effects on gynogenic haploid induction in onion. Meeting Abstract. Publisher: Faculty of Agriculture, Ain Shams University.
- Jakse, M., Havey, M.J., Bohanec, B., 2003. Chromosome doubling procedures of Onion (*Allium cepa* L.) gynogenic embryos. Plant Cell Reports, 21(9): 905-910.
- Javornik, B., Bohanec, B., Campion, B., 1998. Second cycle gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.) and genetic analysis of the plants. Plant Breeding, 117(3): 275-278.
- Judkeviciene, D., Stanys, V., Bobinas, E., 2005. Gynogenesis peculiarities of *Allium* L. vegetables grown in Lithuania. Bologija. No:3, P: 6-9.
- Keller, J., 1990a. Culture of unpollinated ovules, ovaries and flower buds in some species of the genus *Allium* and haploid induction via gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). Euphytica. 47: 241-247.
- Keller, J. 1990b. Results of anther and ovule culture in some species and hybrids in the genus *Allium* L. Archiv für Züchtungsforschung, 20(3): 189-197.
- Keller, E.R.J., Korzun, L., 1996. Haploidy in onion (*allium cepa* l.) and other *allium* species. *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants. Chapter. Edit: Jain SM, Sopory SK and Veilleuks RE, Kluwer Academic Publisher, 3: 51-75. Netherlands.
- Khar, A., Kumar, A., Islam, S., Kumar, A., Agarwal, A., 2018. Genotypic response towards haploid induction in short day tropical Indian onion (*Allium cepa*). Indian Journal of Agricultural Sciences, 88 (5): 709–13.
- Kim, S., Yoo, K.S., Pike, L.M., 2007. Production of doubled haploid onions (*Allium cepa*) and evaluation of their field performance. Hort. Environ. Biotechnol., 48(3): 143-147.

- Luthar, Z., Bohanec, B., 1999. Induction of direct somatic organogenesis in onion (*Allium cepa* L.) using a two-step flower or ovary culture. *Plant Cell Reports*, 18: 797–802.
- Martinez, L.E., Agüero, C.B., Galmarini, C.R., 1997. Obtention of haploid plants by ovaries and ovules culture in onion (*Allium cepa* L.). I. International Symposium on Edible Alliaceae. *Acta Hort. (ISHS)*, 433:447-454.
- Martinez, L.E., Agüero, C.B., Lopez, M.E., Galmarini, C.R., 2000. Improvement of *in vitro* gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines. *Plant Science*, 156(2): 221-226.
- Michalik, B., Adamusa, A., Nowak, E., 2003. Gynogenesis in Polish onion cultivars: gametic embryogenesis. *Plant Science*, vol: 165(6): 1201-1211.
- Mukhambetzhonov, S.K., 1997. Culture of nonfertilized female gametophytes *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 48: 111-119.
- Muren, R., 1989. Haploid plant induction from unpollinated ovaries in onion. *HortScience* 24(5): 833- 834.
- Murovec, J., Bohanec, B., 2012. Haploids and doubled haploids in plants breeding. *Agricultural and Biological Sciences*, Chapter 5: 87- 106. Edited by Ibrokhim Y. Abdurakhmonov, ISBN 978-953-307-932-5.
- Musial, K., Bohanec, B., Przywara, L., 2001. Embryological study on gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). *Sex Plant Report*, 13: (335-341).
- Palmer, C.E.D., Keller, W.A., 2005. Overview of haploidy. biotechnology in agriculture and forestry, haploids in crop improvement II (Ed. By Palmer CE, Keller WA and Kasha KH), 56:3-7.
- Paques, M., Boxus P.H., 1987. "Vitrification": review of literature. *Acta Hort. ISHS*212:155-166.
- Puddephat, I.J., Robinson, H.T., Smith, B.M., Lynn, J., 1999. Influence of stock plant pretreatment on gynogenic embryo induction from flower buds of onion. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 57: 145-148.
- Reed, S.M., 2005. Haploid cultures. *Plant Development and Biotechnology*, 17: 225-234.
- Singh, D., Dhillon, T.S., Singh, R., Kumar, R., 2018. Present status and future opportunities in onion research: A review. *International Journal of Chemical Studies*, 6(1): 656-665.
- Souri, N.A., Hassandokht, M.R., Peyvast, G.H.A., 2007. Effect of different sugars on *in vitro* haploid plants production of Iranian onion landraces (*Allium cepa* L.). *Iranian Journal of Agricultural Science*, 38(3): 459-465.
- Sulistyaningsih, E., Tashiro, Y., Shigyo, M., Isshiki, S., 1997. Morphological and cytological characteristics of haploid shallot (*Allium cepa* L. *Aggregatum* group). *Bull. Fac. Agr. Saga Univ.* 82: 7-15.
- Sulistyaningsih, E., Yamashita, K., Tashiro, Y., 2002. Haploid induction from F1 hybrids between CMS shallot with *Allium galanthum* cytoplasm and common onion by unpollinated flower culture. *Euphytica* 125: 139-144.
- Sulistyaningsih, E., Aoyagi, Y., Tashiro, Y., 2006. Flower bud culture of shallot (*Allium cepa* L. *Aggregatum* Group) with cytogenetic analysis of resulting gynogenic plants and somaclones. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 86: 249-255.
- Yaralı, F., Yanmaz, R., 2013. *Allium* türlerinin ıslahında haploidi tekniğinden yararlanma. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (2): 44-50.

- Yaralı, F., 2014. Soğan (*Allium cepa* L.) ve Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* Kollman, Özhatay, Matthew, Şiraneci)'nda ovaryum ve çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etme olanaklarının araştırılması. Ankara Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, 122 s.
- Ziv, M., 1991. Vitrification: morphological and physiological disorders Of *In Vitro* Plants. Micropropagation, pp:45-69.



7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Sinan ŞAHİNALP

Doğum Yeri: KİLİS

Doğum Tarihi: 23.07.1989

E posta: sinan.sahinalp@gmail.com

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Okul, başlama ve mezuniyet yılı, şehir) :

Lise: HMK Anadolu Lisesi / 2007 / Kilis

Lisans: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri/ 2013/Van

