



**FARKLI EXPLANT TİPİ VE BESİ
ORTAMI UYGULAMALARININ TOKAT
SARIMSAĞININ (*Allium sativum* L.) MİKRO
ÇOĞALTILMASINA ETKİSİ**

ESRA TAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI
PROF.DR. NAİF GEBOLOĞLU**

Eylül - 2019

Her hakkı saklıdır

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI EXPLANT TİPİ VE BESİ ORTAMI UYGULAMALARININ TOKAT
SARIMSAĞININ (*Allium sativum* L.) MİKRO ÇOĞALTILMASINA ETKİSİ

ESRA TAŞ

TOKAT
Eylül - 2019

Her hakkı saklıdır

ESRA TAŞ tarafından hazırlanan "FARKLI EXPLANT TİPİ VE BESİ ORTAMI UYGULAMALARININ TOKAT SARIMSAĞININ (*Allium sativum* L.) MİKRO ÇOĞALTILMASINA ETKİSİ" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 5 AĞUSTOS 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından Oy Birliği / ~~Oy Çokluğu~~ ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

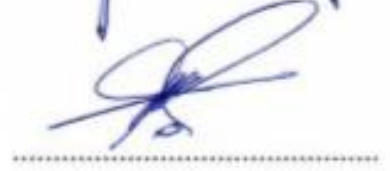
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
PROF.DR. NAİF GEBOLOĞLU



İkinci Danışman
PROF.DR. H. ÇAĞLAR KAYMAK
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ



Üye
DR. ÖĞRETİM ÜYESİ EMİN YILMAZ
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ



ONAY



Prof. Dr. Çetin ÇEKİÇ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
24.08.2019

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

ESRA TAŞ

5 Ağustos 2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI EXPLANT TİPİ VE BESİ ORTAMI UYGULAMALARININ TOKAT SARIMSAĞININ (*Allium sativum* L.) MİKROÇOĞALTILMASINA ETKİSİ

ESRA TAŞ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. NAİF GEBOLOĞLU

Sarımsakta çok sayıda yeni bitki elde etmek için mikro çoğaltma tekniği kullanılmaktadır. Sarımsakta mikro çoğaltmanın başarısı üzerine genotip, besin ortamı, bitki büyüme düzenleyiciler gibi birçok faktör etkilidir. Bu çalışmada yerel Tokat sarımsağının mikro çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Sürgün ucu, kök ucu ve bazal gövde eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlar 2,4-D (0-0.1-1.0 mg.l⁻¹) ve Kinetin (0-0.1-1.0-2.0 mg.l⁻¹) ilave edilmiş MS (Murashige ve Skoog, 1962) ve B5 (Gamborg ve ark., 1968) besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültüre alınan eksplantlar 15 gün boyunca 24 saat karanlık ve 16/8 saat gece/gündüz koşullarında bekletilmiştir. Daha sonra bütün eksplantlar 16/8 saat gece/ gündüz, 300 lux ışık ve 25±2 °C sıcaklık koşullarına sahip ortama alınmıştır. Kallus elde edildikten sonra 1 cm çapında kalluslar 2,4-D ve GA₃ (0.1 ve 1.0 mg.l⁻¹) ilave edilmiş MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Sonuç olarak, sürgün ucundan kallus ve embryo elde edilememiştir. Eksplantların karanlıkta bekletilmesi sadece bazal gövdede embriyo oluşumunu artırmıştır. Ebriyo ve kallus oluşumunda B5 ortamı daha etkili olmuştur. Artan 2,4-D dozları kallus oluşumunu artırmıştır. Bazal gövde orijinli kalluslarda embryo oluşumu daha fazla gerçekleşmiştir. 0.1 mg.l⁻¹ 2,4-D + 1.0 mg.l⁻¹ GA₃ uygulaması kallustan embryo oluşumunu artırmıştır.

2019, 53 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Sarımsak, Doku kültürü, 2,4-D, Kinetin, Kallus

ABSTRACT

MASTER THESIS

EFFECT OF EXPLANT TYPES AND NUTRIENT MEDIA ON MICROPROPAGATION OF TOKAT GARLIC (*Allium sativum* L.)

ESRA TAŞ

TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF HORTICULTURE

SUPERVISOR: PROF. DR. NAİF GEBOLOĞLU

In garlic, micro-propagation technique is used to obtain many new plants. Many factors such as genotype, nutrient media and plant growth regulators are effective on the success of micro-propagation in garlic. In this study, micro-propagation possibilities of local Tokat garlic genotype were investigated. Shoot tip, root tip and basal stem were used eksplant. Explants were culturen on MS (Murashige and Skoog) (1962) and B5 (Gamborg et al., 1968) media supplemented with 2,4-D (0-0.1-1.0 mg.l⁻¹) and Kinetin (0-0.1-1.0-2.0 mg.l⁻¹). Cultured explants were incubated for 15 days in dark conditions and 16/8 hours in day / night conditions. Subsequently, all explants were placed under 16/8 hours night / day, 300 lux light and 25 ± 2 oC temperature conditions. After the callus formation, callus were cultured in MS nutrient media supplemented with 2,4-D and GA₃ (0.1 and 1.0 mg.l⁻¹). As a result, callus and embryo were not obtained from the shoot tip. Explants cultured in the dark only increased embryo formation in the basal stem. B5 medium was more effective in embryo and callus formation. Increased doses of 2,4-D increased callus formation. Embryo formation was more frequent in callus originated from basal stem. MS medium supplemented with 0.1 mg.l⁻¹ 2,4-D+1.0 mg.l⁻¹ GA₃ increased embryo formation from callus.

2019, 53 pages

KEYWORDS: Garlic, Tissu culture, 2,4-D, Kinetin, Callus

ÖNSÖZ

Yerel sarımsak genotipi Tokat sarımsağının mikro çoğaltım olanaklarının araştırıldığı tez çalışmamda laboratuvar ve bitkisel materyalleri kullanmamı sağlayan, bilgi ve deneyimleri ile yanımda olan danışmanım Prof.Dr. Naif GEBOLOĞLU'na ve tez çalışmamın her aşamasında katkı sağlayan Arş.Gör. Sevtap Doksöz BONCUKCU'ya teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim süresince maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme ve eşim Rıdvan TAŞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın ülkemize ve bilim dünyasına katkı sağlamasını temenni ederim.

ESRA TAŞ

5 Ağustos 2019

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| ÖNSÖZ | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| SİMGE VE KISALTMALAR | v |
| ŞEKİL LİSTESİ | vi |
| ÇİZELGE LİSTESİ | vii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 3 |
| 2.1. Sarımsağın Taksonomisi, Anavatanı ve Yayılışı..... | 3 |
| 2.2. Sarımsağın Botanik Özellikleri ve Ekolojik İstekleri..... | 4 |
| 2.3. Sarımsağın Ekonomik Önemi..... | 5 |
| 2.4. Sarımsağın Besin Değeri ve Biyokimyasal İçeriği..... | 6 |
| 2.5. Sarımsakta Mikro Çoğaltma..... | 8 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM | 10 |
| 3.1. Materyal..... | 10 |
| 3.1.1. Bitkisel materyal..... | 10 |
| 3.1.2. Besin ortamları..... | 10 |
| 3.1.3. Kültür aşamasında kullanılan ekipmanlar..... | 12 |
| 3.2. Yöntem..... | 15 |
| 3.2.1. Donör bitkilerin yetiştirilmesi..... | 15 |
| 3.2.2. Eksplantların hazırlanması..... | 15 |
| 3.2.3. Besin ortamlarının bileşimi ve hazırlanması..... | 17 |
| 3.2.4. Bitki büyüme düzenleyiciler ve inkübasyon koşulları..... | 18 |
| 3.2.5. Gözlemler..... | 20 |
| 4. BULGULAR | 21 |
| 4.1. Bazal Gövdeden Kallus Oluşumu..... | 21 |
| 4.2. Bazal Gövdeden Embriyo Oluşumu..... | 23 |
| 4.3. Kök Ucundan Kallus Oluşumu..... | 25 |
| 4.4. Kök Ucundan Embriyo Oluşumu..... | 27 |
| 4.5. Kallustan Embriyo Oluşumu..... | 29 |
| 4.6. Kallustan Bitki Oluşumu..... | 30 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ | 34 |
| 6. KAYNAKLAR | 37 |
| 7. ÖZGEÇMİŞ | 41 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

| | |
|-----------------|------------------|
| g | gram |
| l | litre |
| m ² | metre kare |
| mg | miligram |
| ml | mililitr |
| °C | santigrat derece |
| cm | santimetre |
| cm ² | santimetrekare |
| % | yüzde |

Kısaltmalar

| | |
|---|-----------------------------------|
| <u>Açıklama</u> | |
| KNO ₃ | Potasyum nitrat |
| NH ₄ NO ₃ | Amonyum nitrat |
| MgSO ₄ , 7H ₂ O | Magnezyum sülfat |
| CaCl ₂ , 2H ₂ O | Kalsiyum klorür |
| Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O | Kalsiyum nitrat |
| NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O | Mono sodyum fosfat |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | Amonyum sülfat |
| KCl | Potasyum klorür |
| KH ₂ PO ₄ | Mono potasyum fosfat |
| MnSO ₄ , H ₂ O | Mangan sülfat |
| ZnSO ₄ , 7H ₂ O | Çinko sülfat |
| H ₃ BO ₃ | Borik asit |
| KI | Potasyum iyodür |
| Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O | Sodyum molibdat |
| CuSO ₄ , 5H ₂ O | Bakır sülfat |
| CoCl ₂ , 6H ₂ O | Kobalt klorür |
| Na ₂ EDTA | Sodyum EDTA |
| FeSO ₄ , 7H ₂ O | Demir sülfat |
| BAP / BA | Benzil aminopürin |
| 2,4-D | Diklorofenoksiasetik asit |
| EDTA | Etilendiamin tetraasetik asit |
| ACC | Aminocyclopropane carboxylic asit |
| AgNO ₃ | Gümüş nitrat |

ŞEKİL LİSTESİ

| <u>Şekil</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| Şekil 3.1.Denemede kullanılan mikroskop, manyetik çalkalayıcı ve pH metre..... | 13 |
| Şekil 3.2.Denemede kullanılan otoklav ve inkübatör..... | 13 |
| Şekil 3.3.Denemenin yürütüldüğü doku kültürü laboratuvarı, flow kabin ve iklim odası. | 14 |
| Şekil 3.4.Yaprak eksplantı almak üzere donör bitkilerin in vitro ortamda yetiştirilmesi. | 16 |
| Şekil 3.5.Kök ucu eksplantı alınan donör bitkilerin in vitro koşullarda yetiştirilmesi.... | 16 |
| Şekil 3.6.Bazal gövdeden eksplant hazırlama..... | 17 |
| Şekil 3.7.Besin ortamlarının hazırlanması..... | 18 |
| Şekil 4.1.MS besin ortamında kültüre alınmış ve gelişmekte olan kallus dokuları..... | 31 |
| Şekil 4.2.a) Bazal gövdeden embriyo oluşumu, b) Kallustan embriyo gelişimi..... | 32 |
| Şekil 4.3.Kallus dokusundan embriyo gelişimi..... | 32 |
| Şekil 4.4.Embriyodan gelişen küçük bitkicikler..... | 33 |

ÇİZELGE LİSTESİ

| <u>Çizelge</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| Çizelge 2.1. Dünya’da önemli sarımsak üreticisi ülkeler..... | 6 |
| Çizelge.3.1. MS ve B5 besin ortamlarının bileşenleri..... | 11 |
| Çizelge 3.2. Mikro çoğaltımda kullanılan kinetin ve 2,4-D dozları..... | 19 |
| Çizelge 3.3. Kallus kültüründe kullanılan 2,4 D ve GA ₃ dozları..... | 19 |
| Çizelge.4.1. Uygulamalara göre bazal gövdeden kallus oluşumu (10 eksplant)..... | 22 |
| Çizelge.4.2. Uygulamalara göre bazal gövdeden kallus oluşum interaksyonu (10 eksplant) | 22 |
| Çizelge.4.3. Bazal gövdeden kallus oluşumuna ait varyans analizi..... | 23 |
| Çizelge.4.4. Uygulamalara göre bazal gövdeden embriyo oluşumu (10 eksplant)..... | 24 |
| Çizelge.4.5. Uygulamalara göre bazal gövdeden embriyo oluşum interaksyonu (10 eksplant) | 24 |
| Çizelge.4.6. Bazal Gövdeden embriyo oluşumuna ait varyans analizi..... | 25 |
| Çizelge.4.7. Uygulamalara göre kök ucundan kallus oluşumu (10 eksplant)..... | 26 |
| Çizelge.4.8. Uygulamalara göre kök ucundan kallus oluşum interaksyonu (10 eksplant) | 26 |
| Çizelge.4.9. Kök ucundan kallus oluşuuna ait vaaryans analizi..... | 27 |
| Çizelge.4.10.Uygulamalara göre kök ucundan embriyo oluşumu (10 eksplant)..... | 28 |
| Çizelge.4.11.Uygulamalara göre kök ucundan embriyo oluşum interaksyonu (10 eksplant) | 28 |
| Çizelge.4.12.Kök ucundan embriyo oluşumuna ait varyans analizi..... | 29 |
| Çizelge.4.13.Uygulamalara göre embriyo sayıları (Embriyo/kallus)..... | 30 |
| Çizelge.4.14.Embriyo oluşumuna ait varyans analiz tablosu..... | 30 |
| Çizelge.4.15.Uygulamalara göre bitki sayıları (Bitki/kallus)..... | 31 |
| Çizelge.4.16.Bitki oluşumuna ait varyans analiz tablosu | 31 |

1.GİRİŞ

Sarımsak (*Allium sativum L.*) soğanla birlikte Alliaceae familyasının önemli türlerinden biri olup, insanlar tarafından çok eski zamanlardan beri bilinen ve tüketilen sebzelerden biridir. Anavatanı Orta Asya'dır. Dünyada ılıman iklim kuşağında oldukça geniş bir alanda yetiştiriciliği yapılmaktadır. Tropik iklim kuşağında ise daha çok yüksek dağlık kesimlerde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Günümüzde tarımı yapılan sarımsakların büyük bir kısmı kısır olduğundan tohumla çoğaltımı yapılamamaktadır. Bu nedenle vejetatif olarak çoğaltılmaktadırlar. Bununla beraber az sayıda da olsa fertil klonlar elde edilmiştir (Brewster, 1994; Etoh, 1986). Generatif olarak üreyebilen tiplerde bitkinin ihtiyaç duyduğu soğuklama ihtiyacı tropik ve subtropik iklim kuşağı dışında kalan ekolojilerde kolayca sağlanabilmekte, bu koşullarda tohum üretimi yapılabilmektedir (Takagi, 1990).

Sarımsak soğandan sonra Alliaceae familyasının yetiştiriciliği en fazla yapılan ikinci türüdür. Dünyada popüleritesi yüksek türlerden biridir. Bunun nedeni taze ve kurutulmuş tüketilebilmesinin yanında özellikle sağlık alanında ve ilaç sektöründe yaygın olarak kullanılmasıdır. Özellikle çağın önemli hastalıklarından olan kanser hastalıklarında sarımsağın önemli bir koruyucu gıda olduğu bilinmektedir. İnsan sağlığına etkilerinin yanında sarımsak insan beslenmesi ve enerji gereksinimini karşılaması bakımından da önemli bir türdür. Taze ağırlık esas alındığında %1-2 protein, %0.2 yağ, %5-12 karbonhidrat içerir. Sarımsak soğanında protein miktarı %4-6 arasında değişir (Brewster, 1994). Sarımsak tarihte bilinen enerji içeriği yüksek ve aynı zamanda insan sağlığına etkili en eski bitki türüdür. Eski Mısırda özellikle piramitlerin inşaatında çalışan işçiler ağır iş gücünü karşılamak için beslenmelerinde sarımsağa önem verirlerdi. Eski Mısır, Eski Yunan, Eski Roma, Eski Çin ve Japonya, Eski Hindistan ile Ortaçağ ve Rönesans dönemleri incelendiğinde her döneme sarımsağın damgasını vurduğu, tarih boyunca birçok hastalığın tedavisinde sarımsaktan etkili şekilde yararlandığı görülmektedir (Rivlin, 2001; Lawson, 1998; Kahn, 1996; Moyer, 1996). Sarımsağın insanlar tarafından kullanılmasına dair ilk bilgilere M.Ö. 2600 – 2100'lü yıllarda Sümer kayıtlarında rastlanmaktadır. Ayrıca Yahudilerin kutsal kitaplarında sarımsaktan söz edilmektedir. Modern eczacılığın oluşmadığı orta çağ

döneminde bir çok hastalığın, bulaşıcı enfeksiyonların, böcek ısırıklarının, salgın hastalıkların ve yaralanmaların tedavisinde sarımsaktan yararlanılmıştır (Haris ve ark., 2001).

Generatif gelişme gösterememesi nedeniyle çoğaltımında vegetatif yöntemler kullanılmaktadır. Sarımsak pratikte dişleriyle çoğaltılmaktadır. Bir sarımsak soğanının 5-15 arasında diş oluşturduğu düşünüldüğünde vegetatif çoğaltmadaki zorluklarda kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Daha seri üretimler yapabilmek maksadıyla sarımsakta mikroçoğaltım teknikleri de kullanılmaktadır.

Sarımsağın in vitro regenerasyonu çalışmalarında ağırlıklı olarak explantlardan kallus oluşturma ve kallustan sürgün elde etme yöntemleri kullanılmaktadır. Explanttan kallus elde etme çalışmaları da genelde karanlık koşullarda yürütülmektedir. Kallus oluşumu gerçekleştikten sonra materyal ışıklı ortama alınmaktadır. Kallus kültürü olarak ta adlandırılan bu yöntemde bitkilerin sürgün ucu, kök ucu, genç yaprakları ve basal plakaları kullanılmaktadır. Kök ucu ile yapılan in vitro çalışmalarında diğer eksplantlara göre daha iyi sonuçlar elde edilebilmektedir (Martin-Urdiroz ve ark., 2004; Robledo-Paz ve ark., 2000; Koch ve ark., 1995; Nagasawa ve Finer, 1988).

Tez çalışmasında yerel popülasyon olan Tokat sarımsağının, in vitro regenerasyon olanakları araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Sarımsak dünyada kültürü yapılan en eski bitki türlerinden biridir. İnsanların tedavisinde kullanılması günümüzden 5000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Mısır'da piramitlerin yapımında çalışan işçilere hastalanmamaları ve enerjilerini koruyabilmeleri için düzenli olarak sarımsak yedirildiği bilinmektedir. Sarımsak Anadolu'da çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Ancak kültüre alındığı zamanla alakalı kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Evliya Çelebi seyahatnamesinde sarımsaktan söz etmektedir. Türklerin Anadolu'ya göç etmeden önce sarımsağı beslenme ve tedavi amaçlı kullandıkları bilinmektedir. Türkiye'de *Allium sativum* olarak bilinen sarımsağın en çok yetiştirildiği il Kastamonu'dur. Türkiye'de Kastamonu sarımsağı veya Taşköprü sarımsağı olarak bilinmektedir. Kastamonu'da yetiştirilen sarımsağın n %90'ı Taşköprü ilçesinde yetiştirilmektedir. Taşköprü'de yetişen sarımsağa değer kazandıran önemli faktör bölgedeki toprakların Selenyumca zengin olmasıdır (İbret, 2005).

2.1. Sarımsağın Taksonomisi, Anavatanı ve Yayılışı

Sarımsak Alliacea (Zambakgiller) familyasındandır ve *Allium sativum* olarak bilinen önemli bir türdür. Araştırmacılar sarımsağın familyası ile ilgili farklı değerlendirmeler yapmışlar ve önceleri Amaryllidaceae familyası altında incelemişlerdir. Fakat daha sonra taksonomistler Alliaceae familyasına ait olduğu konusunda fikir birliğine varmışlardır. Bu sınıflandırmaya göre sarımsak Monocotyledones sınıfı, Liliiflorae üst takımı, Asparagales takımı, Alliaceae familyası ve *Allium* cinsine bağlı *Allium sativum* L. olarak bilinmektedir (Robinowich ve Brewster 1990, Brewster 1994). *Allium sativum* türünün iki alt türü bulunmaktadır. *Allium sativum* sub. var., *sativum* kültür sarımsağıdır. *Allium sativum* sub. var. *ophioscorodon* diğer alt türdür. *Allium* cinsine bağlı 500 tür tanımlanmıştır (Başer ve ark., 1993, Brewster 1994). Anadolu florasında ise *Allium* cinsine ait 150 dolayında tür bulunmaktadır (Devis 1984). Sarımsağın ilk sınıflandırılmasında taksonomistler sarımsağı Akdeniz bitkisi olarak değerlendirmişlerdir. Taksonomistlerden Linnaeus (1753), ana vatanı olarak Sicilya'yı, Don (1827) ise Yunanistan ve Girit adasını sarımsağın anavatanı olarak kabul etmişlerdir. Sarımsağın anavatanı konusunda ilk ciddi çalışmayı Regel (1887) yapmıştır.

Regel'e göre sarımsağın anavatanı Tien-Shan dağlarının kuzeyinden Orta Asya'ya kadar uzanan bölgedir. Sarımsağın anavatanı konusunda taksonomistler arasındaki görüş ayrılıklarını açıklayan Kazakova (1971), sarımsağın birincil gen merkezinin Orta Asya, ikincil gen merkezinin ise Akdeniz'den Kafkaslara kadar uzanan bölge olduğunu belirtmiştir (Kazakova, ve Starokozhev, 1973).

2.2. Sarımsağın Botanik Özellikleri ve Ekolojik İstekleri

Sarımsak bitki olarak otsu, soğanlı ve kendine has aromatik kokusu olan bir türdür. Sarımsakta bitki boyu 25-90 cm arasında değişir. Üretim baş kısmından alınan dişlerle yapılır. Yaprak dizilimi dıştan içe doğrudur ve yapraklar 20-60 cm kadar uzarlar. Yaprak uzunluğu, yaprak kalınlığı, yaprak sayısı ile baş büyüklüğü ve diş sayısı arasında bir ilişki vardır (Vural ve ark., 2000). Kısa ve çok yapraklı çeşitlerde diş sayısının çok ve ufak olduğu, kalın yapraklı çeşitlerde ise baş ve dişlerin büyük, diş sayılarının az olduğu gözlemlenmiştir (Vural ve ark. 2000). Sarımsakta gövde, alt kısımda rozet gövde şeklindedir. Rozet gövdede iç içe sıralı bir dizilim gösteren dişlerden baş oluşur. Dişler ve baş ayrı ayrı koruyucu kabuklarla çevrilidir. Sarımsak genotiplerinin çoğu generatif olarak gelişemez. Özellikle Orta Asya'da bulunan bazı genotipler generatif gelişme gösterebilmektedir. Generatif gelişme gösteren genotiplerde sıklıkla apomiksis görülür. Sarımsağın sınıflandırmasında çiçeklenen ve çiçeklenmeyen tipler olarak ta sınıflandırma yapılır (Rubatzky ve Yamaguchi 1997; Vural ve ark., 2000; Şalk ve ark., 2008).

Sarımsak iklim isteği bakımından seçici değildir. Farklı ekolojilerde rahatlıkla sarımsak yetiştiriciliği yapılabilir. Sarımsak yetiştiriciliği için en uygun iklim deniz ikliminden karasal iklime geçişin olduğu yörelerdir. Optimum 15-20 °C sıcaklık sarımsak yetiştiriciliği için idealdir. Bu sıcaklık değerlerinin altında veya üstünde sıcaklık söz konusu olduğunda baş ve diş iriliği ve kalitesi düşer. Sıcaklığın 15 °C'nin üzerinde olduğu durumlarda yaprak gelişmesi hızlanmakta, 25 °C'nin üzerinde ise yaprak gelişmesi yavaşlamaktadır. Ayrıca 25 °C'nin üzerindeki sıcaklarda sarımsak bitkisinin yapraklarında sararma ve külleme görülür, kalite ve verim düşer. Sarımsak bitkisi kısa süreli 0 °C ve birkaç derece altındaki sıcaklıklarda gelişmesini devam

ettirebilir. Sarımsağın dişleri -10 °C ye kadar dayanabilir (Günay ve ark.1993). Sarımsak toprak isteği bakımından biraz seçicidir. Besin maddelerince zengin, geçirgen, kumlu-tınlı, milli-tınlı, orta ağır topraklar sarımsak yetiştiriciliği için uygundur. Aşırı nemli topraklar hastalık ve zararlıları tetiklerken, sert, iyi işlenmemiş ve kuru toprak yapısı başların küçük kalmasına neden olur. Sarımsak ayrıca organik maddece zengin, fazla nemli olmayan ve nötr topraklarda daha iyi yetişir (Günay 1992). Sarımsak yetiştiriciliğinde toprak yapısının yanı sıra Selenyum ve Germanyum içeriği bakımından zengin topraklarda sarımsak yetiştiriciliği için tercih edilmektedir. Sarımsak selenyumu topraktan bol miktarda alıp bünyesinde tuttuğundan selenyumca zengin topraklarda yetiştiriciliği yapılması büyük önem taşımaktadır. Dünyada ve Türkiye’de sarımsağın tıbbi amaçlı kullanılmasının ana dayanağı bol miktarda selenyum içermesidir (Ip ve ark., 1992; Yan Dong ve ark., 2001).

2.3. Sarımsağın Ekonomik Önemi

Sarımsağın insan sağlığına etkilerinin anlaşılmasıyla birlikte Dünyada üretimi ve tüketimi her geçen gün artış göstermiştir. Dünyada 2000 yılında 1.08 milyon hektar alanda 11.09 milyon ton üretim yapılırken, 2017 yılında 1.58 milyon hektar alanda 28.16 milyon ton üretim gerçekleşmiştir. Birim alandan elde edilen verim 2000 yılında 1.02 ton/ha iken 2017 yılında 1.79 ton/ha olmuştur (FAOSTAT, 2019). Sarımsak üretiminde Asya ülkeleri ilk sıralarda yer almaktadır. Çin 22.16 milyon ton üretim miktarı ile Dünyada ilk sırayı almaktadır. Türkiye ise yaklaşık 148 bin ton sarımsak üretimi ile Dünyada 13. sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2019). Dünyada önemli sarımsak üreticisi ülkeler, üretim miktarları, üretim alanları ve verimlilik düzeyleri Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Türkiye’de sarımsak yetiştiriciliğinde verimin bu kadar düşük olmasının temel nedenlerinden biri genotip farklılığıdır. Ayrıca yetiştiricilikte profesyonel işletmeciliğin gelişmemesi de bu sonucun oluşmasında etkilidir. Türkiye sahip olduğu ekolojik potansiyeli ve yüksek tarım kapasitesine rağmen sarımsak üretimi bakımından ne yazık ki Dünyada önemli ülkeler arasında yerini alamamıştır. Geniş adaptasyon yeteneğine rağmen sarımsak üretimi Türkiye’de Kastamonu, Kahramanmaraş ve Gaziantep

yörelere yoğunlaşmıştır. Bunun dışında Anadolu'nun hemen yer yerinde ev bahçelerinde küçük çaplı üretimlere rastlanmaktadır. Türkiye'de sarımsak üretimi 2006 yılında 83.2 bin dekar alanda 68.8 bin ton dolayında iken 2015 yılında 108.1 bin dekar alanda 94.9 bin ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK,2015). Türkiye'de sarımsak üretiminde yıllara göre bir artış söz konusudur. Ancak bu artış Dünyadaki önemli sarımsak üreticisi ülkelerin üretimlerinde görülen artışların gerisinde kalmaktadır. Bunun en önemli nedeni Türkiye'de üretilen sarımsaklar tüketime yönelik olup, ilaç sanayisi için sarımsak yetiştiriciliği yapılmamaktadır. Ayrıca rahatsız edici kokusu nedeniyle tüketimi beklenen hızda yaygınlaşmamıştır. Türkiye'de son 15 yılda sarımsak üretimi incelendiğinde üretimde bir artış gözlenmemektedir. Oysa nüfus artışına da bağlı olarak sarımsak tüketimi artmaktadır. Tüketimdeki artışın üretime yansımamasının nedeni ithalat olarak görünmektedir. Özellikle Çin'den sarımsak ithalatı yapılması yerli üretimi olumsuz yönde etkilemektedir.

Çizelge 2.1. Dünya'da önemli sarımsak üreticisi ülkeler

| Ülkeler | Alan (Ha) | Ülkeler | Miktar (Ton) |
|--------------------------|-----------|--------------------------|--------------|
| China, mainland | 815 095 | China, mainland | 22 160 465 |
| India | 321 000 | India | 1 693 000 |
| Bangladesh | 66 259 | Bangladesh | 425 401 |
| Myanmar | 27 674 | Republic of Korea | 293 686 |
| Russian Federation | 27 445 | Spain | 274 712 |
| Spain | 26 630 | Egypt | 274 668 |
| Republic of Korea | 21 643 | Russian Federation | 258 455 |
| Ukraine | 21 500 | United States of America | 232 000 |
| Turkey | 16 652 | Uzbekistan | 214 263 |
| Argentina | 15 460 | Myanmar | 203 674 |
| Ethiopia | 15 243 | Ukraine | 185 830 |
| United States of America | 13 360 | Ethiopia | 151 684 |
| Egypt | 12 607 | Turkey | 148 133 |

2.4 Sarımsağın Besin Değeri ve Biyokimyasal İçeriği

Sarımsak biyokimyasal içeriği bakımından önemli bitki türlerinden biridir. Sarımsağın 100 gramı 140 kalori, 28.2 gr karbonhidrat, 5.3 gr protein, 0.2 gr yağ, 1.1 gr selüloz içerir. Ayrıca %63.8 i sudur. Sarımsak Allicine, Allin ve Ajoen gibi uçucu yağları Allinaz, Mirasinaz ve Peroksidaz gibi enzimleri glikoz ve sakkaroz gibi karbonhidratları önemli düzeyde barındırır. Bünyesinde 200 den fazla kimyasal bileşik içerir. Mineral maddeler, aminoasitler, A, B ve C vitamini bakımından zengindir. Sahip olduğu keskin kokusu içerdiği uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır (Anonim 1988). Sarımsağın insan tedavisinde binlerce yıldır kullanıldığı bilinmektedir. Ortaçağ döneminde bulaşıcı ve salgın hastalıklarla mücadelede yara yüzeylelerinde oluşan enfeksiyonları önlemede kullanılmıştır (Anonim 1995). Sarımsak insan beslenmesinin yanı sıra insan sağlığı açısından da önemli bir bitkidir. Özellikle Çin’de üretim alanı ve üretim miktarının çok yüksek olmasında sarımsağın bu ülkede tıbbi bitki olarak kullanılmasının etkisi büyüktür. Sarımsak, bünyesinde bulunan yüksek düzeydeki organosülfür bileşikleri sayesinde tıp ve eczacılık alanında çok önemli bir yere sahiptir. Literatürde birçok çalışmada sarımsağın mikropları yok ettiği, kanı sulandırıcı etkisinden dolayı damar tıkanıklıkları ve kalp krizini kısmen önlediği, kan dolaşımını kolaylaştırarak tansiyonun normal seviyelerde kalmasına yardımcı olduğu ve yüksek tansiyonu düşürdüğü, bünyesindeki Allil sülfür sayesinde değişik kanser türlerine karşı direnci artırdığı ve kanserle savaşta yardımcı olduğu, özellikle bünyesinde yüksek miktarlarda selenyum bulunması nedeniyle DNA hasarının durdurularak veya DNA’da meydana gelmiş hasar tamir edilerek te kanserden korunmada etkili olduğu, antibakteriyel özellikleri sayesinde kanserli hücrelerin çoğalmasını yavaşlattığı, vücudu kanserojen maddelerden temizlediği birçok araştırmada kesin olarak ortaya konmuştur (Borek, 2001; Rayman, 2012; Pittler ve Ernst, 2007; Bongiorno ve ark., 2008; Butt ve ark., 2009).

Sarımsağın insan sağlığı üzerindeki etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda; kan basıncı kolesterol ve trigliseridi düşürdüğü (Anonim 1995; Deshpande ve ark 1993), kolesterol sentezini inhibe ettiği (Berthold ve ark. 1998), bağışıklık sistemini güçlendirdiği (Abdullah ve ark. 1989), birçok gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı antibiyotik etkisi gösterdiği (Celini ve ark.1996; Lemar ve ark. 2005) bunun dışında,

birçok fungal, viral, parazitik hastalıkların tedavisinde ve kanserle mücadelede oldukça etkili bir besin kaynağı olduğu (Weber ve ark. 1992; Ghazanfari ve ark 2006; Fleischauer ve ark.2000; El-Mofty 1994) bu çalışmalarla ortaya konulmuştur. Sarımsakta diğer Allium türlerine göre kükürtlü bileşik konsantrasyonu çok daha yüksektir. Sarımsakla birlikte kükürt içeriği bakımından öne çıkan soğan, brokoli, karnabahar gibi sebzelerle karşılaştırıldığında sarımsağın en az dört kat daha fazla kükürtlü bileşik içerdiği ortaya konulmuştur (Abu-lafi 2004). Bu kükürtlü bileşiklerin, sarımsağın doğal keskin kokusunun yanı sıra tedavi amaçlı kullanımının yani birçok tıbbi faydalarının da nedeni olduğu bilinmektedir (Lawson ve Koch 1996; Sivam, 2001).

2.5. Sarımsakta Mikro Çoğaltma

Sarımsak tohumla çoğaltılması çok sınırlı olması nedeniyle yayılışı vegetatif aksamı olan dişlerle olmuştur. Bu da geniş varyasyonların oluşmasını engellemiştir. Ancak gerek anavatanında alınarak farklı ekolojilere götürülen tiplerin farklı olması, uzun yıllar aynı ekolojide yetiştirilmeye bağlı olarak ortaya çıkan mutasyonlar, son yıllarda in vitro tekniklerin kullanılmasıyla oluşan somaklonal varyasyon ve yine son zamanlarda geliştirilen çiçeklenebilen genotipler nedeniyle sınırlı da olsa bir varyasyon söz konusudur. Dünyanın değişik bölgelerinde olduğu gibi Türkiye’de de farklı bölgelerde farklı sarımsak tiplerine rastlamak mümkündür. Örneğin Tunceli sarımsağı, Taşköprü sarımsağı ve Kahramanmaraş sarımsağı olarak bilinen tipler arasında önemli morfolojik farklılıklar mevcuttur. Bu farklılıklar önemli genetik zenginliklerdir ve mutlaka korunması ve geliştirilmesi gerekir. Sarımsak vegetatif olarak dişlerle çoğaltılmaktadır. Bu durumda üreticiler ürettikleri mahsulden kayda değer bir miktarını tohumluk olarak ayırmaktadırlar. Sarımsağın in vitro koşullarda mikro çoğaltımı mümkündür ve bu yöntem önemli avantajlar sağlamaktadır. Sarımsağın mikro çoğaltılmasında bir dişten yüzlerce yeni bitki elde edilebilmektedir (Fereol ve ark., 2002; Martin-Urdiroz ve ark., 2004; Ayabe ve Sumi, 1998).

Sarımsağın mikro çoğaltımıyla ilgili doku kültürü çalışmaları 1970’de başlamıştır. Sarımsakta mikro çoğaltımın amacı az miktarda doku parçaları kullanılarak çok sayıda bitki elde etmektir. Sarımsağın mikro çoğaltımında 2 morfogenetik yöntem

kullanılabilir. Bunlar organogenesis ve somatik embriyogenesistir. Sarımsakta generatif organ oluşması ve gelişmesi çok az genotipte görüldüğü için yaygın bir yöntem değildir. Bu nedenle sarımsağın mikro çoğaltımında organogenesis ağırlıklı olarak kullanılmaktadır.

Organogenesisite ilk çalışmalar Messiaen ve ark., (1970) tarafından sarımsakta meristem kültürü kullanılarak başlatılmıştır. Araştırmacılar Kinetin, IAA ve 2,4 D' nin değişik konsantrasyonlarını kullanarak sarımsakta başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Daha sonra Osawa ve ark., (1981) BA ve NAA'yı kullanarak çoklu sürgün elde etmişlerdir. Robledo-Paz ve ark., (2000) sarımsakta kallus kültürü kullanarak 1 gram kallustan 169 bitki elde etmişler ve bu bitkiler küçük soğanlar oluşturmuşlardır.

Sarımsakta direkt organogenesis veya indirekt organogenesis çalışmaları başarılı sonuçlar vermiştir. Araştırmacılar gövde disklerini parçalayarak, sürgün veya kök ucu ile sürgün veya kök parçaları kullanarak başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Sarımsakta organogenesis çalışmalarında öncelikle kallus oluşumu tercih edilmektedir. Böylece kalluslar parçalanarak çok sayıda sürgün elde edilmektedir. Sarımsakta kallus kültürü çalışmalarında 2,4 D, NAA, BA ve Kinetin başarıyla kullanılabilir. Besin ortamı olarak ise B5 ve MS ortamları tercih edilmektedir (Khan ve ark., 2004; Zhenk ve ark., 2003; Ayabe ve Sumi, 1998; Haque ve ark., 2003).

Sarımsakta virüsten arı bitki elde etmek için meristem kültürü kullanılmaktadır. Dünyanın birçok bölgesinde bu şekilde virüsten arı sarımsak bitkileri elde edilmiştir (Bertacinni ve ark., 1986; Robledo ve Tovar 2012). Meristem kültüründe daha çok meristem dokularının doğrudan bitkiye dönüşümü teşvik edilmektedir. Sarımsakta virüs hastalıklarına karşı alınan tedbir ve mücadeleler başarılı sonuçlar vermemektedir. Bu nedenle meristem kültürü vazgeçilmez bir teknik haline almış ve oldukça başarılı sonuçlar ortaya koymuştur (Ma ve ark., 1994; Verbeek ve ark., 1995; Ebi ve ark., 2000). Araştırmacılar meristem kültüründe daha çok B5 besin ortamını tercih etmektedirler.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma 2017 yılında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yürütülmüştür. Doku kültürü çalışmaları için bölümün doku kültürü laboratuvarı kullanılmıştır.

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Denemede bitkisel materyal olarak Tokat yöresinde yetiştiriciliği yapılan ve Tokat Sarımsağı olarak bilinen sarımsak popülasyonundan geliştirilmiş yerel genotip kullanılmıştır. Yörede Tokat sarımsağı olarak ta bilinen bu genotip morfolojik olarak Taşköprü sarımsağına benzemekle beraber Taşköprü sarımsağından daha kuvvetli gelişebilen, diş sayısı ve diş iriliği homojen bir genotiptir.

3.1.2. Besin ortamları

Çalışmada doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan ortamlardan MS (Murashige ve Skoog, 1962) ve B5 (Gamborg ve ark., 1968) besin ortamları kullanılmıştır. Ortamların bileşimi Çizelge 3.1'de verilmiştir. Besi ortamlarına %3 sakkaroz ve %0.7 agar ilave edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyici olarak 2,4 D ve kinetinin 0, 0.1 ve 1.0 mg.l⁻¹ dozları kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. MS ve B5 besin ortamlarının bileşenleri

| <u>Makro elementler (mg/l)</u> | MS | B5 |
|---|-----------|-----------|
| KNO ₃ | 1 900 | 3 000 |
| NH ₄ NO ₃ | 1 650 | - |
| MgSO ₄ , 7H ₂ O | 370 | 500 |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | - | 134 |
| NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O | - | 150 |
| CaCl ₂ , 2H ₂ O | 440 | 150 |
| KCl | - | - |
| Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O | - | - |
| KH ₂ PO ₄ | 170 | - |
| <u>Mikro elementler (mg/l)</u> | | |
| MnSO ₄ , H ₂ O | 22.3 | 13.2 |
| ZnSO ₄ , 7H ₂ O | 8.6 | 2.0 |
| H ₃ BO ₃ | 6.20 | 3.0 |
| KI | 0.83 | 0.75 |
| Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O | 0.25 | 0.25 |
| CuSO ₄ , 5H ₂ O | 0.025 | 0.025 |
| CoCl ₂ , 6H ₂ O | 0.025 | 0.025 |
| <u>Fe-EDTA</u> | | |
| Na ₂ EDTA. 2H ₂ O (mg/l) | 37.3 | 37.3 |
| FeSO ₄ , 7H ₂ O (mg/l) | 27.8 | 27.8 |
| <u>Vitaminler (mg/l)</u> | | |
| Pyridoxin HCL | 0.5 | 1.0 |
| nicotinamic Acid | 0.5 | 1.0 |
| Thiamine HCL | 0.1 | 10.0 |
| Glycin | 2.0 | - |
| MioInositol | 100.0 | 100.0 |
| Vit B ₁₂ | 0.03 | 0.03 |
| Calcium panthotenat | - | - |
| Biotine | - | - |
| <u>Karbonhidratlar</u> | | |
| Sucrose (mg/l) | 60 000 | 60 000 |
| <u>Büyümevi düzenleviciler</u> | | |
| Kinetin (mg/l) | 1.0 | 1.0 |
| 2,4-D (mg/l) | 1.0 | 1.0 |
| <u>Agar</u> | | |
| Agar-agar (mg/l) | 8 000 | 8 000 |
| pH | 5.8 | 5.8 |

Not: Ortamların bileşiminde kullanılan bütün komponentler karıştırılmış ve 121°C'de 15 dk süreyle 1atm basınçta otoklav edilmiştir.

3.1.3. Kltr aşamasında kullanılan ekipmanlar

Doku kültürü laboratuvarı: Stres ve inkübasyon uygulamaları, dezenfeksiyon, besi ortamı hazırlama ve anter atımı alımaları Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü laboratuvarın da gerçekleştirilmiştir.

İklimlerendirme odası: Anterlerin inkübasyon evrelerini tamamlamalarından dış koşullara aktarıncaya kadarki süreyi geçirmeleri için ışık, sıcaklık ve nem kontrollü iklimlendirme odası kullanılmıştır. İklimlerendirme odasında krom nikel malzemeden imal edilmiş raflar bulunmaktadır ve bu rafların aydınlatılması LED lambalarla sağlanmaktadır.

Growth Chamber(Büyütme Dolabı): Anterleri 10 °C’de bekletmek için sıcaklık nem ve ışık kontrolünü sağlayan 600 lt hacimli Nüve Test Kabini kullanılmıştır.

Floww kabin: Steril ortam çalışmalarının yürütülmesi için TelstarBio II A marka flow kabin kullanılmıştır.

İnkübatör: Anterlerin ekimi yapıldıktan sonra 8 gün boyunca 35 °C’de karanlık koşullarda bekletmede Memmert ‘IPP 400’ inkübatör kullanılmıştır.

Otoklav: Çalışma sırasında kullanılan malzemelerin (Besi ortamı, pens, bstri, erlenmayer, tp vs.) dezenfeksiyonunda nemli hava (basınçla) sterilizasyonu sağlayan ALP CL-3258 L marka 54 lt kapasiteli otoklav kullanılmıştır.

Isıtmalı manyetik karıştırıcı, pH metre ve mikroskop: Besin ortamı hazırlanırken gerekli olan kimyasalların belirli bir sıcaklık ve devirde manyetik alan etkisiyle karıştırılmasını sağlayan karıştırıcı cihaz kullanılmıştır. Besin ortamlarının pH değerlerini ölçmek için pH metre kullanılmıştır. Anterlerin gelişimi ve stoma incelemelerinde mikroskoptan faydalanılmıştır.

Petri: Çalışmada besin ortamları ve anterlerin anter dikimi için steril plastik petri kapları kullanılmıştır. Anterlerin inkübasyonu aşamasında 60 mm'lik petriyerler, anterlerin R1 ve R2 ortamlarına aktarılmasında ise 90 mm'lik steril plastik petriyerler kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Denemede kullanılan mikroskop, manyetik çalkalayıcı ve pH metre



Şekil 3.2. Denemede kullanılan otoklav ve inkübatör



Şekil 3.3. Denemenin yürütüldüğü doku kültürü laboratuvarı, flow kabin ve iklim odası

3.2. Yöntem

3.2.1. Donör bitkilerin yetiştirilmesi

Denemede kök, yaprak ve bazal gövde eksplantları kullanılmıştır. Gölgede kurutulmuş Tokat sarımsağı soğanları tazyikli su altında yıkandıktan sonra kökleri ve dış yaprakları uzaklaştırılarak dişleri ayrılmıştır. Dişler saf su ile 30 dakika yıkandıktan sonra %70 etanol çözeltisinde 5 dk bekletilmiştir. Bu çözelti bir çalkalayıcı üzerine konarak 5 dakika süreyle çalkalanmıştır. Etanol çözeltisinden çıkarılacak dişler 3 kez saf sudan geçirildikten sonra % 0.1 HgCl₂ çözeltisinde 10 dakika çalkalanarak bekletilmiştir. Daha sonra dişler dezenfektandan çıkartılarak 3 kez 5'er dakika steril saf suda durulanmıştır. Dezenfekte edilen ve yıkanan dişler bitki büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamına dikilmiştir. MS besi ortamı %3 sakkaroz ve %0.7 agar ilave edildikten sonra 121 °C sıcaklığa ayarlı otoklavda 30 dk otoklavlanmıştır. Besi ortamı 200 ml hacimli magenta kaplarına her kaba 50 ml olacak şekilde aktarılmıştır. Dezenfekte edilmiş dişler ortama dikilmiştir. Dişler 25±2 °C sıcaklık, 16/8 saat gündüz/gece ve 3000 lux ışık şiddetine sahip ortama aktarılmıştır. Burada 2 hafta içinde yeterli kök ve sürgün oluşturması beklenmiştir. MS ortamında 5-6 cm kök ve sürgün oluşturan bitkilerden eksplantlar alınmıştır.

3.2.2. Eksplantların hazırlanması

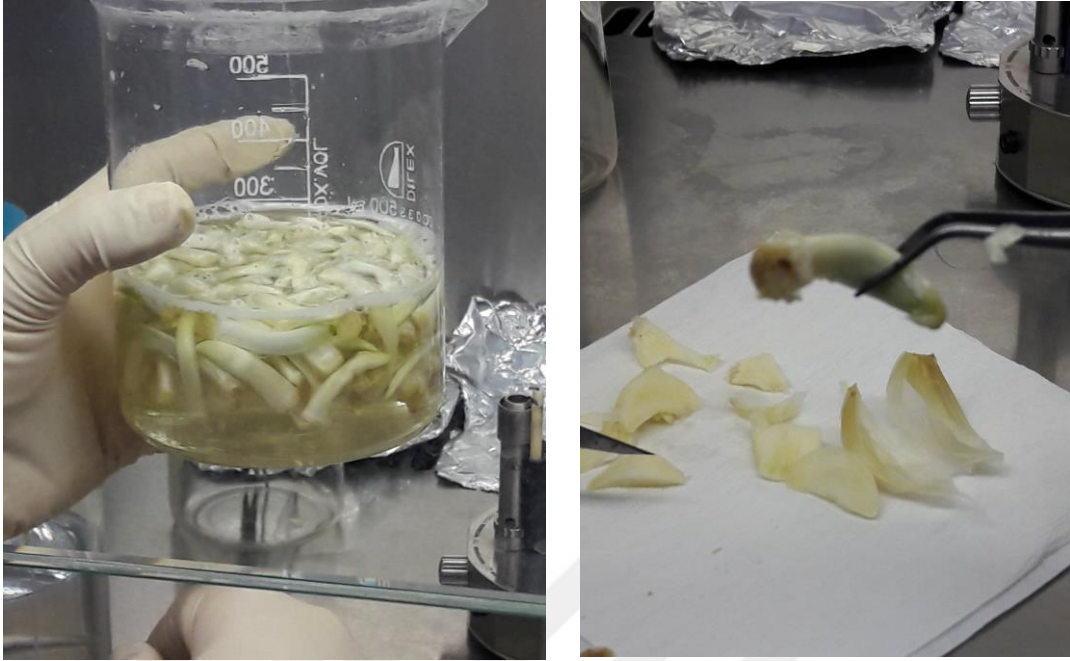
Kök eksplantları hazırlanırken steril flow kabin içinde donör bitkilerin köklerinden 0.5 cm uzunluğunda kök parçaları alınmış ve besi ortamına yatay şekilde yerleştirilmiştir. Yaprak eksplantları hazırlanırken donör bitkilerin sürgünlerinden 0.5 cm uzunluğunda yaprak diskleri alınacak ve dikey şekilde besi ortamına yerleştirilecektir. Basal gövde eksplantlarını hazırlamak için dezenfekte edilen dişlerin kökleri ve yaprak taslakları kesilerek uzaklaştırıldıktan sonra gövde diski 4 veya 5 parçaya ayrılacak ve bu parçalar besi ortamlarına aktarılacaktır.



Şekil 3.4. Yaprak eksplantı almak üzere donör bitkilerin in vitro ortamda yetiştirilmesi.



Şekil 3.5. Kök ucu eksplantı alınan donör bitkilerin in vitro koşullarda yetiştirilmesi



Şekil 3.6. Bazal gövdeden eksplant hazırlama

3.2.3. Besin ortamlarının bileşimi ve hazırlanması

Çalışmada besin ortamı olarak anter kültüründe en çok kullanılan temel besin ortamlarından Dumas de Vault ve Chambonnet (1982) tarafından önerilen DDVX besin ortamı, Murashige ve Skoog (1962) tarafından önerilen MS besin ortamı ve Gamborg ve ark. (1968) tarafından önerilen B5 besin ortamı kullanılmıştır.

Besin ortamları hazırlanırken ortamların katılaştırılmasında % 0.8 Agar-agar kullanılmıştır. Ortama ayrıca % 6 sucrose eklenmiştir. Besin ortamlarının bileşimleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Besin ortamları erlenmayerler içine konulduktan sonra Ph seviyesi 5.8’e ayarlanmış, ağızları alüminyum folye ile kapatılmış ve otoklava yerleştirilmiştir. Ortamlar otoklavda 15 dk boyunca 121°C’de 1 atm basınç altında sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besin ortamları steril kabin içinde petrilere aktarılmıştır. Her petri kabına 10 ml besin ortamı doldurulmuştur. Kabin içinde besin ortamlarının petrilere doldurulması ve anterlerin petrilere yerleştirilmesi süresince kabin içi sık sık % 70’lik etil alkol ile dezenfekte edilmiştir.



Şekil 3.7. Besin ortamlarının hazırlanması

3.2.4. Bitki büyüme düzenleyiciler ve inkübasyon koşulları

Denemede eksplantların aktarılacağı besi ortamları ile kallus dokularının aktarılacağı besi ortamları farklı olacaktır. Eksplantlar için 2,4 D ve kinetinin farklı dozlarını içeren MS ve B5 besi ortamları kullanılmıştır. Kombinasyonlar çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Mikro çoğaltımda kullanılan kinetin ve 2,4-D dozları

| MS | | B5 | |
|-------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 2,4 D 1 (mg.l ⁻¹) | Kinetin 1 (mg.l ⁻¹) | 2,4 D 1 (mg.l ⁻¹) | Kinetin 1 (mg.l ⁻¹) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0.1 | 0 | 0.1 |
| 0 | 1.0 | 0 | 1.0 |
| 0.1 | 0 | 0.1 | 0 |
| 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 0.1 | 1.0 | 0.1 | 1.0 |
| 1.0 | 0 | 1.0 | 0 |
| 1.0 | 0.1 | 1.0 | 0.1 |
| 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| 2.0 | 0 | 2.0 | 0 |
| 2.0 | 0.1 | 2.0 | 0.1 |
| 2.0 | 1.0 | 2.0 | 1.0 |

Eksplantlar besi ortamlarına yerleştirildikten sonra iki farklı iklim ortamına aktarılmıştır. Birinci grup eksplantlar 25±2 °C sıcaklık ve sürekli karanlık koşullarda 15 gün bekletilmiştir. İkinci grup eksplantlar ise 25±2 °C sıcaklık, 16/8 saat gündüz/gece ve 3 000 lux ışık şiddetine sahip ortama aktarılmıştır. Karanlık ortamdaki eksplantlar 15 günün sonunda diğer grupla aynı koşullara aktarılmıştır. Burada yaklaşık 6-8 hafta sonra yeterli düzeyde kallus veya sürgün rejenerasyonunun oluşması beklenmiştir. Sürgün rejenerasyonu gerçekleşen uygulamalarda sürgünler buradan alınarak alt kültüre aktarılmıştır. Alt kültür katkısız MS + %3 sakkaroz + %0.7 agar ortamı ile hazırlanmıştır.

Kallus oluşacak uygulamalarda kalluslar 1 cm çapında parçalara ayrılarak embryo oluşumunu teşvik edecek besi ortamına aktarılmıştır. Bu besi ortamı aşağıdaki gibidir;

Çizelge 3.3. Kallus kültüründe kullanılan 2,4 D ve GA₃ dozları

| MS |
|--|
| 0.1 mg.l ⁻¹ 2,4 D + 0.1 mg.l ⁻¹ GA ₃ |
| 0.1 mg.l ⁻¹ 12,4 D + 1.0 mg.l ⁻¹ GA ₃ |
| 0.5 mg.l ⁻¹ 12,4 D + 0.1 mg.l ⁻¹ GA ₃ |
| 0.5 mg.l ⁻¹ 12,4 D + 1.0 mg.l ⁻¹ GA ₃ |

3.2.5. Gözlemler

Denemede uygulamalara bağlı olarak direkt ve indirekt embriyo ve sürgün oluşum oranları, kallus oluşum oranı, kallustan sürgün ve embriyo oluşum oranı ile bir eksplanttan üretilen bitki sayısı dikkate alınmıştır.



4. BULGULAR

Bitki büyüme düzenleyiciler 2,4-D ve Kinetinin farklı dozlarının birlikte kombinasyonlar şeklinde ilave edilmiş B5 ve MS besin ortamlarında karanlık ve aydınlık ortamlarda sarımsakta yaprak, bazal gövde ve köklerden embriyo ve kallus oluşumunun incelendiği çalışmada sarımsak yapraklarından embriyo ve kallus elde edilememiştir. Yaprak eksplantlarının kullanıldığı çalışmada explantlarda herhangi bir kontaminasyon olmamasına rağmen kallus veya embriyo gelişimi gözlenmemiş, yaklaşık 20 gün beklenmiş ve bu sürenin sonunda yaprak eksplantlarının kurduğu gözlemlenmiştir.

4.1. Bazal Gövdeden Kallus Oluşumu

Bazal gövdeden kallus oluşumu uygulamalara bağlı olarak 10 eksplant için 1.3 ile 6.0 embriyo arasında değişmiştir. En başarılı uygulama 1.0 mg.l⁻¹ 2,4-D ve 1.0 mg.l⁻¹ kinetin ilave edilmiş MS ortamından ve karanlık uygulamasından elde edilmiştir. Denemede bazal gövdenin bütün uygulamalarından kallus elde edilmiştir. Çalışmada bazal gövde kallus oluşturma eğilimi yüksek eksplant olarak belirlenmiştir. Kinetin ve 2,4-D uygulamaları ile kallus oluşumu arasında anlamlı bir ilişki belirlenmemiştir. Uygulamalara bağlı olarak bazal gövdede 10 eksplanttan elde edilen kallus sayıları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Karanlık ortamda kallus oluşumu aydınlık ortama göre daha yüksek olmasına rağmen fark önemli çıkmamıştır. Ancak B5 ortamı daha başarılı olurken B5 ortamı ile MS ortamı arasındaki fark $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli çıkmıştır. Uygulamalara ait ortalama değerler ve önem düzeyleri Çizelge 4.2’de, uygulamaların varyans analizi Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.1. Uygulamalara göre bazal gövdeden kallus oluşumu (10 eksplant)

| 2,4-D | KİNETİN | AYDINLIK | | KARANLIK | |
|-------|---------|----------|------|----------|------|
| | | B5 | MS | B5 | MS |
| 0 | 0 | 4.33 | 1.33 | 4.33 | 2.00 |
| 0 | 0.1 | 5.00 | 5.00 | 4.67 | 3.33 |
| 0 | 1.0 | 4.00 | 3.00 | 4.00 | 2.33 |
| 0.1 | 0 | 5.33 | 5.33 | 5.00 | 5.33 |
| 0.1 | 0.1 | 2.67 | 2.67 | 2.00 | 4.00 |
| 0.1 | 1.0 | 4.67 | 2.67 | 5.00 | 4.33 |
| 1.0 | 0 | 5.00 | 3.33 | 5.00 | 2.67 |
| 1.0 | 0.1 | 3.00 | 4.33 | 5.33 | 4.67 |
| 1.0 | 1.0 | 5.00 | 4.00 | 5.67 | 6.00 |
| 2.0 | 0 | 4.33 | 5.00 | 4.67 | 5.00 |
| 2.0 | 0.1 | 5.00 | 5.00 | 4.67 | 5.00 |
| 2.0 | 1.0 | 5.00 | 4.67 | 4.67 | 3.00 |

Çizelge 4.2. Uygulamalara göre bazal gövdeden kallus oluşum interaksiyonu (10 eksplant)

| 2,4-D | Kinetin | AYDINLIK | KARANLIK | B5 | MS | Ortalama |
|----------|---------|----------|----------|------|------|----------|
| 0 | 0 | 2.83 | 3.17 | 4.33 | 1.67 | 3.00 |
| 0 | 0.1 | 5.00 | 4.00 | 4.83 | 4.17 | 4.50 |
| 0 | 1.0 | 3.50 | 3.17 | 4.00 | 2.67 | 3.34 |
| 0.1 | 0 | 5.33 | 5.17 | 5.17 | 5.33 | 5.25 |
| 0.1 | 0.1 | 2.67 | 3.00 | 2.33 | 3.33 | 2.83 |
| 0.1 | 1.0 | 3.67 | 4.67 | 4.83 | 3.50 | 4.17 |
| 1.0 | 0 | 4.17 | 3.83 | 5.00 | 3.00 | 4.00 |
| 1.0 | 0.1 | 3.67 | 5.00 | 4.17 | 4.50 | 4.34 |
| 1.0 | 1.0 | 4.50 | 5.83 | 5.33 | 5.00 | 5.17 |
| 2.0 | 0 | 4.67 | 4.83 | 4.50 | 5.00 | 4.75 |
| 2.0 | 0.1 | 5.00 | 4.83 | 4.83 | 5.00 | 4.92 |
| 2.0 | 1.0 | 4.83 | 3.83 | 4.83 | 3.83 | 4.33 |
| Ortalama | | 4.15 | 4.23 | 4.51 | 3.92 | |

Çizelge 4.3. Bazal gövdeden kallus oluşumuna ait varyans analizi

| Varyasyon Kaynakları | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | Önem Düzeyi |
|---------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|-------------|
| AYDINLIK | 0.563 | 1 | 0.563 | 0.953 | 0.331 |
| B5MS | 12.84 | 1 | 12.84 | 21.753 | 0 |
| D | 24.021 | 3 | 8.007 | 13.565 | 0 |
| KİN | 0.347 | 2 | 0.174 | 0.294 | 0.746 |
| AYDINLIK * B5MS | 0.007 | 1 | 0.007 | 0.012 | 0.914 |
| AYDINLIK * D | 8.243 | 3 | 2.748 | 4.655 | 0.004 |
| AYDINLIK * KİN | 0.375 | 2 | 0.187 | 0.318 | 0.729 |
| B5MS * D | 13.076 | 3 | 4.359 | 7.384 | 0 |
| B5MS * KİN | 11.681 | 2 | 5.84 | 9.894 | 0 |
| D * KİN | 60.542 | 6 | 10.09 | 17.094 | 0 |
| AYDINLIK * B5MS * D | 4.687 | 3 | 1.562 | 2.647 | 0.053 |
| AYDINLIK * B5MS * KİN | 0.264 | 2 | 0.132 | 0.224 | 0.8 |
| AYDINLIK * D * KİN | 12.069 | 6 | 2.012 | 3.408 | 0.004 |
| B5MS * D * KİN | 15.319 | 6 | 2.553 | 4.325 | 0.001 |
| AYDINLIK * B5MS * D * KİN | 7.625 | 6 | 1.271 | 2.153 | 0.054 |
| Error | 56.667 | 96 | 0.59 | | |

4.2. Bazal Gövdeden Embriyo Oluşumu

Bazal gövdeden embriyo oluşumu uygulamalara göre farklılıklar göstermiştir. Embriyo oluşumu 10 eksplanttan 0.00 ile 10.00 arasında değişmiştir. En yüksek embriyo oluşumu 0,1 mg.l⁻¹ 2,4-D ilave edilmiş B5 ortamından ve aydınlık uygulamasından elde edilirken 2,4-D'nin yüksek konsantrasyonları (1.0 ve 2.0 mg.l⁻¹) embriyo oluşumunu olumsuz yönde etkilemiştir. 2,4-D'nin yüksek dozlarında kinetinin varlığı veya miktarının etkisi olmamıştır. Bunun yanında 2,4-D ve kinetin kombinasyonları ile embriyo oluşumu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Uygulamalara bağlı olarak bazal gövdede 10 eksplanttan elde edilen embriyo sayıları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Karanlık ortamda embriyo oluşumu aydınlık ortama göre daha yüksek çıkmış ve aradaki fark P≤0.001 düzeyinde önemli çıkmıştır. Besin ortamları karşılaştırıldığında ise MS ortamı B5 ortamına göre küçük bir farkla daha yüksek embriyo oluşturmuş ve bu iki

ortam arasındaki fark önemli çıkmamıştır. 2,4-D ve Kinetin uygulamasının embriyo oluşumu üzerine etkisi önemli çıkmış, 2,4-D'nin artan dozları embriyo oluşumunda azalışa neden olmuştur. Uygulamalara ait ortalama değerler ve önem düzeyleri Çizelge 4.5'te, uygulamaların varyans analizi Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.4. Uygulamalara göre bazal gövdeden embriyo oluşumu (10 eksplant)

| 2,4-D | KİNETİN | AYDINLIK | | KARANLIK | |
|-------|---------|----------|------|----------|------|
| | | B5 | MS | B5 | MS |
| 0 | 0 | 4.00 | 9.00 | 4.67 | 8.67 |
| 0 | 0.1 | 5.33 | 0.00 | 3.00 | 4.67 |
| 0 | 1.0 | 1.00 | 4.67 | 1.00 | 7.00 |
| 0.1 | 0 | 10.00 | 6.33 | 4.33 | 6.33 |
| 0.1 | 0.1 | 2.33 | 0.00 | 7.00 | 1.67 |
| 0.1 | 1.0 | 3.00 | 2.67 | 5.00 | 7.00 |
| 1.0 | 0 | 1.33 | 0.33 | 5.67 | 2.00 |
| 1.0 | 0.1 | 0.00 | 1.67 | 3.00 | 0.00 |
| 1.0 | 1.0 | 4.33 | 0.00 | 4.33 | 4.67 |
| 2.0 | 0 | 0.00 | 3.00 | 0.67 | 1.67 |
| 2.0 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 1.0 | 0.00 | 0.00 | 1.00 | 0.67 |

Çizelge 4.5. Uygulamalara göre bazal gövdeden embriyo oluşum interaksyonu (10 eksplant)

| 2,4-D | Kinetin | AYDINLIK | KARANLIK | B5 | MS | Ortalama |
|----------|---------|----------|----------|------|------|----------|
| 0 | 0 | 6.50 | 6.67 | 4.33 | 8.83 | 6.58 |
| 0 | 0.1 | 2.67 | 3.83 | 4.17 | 2.33 | 3.25 |
| 0 | 1.0 | 2.83 | 4.00 | 1.00 | 5.83 | 3.42 |
| 0.1 | 0 | 8.17 | 5.33 | 7.17 | 6.33 | 6.75 |
| 0.1 | 0.1 | 1.17 | 4.33 | 4.67 | 0.83 | 2.75 |
| 0.1 | 1.0 | 2.83 | 6.00 | 4.00 | 4.83 | 4.42 |
| 1.0 | 0 | 0.83 | 3.83 | 3.50 | 1.17 | 2.34 |
| 1.0 | 0.1 | 0.83 | 1.50 | 1.50 | 0.83 | 1.17 |
| 1.0 | 1.0 | 2.17 | 4.50 | 4.33 | 2.33 | 3.33 |
| 2.0 | 0 | 1.50 | 1.17 | 0.33 | 2.33 | 1.33 |
| 2.0 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 1.0 | 0.00 | 0.83 | 0.50 | 0.33 | 0.42 |
| Ortalama | | 2.50 | 3.50 | 2.96 | 3.00 | |

Çizelge 4.6. Bazal gövdeden embriyo oluşumuna ait varyans analizi

| Varyasyon Kaynakları | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | Önem Düzeyi |
|---------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------|-------------|
| AYDINLIK | 36.000 | 1 | 36.000 | 37.565 | 0.000 |
| B5MS | 0.000 | 1 | 0.000 | .000 | 1.000 |
| D | 408.056 | 3 | 136.019 | 141.932 | 0.000 |
| KİN | 153.292 | 2 | 76.646 | 79.978 | 0.000 |
| AYDINLIK * B5MS | 5.444 | 1 | 5.444 | 5.681 | 0.019 |
| AYDINLIK * D | 15.500 | 3 | 5.167 | 5.391 | 0.002 |
| AYDINLIK * KİN | 25.125 | 2 | 12.562 | 13.109 | 0.000 |
| B5MS * D | 103.389 | 3 | 34.463 | 35.961 | 0.000 |
| B5MS * KİN | 45.292 | 2 | 22.646 | 23.630 | 0.000 |
| D * KİN | 80.819 | 6 | 13.470 | 14.056 | 0.000 |
| AYDINLIK * B5MS * D | 24.056 | 3 | 8.019 | 8.367 | 0.000 |
| AYDINLIK * B5MS * KİN | 10.014 | 2 | 5.007 | 5.225 | 0.007 |
| AYDINLIK * D * KİN | 72.208 | 6 | 12.035 | 12.558 | 0.000 |
| B5MS * D * KİN | 85.486 | 6 | 14.248 | 14.867 | 0.000 |
| AYDINLIK * B5MS * D * KİN | 87.319 | 6 | 14.553 | 15.186 | 0.000 |
| Error | 92.000 | 96 | 0.958 | | |

4.3. Kök Ucundan Kallus Oluşumu

Kök ucundan kallus oluşumu bazal gövdeden kallus oluşumuna göre daha düşük gerçekleşmiştir. Çalışmada kök ucundan kallus oluşumu 10 eksplanttan 0.33 ile 5.67 arasında gerçekleşmiştir. Aydınlıkta 2,4-D ilave edilmemiş 0.1 mg.l^{-1} kinetin ilave edilmiş MS ortamında kök ucundan kallus oluşmazken, en yüksek kallus oluşumu aydınlıkta 1.0 mg.l^{-1} 2,4-D ilave edilmiş B5 ortamında gerçekleşmiştir. 2,4-D'nin artan dozları kallus oluşumunu teşvik ederken, kinetinin artan dozları kallus oluşumunda azalmaya neden olmuştur. Uygulamalara bağlı olarak bazal gövdede 10 eksplanttan elde edilen kallus sayıları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Aydınlık ortamda kallus oluşumu karanlık ortama göre daha yüksek çıkmış ve bu iki uygulama arasındaki fark önemli çıkmamıştır. Besin ortamları karşılaştırıldığında kallus oluşumu B5 ortamında daha yüksek gerçekleşmiş ve iki ortam arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemli çıkmıştır. Besin ortamlarına ilave edilen 2,4-D'nin 1.0 mg.l^{-1} 1dozu

en etkili doz olurken, bunu 2.0 mg.l⁻¹ 2,4-D dozu izlemiştir. Çalışmada 2,4-D kallus oluşumunu teşvik ederken kinetinin etkisi olmamıştır. Uygulamalara ait ortalama değerler ve önem düzeyleri Çizelge 4.8’de, uygulamaların varyans analizi Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.7. Uygulamalara göre kök ucundan kallus oluşumu (10 eksplant)

| 2,4-D | KİNETİN | AYDINLIK | | KARANLIK | |
|-------|---------|----------|------|----------|------|
| | | B5 | MS | B5 | MS |
| 0 | 0 | 0.00 | 1.67 | 0.67 | 0.67 |
| 0 | 0.1 | 0.33 | 0.00 | 1.33 | 0.33 |
| 0 | 1.0 | 1.67 | 1.00 | 0.67 | 0.67 |
| 0.1 | 0 | 1.67 | 0.67 | 1.33 | 1.00 |
| 0.1 | 0.1 | 0.33 | 0.33 | 0.67 | 1.00 |
| 0.1 | 1.0 | 1.33 | 1.33 | 0.67 | 1.33 |
| 1.0 | 0 | 5.67 | 2.67 | 5.00 | 2.67 |
| 1.0 | 0.1 | 4.67 | 2.00 | 2.00 | 3.00 |
| 1.0 | 1.0 | 2.67 | 1.00 | 0.33 | 1.67 |
| 2.0 | 0 | 2.67 | 2.33 | 3.67 | 2.00 |
| 2.0 | 0.1 | 3.33 | 3.00 | 2.00 | 2.00 |
| 2.0 | 1.0 | 2.00 | 0.33 | 2.00 | 0.33 |

Çizelge 4.8. Uygulamalara göre kök ucundan kallus oluşum interaksiyonu (10 eksplant)

| 2,4-D | Kinetin | AYDINLIK | KARANLIK | B5 | MS | Ortalama |
|----------|---------|----------|----------|------|------|----------|
| 0 | 0 | 0.83 | 0.67 | 0.33 | 1.17 | 0.75 |
| 0 | 0.1 | 0.17 | 0.83 | 0.83 | 0.17 | 0.50 |
| 0 | 1.0 | 1.33 | 0.67 | 1.17 | 0.83 | 1.00 |
| 0.1 | 0 | 1.17 | 1.17 | 1.50 | 0.83 | 1.17 |
| 0.1 | 0.1 | 0.33 | 0.83 | 0.50 | 0.67 | 0.58 |
| 0.1 | 1.0 | 1.33 | 1.00 | 1.00 | 1.33 | 1.17 |
| 1.0 | 0 | 4.17 | 3.83 | 5.33 | 2.67 | 4.00 |
| 1.0 | 0.1 | 3.33 | 2.50 | 3.33 | 2.50 | 2.92 |
| 1.0 | 1.0 | 1.83 | 1.00 | 1.50 | 1.33 | 1.42 |
| 2.0 | 0 | 2.50 | 2.83 | 3.17 | 2.17 | 2.67 |
| 2.0 | 0.1 | 3.17 | 2.00 | 2.67 | 2.50 | 2.58 |
| 2.0 | 1.0 | 1.17 | 1.17 | 2.00 | 0.33 | 1.17 |
| Ortalama | | 1.78 | 1.54 | 1.94 | 1.38 | |

Çizelge 4.9. Kök ucundan kallus oluşumuna ait varyans analizi

| Varyasyon Kaynakları | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | Önem Düzeyi |
|---------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|-------------|
| AYDINLIK | 2.007 | 1 | 2.007 | 2.109 | 0.150 |
| B5MS | 11.674 | 1 | 11.674 | 12.270 | 0.001 |
| D | 100.076 | 3 | 33.359 | 35.063 | 0.000 |
| KİN | 22.056 | 2 | 11.028 | 11.591 | 0.000 |
| AYDINLIK * B5MS | 2.507 | 1 | 2.507 | 2.635 | 0.108 |
| AYDINLIK * D | 2.743 | 3 | 0.914 | 0.961 | 0.414 |
| AYDINLIK * KİN | 1.056 | 2 | 0.528 | 0.555 | 0.576 |
| B5MS * D | 9.854 | 3 | 3.285 | 3.453 | 0.020 |
| B5MS * KİN | 1.722 | 2 | 0.861 | 0.905 | 0.408 |
| D * KİN | 39.611 | 6 | 6.602 | 6.939 | 0.000 |
| AYDINLIK * B5MS * D | 12.576 | 3 | 4.192 | 4.406 | 0.006 |
| AYDINLIK * B5MS * KİN | 4.056 | 2 | 2.028 | 2.131 | 0.124 |
| AYDINLIK * D * KİN | 6.944 | 6 | 1.157 | 1.217 | 0.305 |
| B5MS * D * KİN | 17.167 | 6 | 2.861 | 3.007 | 0.010 |
| AYDINLIK * B5MS * D * KİN | 2.944 | 6 | 0.491 | 0.516 | 0.795 |
| Error | 91.333 | 96 | 0.951 | | |

4.4. Kök Ucundan Embriyo Oluşumu

Kök ucundan embriyo oluşumu bazal gövdeye göre oldukça düşük düzeyde kalmıştır. Denemede 48 uygulamanın 35'inden embriyo elde edilememiştir. Embriyo elde edilen uygulamalarda ise embriyo sayısı 10 eksplantta 2.00'ı geçmemiştir. Çalışmada direk embriyogenesis için kök ucunun uygun eksplant olmadığı anlaşılmıştır. 2,4-D embriyo oluşumunu olumsuz etkilerken kinetinin 1.0 mg.l⁻¹ dozu en etkili doz olmuştur. Uygulamalara bağlı olarak bazal gövdede 10 eksplanttan elde edilen kallus sayıları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Eksplantların aydınlık yada karanlık koşullarda bekletilmesinin embriyo oluşumuna etkisi olmamıştır. Ancak besin ortamlarının etkisi önemli çıkmıştır (P≤0.01). B5 ortamında kök ucundan embriyo oluşumu MS ortamına göre daha yüksek çıkmıştır. 2,4-D'nin 1.0 ve 2.0 mg.l⁻¹ dozlarında embriyo elde edilemezken, 2,4-D'nin kullanılmadığı veya 0.1 mg.l⁻¹ dozunda embriyo oluşurken, embriyo oluşumu kinetine bağlı olarak

değişmiştir. Uygulamalara ait ortalama değerler ve önem düzeyleri Çizelge 4.11’de, uygulamaların varyans analizi Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Uygulamalara göre kök ucundan embriyo oluşumu (10 eksplant)

| 2,4-D | KİNETİN | AYDINLIK | | KARANLIK | |
|-------|---------|----------|------|----------|------|
| | | B5 | MS | B5 | MS |
| 0 | 0 | 0.00 | 0.67 | 1.33 | 0.67 |
| 0 | 0.1 | 0.33 | 0.00 | 2.00 | 0.33 |
| 0 | 1.0 | 1.33 | 1.00 | 1.00 | 0.00 |
| 0.1 | 0 | 1.33 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.1 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.1 | 1.0 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.00 |
| 1.0 | 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 1.0 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 1.0 | 1.0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 1.0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

Çizelge 4.11. Uygulamalara göre kök ucundan embriyo oluşum interaksiyonu (10 eksplant)

| 2,4-D | Kinetin | AYDINLIK | KARANLIK | B5 | MS | Ortalama |
|----------|---------|----------|----------|------|------|----------|
| 0 | 0 | 0.33 | 1.00 | 0.67 | 0.67 | 0.67 |
| 0 | 0.1 | 0.17 | 1.17 | 1.17 | 0.17 | 0.67 |
| 0 | 1.0 | 1.17 | 0.50 | 1.17 | 0.50 | 0.84 |
| 0.1 | 0 | 0.67 | 0.00 | 0.67 | 0.00 | 0.34 |
| 0.1 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 0.1 | 1.0 | 0.33 | 0.17 | 0.33 | 0.17 | 0.25 |
| 1.0 | 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 1.0 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 1.0 | 1.0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 0.1 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 2.0 | 1.0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Ortalama | | 0.22 | 0.24 | 0.33 | 0.13 | |

Çizelge 4.12. Kök ucundan embriyo oluşumuna ait varyans analizi

| Varyasyon Kaynakları | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | Önem Düzeyi |
|---------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|-------------|
| AYDINLIK | 0.007 | 1 | 0.007 | .040 | 0.842 |
| B5MS | 1.563 | 1 | 1.563 | 9.000 | 0.003 |
| D | 12.576 | 3 | 4.192 | 24.147 | 0.000 |
| KİN | 0.292 | 2 | 0.146 | .840 | 0.435 |
| AYDINLIK * B5MS | 0.340 | 1 | 0.340 | 1.960 | 0.165 |
| AYDINLIK * D | 1.687 | 3 | 0.562 | 3.240 | 0.025 |
| AYDINLIK * KİN | 1.264 | 2 | 0.632 | 3.640 | 0.030 |
| B5MS * D | 1.910 | 3 | 0.637 | 3.667 | 0.015 |
| B5MS * KİN | 0.042 | 2 | 0.021 | .120 | 0.887 |
| D * KİN | 0.653 | 6 | 0.109 | .627 | 0.709 |
| AYDINLIK * B5MS * D | 2.688 | 3 | 0.896 | 5.160 | 0.002 |
| AYDINLIK * B5MS * KİN | 0.181 | 2 | 0.090 | .520 | 0.596 |
| AYDINLIK * D * KİN | 4.125 | 6 | 0.688 | 3.960 | 0.001 |
| B5MS * D * KİN | 2.236 | 6 | 0.373 | 2.147 | 0.055 |
| AYDINLIK * B5MS * D * KİN | 1.208 | 6 | 0.201 | 1.160 | 0.334 |
| Error | 16.667 | 96 | 0.174 | | |

4.5. Kallustan Embriyo Oluşumu

Bazal gövde ve kök eksplantlarından gelişen kallus dokuları kültüre alındıktan sonra embriyo oluşumları izlenmiş ve uygulamalara bağlı olarak embriyo oluşumunda önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bazal gövdeden gelişen kallusların 0.1 mg.l^{-1} 2,4-D ve 1.0 mg.l^{-1} GA_3 ortamında kültüre alınması embriyo oluşumunu maksimum düzeye çıkarmıştır (90.40 embriyo/kallus). Bazal gövdeden gelen kallusların embriyo oluşturma eğilimi kök eksplantlarına göre daha yüksek çıkmıştır. Bitki büyüme düzenleyicilerin embriyo oluşumuna etkisi önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). 2,4-D'nin 0.1 mg.l^{-1} dozu 0.5 mg.l^{-1} dozuna göre oldukça yüksek etki gösterirken, GA_3 uygulamasında 0.5 mg.l^{-1} daha etkili doz olmuştur. Uygulamalara göre embriyo oluşum sayıları çizelge 4. 13'te, embriyo oluşumuna ait varyans analiz tablosu çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Uygulamalara göre embriyo sayıları (Embriyo/kallus)

| 2,4-D (mg.l ⁻¹) | GA ₃ (mg.l ⁻¹) | Bazal Gövde | Kök | Ortalamalar | | | |
|--------------------------------|--|----------------|---------|-------------|---------|-----------------|---------|
| | | | | 2,4-D | | GA ₃ | |
| 0.1 | 0.1 | 33.07 | 52.40 | 0.1 | 52.93 a | 0.1 | 25.53 b |
| 0.1 | 1.0 | 90.40 | 35.87 | 0.5 | 4.57 b | 1.0 | 31.97 a |
| 0.5 | 0.1 | 6.67 | 10.00 | | | | |
| 0.5 | 1.0 | 1.20 | 0.40 | | | | |
| Ortalama | | 32.83 a | 24.67 b | | | | |

Çizelge 4.14. Embriyo oluşumuna ait varyans analiz tablosu

| Varyasyon Kaynakları | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | Önem Düzeyi |
|------------------------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|-----------|----------------|
| Eksplant | 400.167 | 1 | 400.167 | 51.435 | 0.000 |
| 2,4-D | 14 036.007 | 1 | 14 036.007 | 1 804.114 | 0.000 |
| GA ₃ | 248.327 | 1 | 248.327 | 31.919 | 0.000 |
| Eksplant * 2,4-D | 533.927 | 1 | 533.927 | 68.628 | 0.000 |
| Eksplant * GA ₃ | 2 281.500 | 1 | 2 281.500 | 293.252 | 0.000 |
| 2,4-D * GA ₃ | 1 170.407 | 1 | 1 170.407 | 150.438 | 0.000 |
| Eksplant * 2,4-D * GA ₃ | 1 823.527 | 1 | 1 823.527 | 234.386 | 0.000 |
| Hata | 124.480 | 16 | 7.780 | | |

4.6. Kallustan Bitki Oluşumu

Kallustan elde edilen bitki sayıları uygulamalara göre 0.40 ile 31.60 adet arasında değişmiştir. Kallogenesis uygulamalarında elde edilen bitki sayıları uygulamalara göre farklılıklar oluşturmuştur. 2,4-D ve GA₃ uygulamalarının yüksek dozları embriyo ve dolayısıyla bitki oluşumunda düşük etki gösterirken, özellikle 2,4-D'nin yüksek konsantrasyonu en etkisiz uygulama olmuştur. Denemede en yüksek bitki sayısı bir kallustan 31.60 bitki olurken, bazal gövde 0.1 mg.l⁻¹ 2,4-D + 1.0 mg.l⁻¹ GA₃ en etkili uygulama olmuştur. Bazal gövde orijinli kallustan daha yüksek bitki elde edilmiştir. Eksplantlar arasındaki farklar önemli çıkmıştır (P≤0.05). Çalışmada GA₃ dozları arasındaki farklılık önemli çıkmazken, 2,4-D dozları arasındaki fark önemli

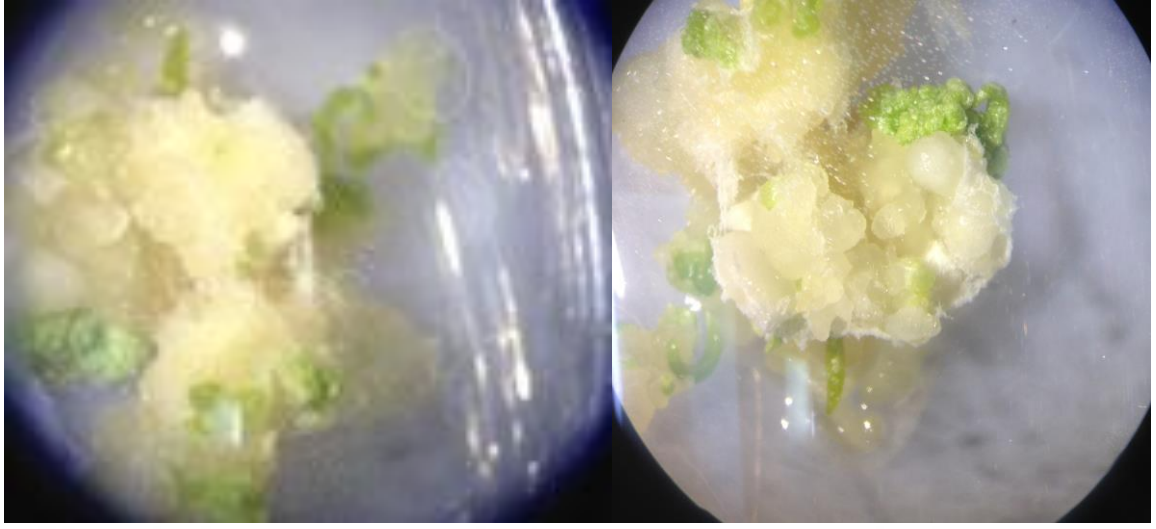
bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Uygulamalara göre bitki oluşum sayıları çizelge 4. 15'te, bitki oluşumuna ait varyans analiz tablosu çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.15. Uygulamalara göre bitki sayıları (Bitki/kallus)

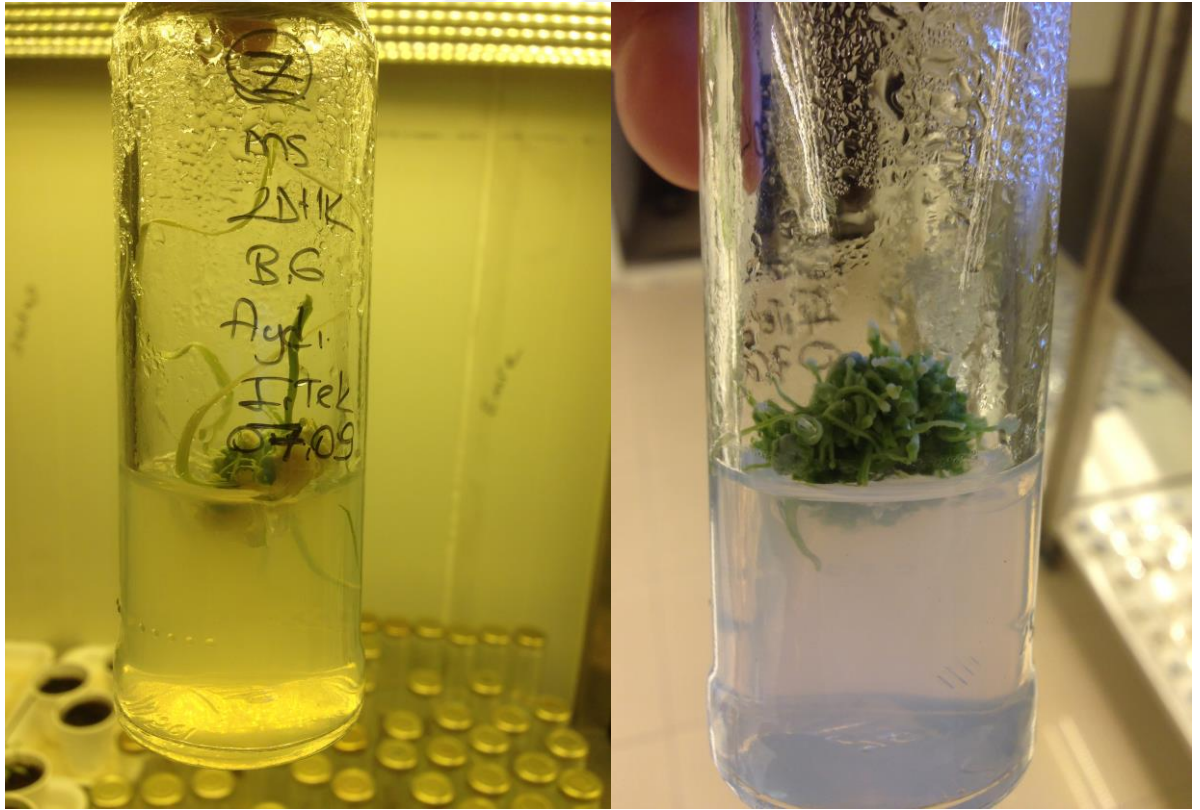
| 2,4-D (mg.l ⁻¹) | GA ₃ (mg.l ⁻¹) | Bazal Gövde | Kök | Ortalamalar | | | |
|--------------------------------|--|----------------|---------|-------------|---------|-----------------|-------|
| | | | | 2,4-D | | GA ₃ | |
| 0.1 | 0.1 | 14.40 | 21.60 | 0.1 | 20.37 a | 0.1 | 11.13 |
| 0.1 | 1.0 | 31.60 | 13.87 | 0.5 | 2.43 b | 1.0 | 11.67 |
| 0.5 | 0.1 | 4.27 | 4.27 | | | | |
| 0.5 | 1.0 | 0.80 | 0.40 | | | | |
| Ortalama | | 12.77 a | 10.03 b | | | | |

Çizelge 4.16. Bitki oluşumuna ait varyans analiz tablosu

| Varyasyon Kaynakları | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | Önem Düzeyi |
|------------------------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|---------|----------------|
| Eksplant | 44.827 | 1 | 44.827 | 5.646 | 0.030 |
| 2,4-D | 1 929.627 | 1 | 1 929.627 | 243.026 | 0.000 |
| GA ₃ | 1.707 | 1 | 1.707 | .215 | 0.649 |
| Eksplant * 2,4-D | 38.507 | 1 | 38.507 | 4.850 | 0.043 |
| Eksplant * GA ₃ | 240.667 | 1 | 240.667 | 30.311 | 0.000 |
| 2,4-D * GA ₃ | 105.840 | 1 | 105.840 | 13.330 | 0.002 |
| Eksplant * 2,4-D * GA ₃ | 225.707 | 1 | 225.707 | 28.427 | 0.000 |
| Hata | 127.040 | 16 | 7.940 | | |



Şekil 4.1. MS besin ortamında kültüre alınmış ve gelişmekte olan kallus dokuları



Şekil 4.2. a) Bazal gövdeden embriyo oluşumu, b) Kallustan embriyo gelişimi



Şekil 4.3. Kallus dokusundan embriyo gelişimi



Şekil 4.4. Embriyodan gelişen küçük bitkicikler

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tokat yöresinde yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan yerel sarımsak genotipinin mikroçoğaltım olanaklarının araştırıldığı çalışmada eksplant olarak yaprak diskleri, bazal gövde ve kök parçaları kullanılmış, yaprak disklerinden embriyo veya kallus elde edilememiştir. Çalışmada bazal gövde ve kök eksplantlarından yanıt alınmıştır.

Eksplantların karanlıkta bekletilmesi bazal gövdeden kallus gelişmesine etkisi olmazken, bazal gövdeden embriyo oluşumuna önemli etki etmiştir. Kök eksplantlarında ise karanlık uygulaması embriyo veya kallus oluşumuna etki etmemiştir. B5 ve MS besin ortamlarının etkisi incelendiğinde bazal gövdeden kallus oluşumunda B5 ortamı daha etkili olurken, bazal gövdeden embriyo oluşumunda besin ortamları arasında fark görülmemiştir. Kök eksplantlarından kallus ve direk embriyo oluşumunda B5 ortamı daha etkili olmuştur.

Bazal gövdeden kallus oluşumunda 2,4-D'nin kinetine göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. 2,4-D ile bazal gövdeden kallus oluşumu arasında linear bir ilişki belirlenmiş, 2,4-D'nin konsantrasyonu arttıkça kallus oluşumu artmıştır. Kinetin ile bazal gövdeden kallus oluşumu arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Çalışmada 2,4-D kullanılması bazal gövdeden embriyo oluşumunu artırmıştır. 2,4-D konsantrasyonu arttıkça bazal gövdeden embriyo oluşumunda azalış olurken, kinetinin embriyo oluşumuna etkisi olmamıştır. Kinetin kullanılmayan ortamlarda embriyo oluşumu daha yüksek bulunmuştur.

Kök eksplantlarından kallus oluşumunda 2,4-D pozitif etki etmiş, artan 2,4-D konsantrasyonu kallus oluşumunu artırmıştır. Kök eksplantlarından kallus oluşumuna kinetinin etkisi olmamıştır. Denemede en başarısız uygulama kök eksplantlarından embriyo gelişiminde elde edilmiştir. Genelde kök eksplantlarından direk embriyo gelişimi başarısız olurken, 2,4-D ve kinetinin uygulamasının da etkisi olmamıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında yerel sarımsak genotipinde indirek embriyogenesis denenmiş, ilk çalışmada bazal gövde ve kök eksplantlarından elde edilen kallus

dokularına 2,4-D ve GA₃'ün farklı dozları uygulanarak embriyo ve bitki oluşumu incelenmiştir. Bazal gövdeden alınan kallus dokularında embriyo gelişimi daha yüksek olurken, 2,4-D'nin 0.1 mg.l⁻¹ konsantrasyonu ve GA₃'ün 1.0 mg.l⁻¹ dozu kallustan embriyo oluşumunda daha etkili olmuştur. Buna göre denemede 2,4-D'nin düşük konsantrasyonu, GA₃'ün yüksek konsantrasyonu daha etkili olmuştur. Kallus dokularından gelişen embriyoların bitkiye dönüşümünde bazal gövde kökenli kallus dokusu daha başarılı olmuştur. Bitkiye dönüşümde 2,4-D'nin 0.1 mg.l⁻¹ konsantrasyonu daha başarılı olurken, GA₃'ün etkisi olmamıştır.

MS besin ortamında 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarını kullanan Salam ve ark. (2008), yaprak disklerinden en yüksek kallus oluşumunu sırasıyla 1.0 ve 0.5 mg.l⁻¹ konsantrasyonlarından elde etmişlerdir. Majumdar ve Cynthia (2018) sarımsakta farklı oksin ve sitokininlerin bazal gövde disklerinden kallus oluşumuna etkisini araştırmışlar, 2,4-D'nin en etkili bitki büyüme düzenleyici olduğunu, aynı zamanda 2,4-D'nin kinetin ile birlikte kullanılmasının da başarılı sonuçlar verdiğini belirtmektedirler. Farklı bitki büyüme düzenleyicilerin sarımsakta kök ucundan kallus ve sürgün rejenerasyonunu araştıran Barandiaran ve ark. (1999), 2,4-D'nin düşük konsantrasyonlarının kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonunu artırdığını belirtmektedirler.

Sarımsak dişlerinden direk embriyo elde eden Sata ve ark. (2000), bitki büyüme düzenleyicisi olarak 1.0 mg.l⁻¹ 2,4-D ve 0.5 mg.l⁻¹ kinetin kombinasyonunun en etkili uygulama olduğunu belirlemişlerdir. Sarımsakta mikro çoğaltım tekniğini kullanarak patojenden arı bitki elde etmeyi amaçlayan Gull ve ark. (2014), sürgün meristemi eksplant olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar bitki büyüme düzenleyici olarak 6-Benzylaminopurine, Kinetin, α -Naphthaleneacetic acid, Indole-3-acetic acid, Indole-3-butyric acid kullandıkları çalışmada sürgün oluşumunda en iyi uygulamanın 1.5 mg.l⁻¹ kinetin olduğunu belirtmektedirler.

Sarımsakta mikroçoğaltım tekniği ile vegetatif çoğaltma yöntemine göre daha başarılı çoğaltma yapılabildiği Sata ve ark. (1993), Nagakubo ve ark. (1993) ve Dixit ve ark. (2013) tarafından da belirtilmektedir. Denemede direk ve indirek embriyogenesis üzerine eksplant tipi, besin ortamı ve büyüme düzenleyicilerin etkilerinin farklı olduğu

ve bu farkların önemli olduğu belirlenmiştir. Sarımsakta mikroçoğaltma üzerine eksplant tipi ve bitki büyüme düzenleyicilerin etkili olduğu Luciani ve ark. (2006) tarafından da vurgulanmaktadır. Denemede kök ucu ve bazal gövde direk ve indirek mikroçoğaltıma olumlu yanıt vermiştir. Robledo-Paz ve ark. (2000) sarımsakta kök ucundan, Roksana ve ark. (2002) ise bazal gövdeden kallus ve yeni bitki elde edilebildiğini belirtmektedirler.

Sonuç olarak, sarımsakta vegetatif yolla yapılan çoğaltmalarda diř sayısı kadar bitki elde edilebilirken, yürütölen deneme göstermiştir ki, mikro çoğaltım tekniği uygulandığı zaman vegetatif çoğaltmaya göre çok daha fazla sayıda bitki elde edilmesi mümkündür. Mikro çoğaltmada asıl önemli olan hangi eksplant kaynağının kullanılacağı ve költür koşullarının etkili sečilmesidir.

6. KAYNAKLAR

- Abdullah, T.H., Kirkpatrick, D.V. ve Carter, J., 1989. Enhancement of natural killer cell activity in AIDS with garlic. *Deutsche Zeitschrift Onkol*, 21, 52-53.
- Abu-Lafi, S. ve Dembicki, J.W., Goldschlag, P., Hanus, L.O. ve Dembitsky, V.M., 2004. The use of the cryogenic GC/MS and on-column injection for study of organosulfur compounds of the *Allium sativum*. *Journal of Food Com. and Analysis*, 17, 235-245.
- Anonim, 1995. Nature's Amazing Nutritional Medicinal Wonder Food Woodland Publishing, Inc., P.O. Box 160, Pleasant Grove, UT 84062. www.nutraceutical.com/educate/pdf/garlic.pdf
- Anonim. 1988. Besinlerin Bileşimleri. Türkiye Diyetisyenler Derneği, Yayın No: 1, 16-18 s., Ankara.
- Ayabe, M. ve Sumi, S., 1998. Establishment of a novel tissue culture method, stem-disc culture, and its practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Cell Reports*, 17(10), 773-779.
- Barandiaran, X., Martín, N., Rodríguez-Conde, M. F., Di Pietro, A. ve Martín, J., 1999. An efficient method for callus culture and shoot regeneration of garlic (*Allium sativum* L.). *HortScience*, 34(2), 348-349.
- Başer, H. C., Koyuncu, M. ve Koşar. M., 1993. Türkiye'de yetişen bazı *Allium* türlerinin (sect. *Allium*) kükürlü bileşikleri yönünden incelenmesi. TBAK 1066 (Yayınlanmamış TÜBİTAK projesi sonuç raporu), 82 s., Eskişehir
- Bertacinni, A., Marani, F. ve Borgia, M., 1986. Shoot tip culture of different garlic lines for virus elimination. *Rivista-della Ortoflorofrutticoltura*. 70, 97-105.
- Berthold, H. K., Sudhop, T. ve Bergmann, K., 1998. Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism: a randomized controlled trial. *JAMA*, 279 (23): 1900-1902.
- Bongiorno, P. B., Fratellone, P. M. ve LoGiudice, P., 2008. Potential health benefits of garlic (*Allium sativum*): a narrative review. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1).
- Borek, C., 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *The Journal of nutrition*, 131(3), 1010-1015.
- Brewster, J.L., 1994. Onions and Other Vegetable Alliums. *Crop Production Science in Horticulture*. CAB International, 236 pp. Cambridge.
- Butt, M. S., Sultan, M. T., Butt, M. S. ve Iqbal, J., 2009. Garlic: nature's protection against physiological threats. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(6), 538-551.
- Cellini, L., Di Campli, E., Masulli, M., Di Bartolomeo, S. ve Allocati, N., 1996. Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum* L.). *FEMS Immunol Med Microbiol*, 13, 273-277.
- Deshpande, R.G., Khan, D.A. ve Navalkar, R.G., 1993. Inhibition of *Mycobacterium avium* complex isolates from AIDS patients by garlic. *J. Antimicrobial Chemotherapy*, 32, 623-626.
- Devis, P. H., 1984. *Flora of Turkey and the East Aegean Island*. Vol. 8. Edinburg.
- Dixit, V., Rai, S. P. ve Chaudary, B. R., 2013. *Allium sativum*: Four-step approach to efficient micropropagation. *Int. J. Innov. Biol. Res*, 2(1), 6-14.

- Ebi, M., Kasai, N. ve Masuda, K., 2000. Small inflorescence bulbils are best for micropropagation and virus elimination in garlic. *HortScience*, 35(4), 735-737.
- El-Mofty, M.M., 1994. Preventive action of garlic on aflatoxin B1-induced carcinogenesis in the toad *Bufo regularis*. *Nutr. Cancer*, 21(1), 95-100.
- Etoh, T., 1986. Fertility of the garlic clones collected in Soviet Central Asia. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 55(3), 312-319.
- Etoh, T., Simon, P. W., Rabinowitch, H. D. ve Currah, L., 2002. Diversity, fertility and seed production of garlic. *Allium crop science: recent advances*, 101-117.
- FAOSTAT, 2019. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>
- F  r  ol, L., Chovelon, V., Causse, S., Michaux-Ferriere, N. ve Kahane, R., 2002. Evidence of a somatic embryogenesis process for plant regeneration in garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Cell Reports*, 21(3), 197-203.
- Fleischauer, A. T., Poole, C. ve Arab, L., 2000. Garlic consumption and cancer prevention: meta-analyses of colorectal and stomach cancers. *Am J Clin Nutr*, 72, 1047-1052.
- Gamborg, O.L., Miller, R.A. ve Ojima, K., 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res* 50:151-158
- Ghazanfari, T., Hassan, Z. M. ve Khamesipour, A., 2006. Enhancement of peritoneal macrophage phagocytic activity against *Leishmania major* by garlic (*Allium Sativum*) treatment. *J Ethnopharmacol*, 103: 333-337.
- Gull, I., Asma, N., Shahbaz, A. ve Amin, A., 2014. Comparative effect of different phytohormones on the micropropagation of *Allium sativum*. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol*, 47(1-2), 121-124.
- Günay, A. ve ark., 1993, Kastamonu'da Sarımsak   retimi ve Pazarlanmasının Geliştirme   zerine Bir Araştırma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara, s.62-63.
- Günay, A., 1992,   zel Sebze Yetiştiriciliği, Cilt II, Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları, No:1, Ankara.
- Haque, M. S., Wada, T. ve Hattori, K., 2003. Shoot regeneration and bulblets formation from shoot and root meristem of Garlic Cv Bangladesh local. *Asian J. Plant Sci*, 2(1), 23-27.
- Haris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S. ve Lloyd, D., 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 282-286.
- Ip, C., Lisk, D.J. ve Stoewsand, G.S., 1992. Mammary cancer prevention by regular garlic and selenium-enriched garlic. *Nutrition and Cancer* 17, 279-286.
- İbret,   ., 2005. Türkiye'deki sarımsak tarımı ve Taşk  pr   sarımsağı üzerine coğrafi aıdan bir inceleme (A Geographical Study On Garlic Agriculture And Taşk  pr   Garlic In Turkey). *Marmara Coğrafya Dergisi*. 12.
- Kahn, G., 1996. History of garlic. Koch, H. P. Lawson, L. D. eds. *Garlic: The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*:25-36 Williams and Wilkins New York, NY.
- Kazakova, A.A. ve Starokozhev, S.I., 1973. The Keeping Quality of Garlic Cultivars in Relation to Their Origin. *Trudy Po Prikladnoi Botanike, Genetike Seletsii*. 49(2), 156-161
- Khan, N., Alam, M. S., ve Nath, U. K., 2004. In vitro regeneration of garlic through callus culture. *Journal of Biological Sciences*, 4(2), 189-191.
- Koch, M., Tanami, Z., ve Salomon, R., 1995. Improved regeneration of shoots from garlic callus. *HortScience*, 30(2), 186-193.

- Lawson, L. D., 1998. Garlic: A review of its medicinal effects and indicated active compounds. In: *Phytomedicines of Europe. Chemistry and Biological Activity*. ACS Symposium Series 691 (Lawson, L. D. and Bauer, R., eds.), pp. 176–209. American Chemical Society, Washington, DC.
- Lawson, L.D. ve Koch, H.P., 1996. *Garlic. The science and therapeutic application of Allium sativum and related species*. 2nd ed. Williams and Wilkins. Baltimore. USA. 329pp.
- Lemar, K. M., Passa, O., Aon, M. A., Cortassa, S., Müller, C. T., Plummer, S., O'Rourke, B. ve Lloyd, D., 2005. Allyl alcohol and garlic (*Allium sativum*) extract produce oxidative stress in *Candida albicans*. *Microbiol*, 151: 3257-3265.
- Luciani, G. F., Mary, A. K., Pellegrini, C. ve Curvetto, N. R., 2006. Effects of explants and growth regulators in garlic callus formation and plant regeneration. *Plant cell, tissue and organ culture*, 87(2), 139-143.
- Ma, Y., Wang, H. L., Zhang, C. J. ve Kang, Y. Q., 1994. High rate of virus-free plantlet regeneration via garlic scape-tip culture. *Plant cell reports*, 14(1), 65-68.
- Majumdar, R. S. ve Cynthia, M. N., 2018. Quick and Efficient Method for Callus culture from stem disc tissue of Garlic (*Allium sativum* L.). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11(5), 1917-1922.
- Martín-Urdíroz, N., Garrido-Gala, J., Martín, J. ve Barandiaran, X., 2004. Effect of light on the organogenic ability of garlic roots using a one-step in vitro system. *Plant cell reports*, 22(10), 721-724.
- Messiaen, C. M., Marrov, J., Quiot, J. B., Leclant, F. ve Leroux, J. P., 1970. Etude dans le Sud-est de la France d' un Schéma de Sélection Sanitaire de l' ail et de l' échalote. *Comptes Rendus de la 7 Conf. de Pathologie des Plantes*. pp. 101-103. C.N.R.A. Montfavet, France.
- Murashige, T. ve Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Nagakubo, T., Nagasawa, A. ve Ohkawa, H., 1993. Micropropagation of garlic through in vitro bulblet formation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 32(2), 175-183.
- Nagasawa, A., ve Finer, J. J., 1988. Development of Morphogenic Suspension Cultures of Garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* 15, 183-187.
- Osawa, K., Kuriyama, T., ve Sugawara, Y., 1981. Clonal Multiplication of Vegetatively Propagated Crops Through Tissue Culture. I. Effective Balance of Auxin and Cytokinin in the Medium and Suitable Explants Part for Mass Propagation of
- Pittler, M. H., ve Ernst, E., 2007. Clinical effectiveness of garlic (*Allium sativum*). *Molecular nutrition and food research*, 51(11), 1382-1385.
- Rabinowich, H.D. ve Brewster, J.L., 1990. *Onion and Allied crops. Vol I. botany, physiology, and genetics*, 273, CRC press. Boca Raton, Florida.
- Rayman, M. P., 2012. Selenium and human health. *The Lancet*, 379(9822), 1256-1268.
- Reza, M. S. H., Islam, S. ve Rahman, S. M. M., 2008. "Callus induction and regeneration of indigenous garlic (*Allium sativum* L.)." *American Journal of Plant Physiology* 3.1, 33-39.
- Robledo, A., ve Tovar, H., 2012. Biotechnological tools for garlic propagation and improvement. *Innovation in Biotechnology*, 31-56.
- Robledo-Paz, A., Villalobos-Arámbula, V. M. ve Jofre-Garfias, A. E., 2000. Efficient plant regeneration of garlic (*Allium sativum* L.) by root-tip culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 36(5), 416-419.

- Robledo-Paz, A., Villalobos-Armbula, V. M., ve Jofre-Garfias, A. E., 2000. Efficient Plant Regeneration of Garlic (*Allium sativum* L.) by Root Tip Culture. In Vitro Cell Dev. Biol.- Plant. 36, 416-419.
- Roksana, R., Alam, M. F., Islam, R. ve Hossain, M. M., 2002. In vitro bulblet formation from shoot apex in garlic (*Allium sativum* L.). Plant Tissue Cult, 12(1), 11-17.
- Rubatzky, V. E. ve Yamaguchi, M., 1997. World vegetables Principles, production, and nutritive values. Fruits, 5(51), 381.
- Sata, S. J., Bagatharia, S. B. ve Thaker, V. S., 2000. Induction of direct somatic embryogenesis in garlic (*Allium sativum*). Methods in cell science, 22(4), 299-304.
- Sivam, G. P., 2001. Protection against Helicobacter pylori and other bacterial infection by garlic. Am. Society for Nutr. Scien., 131, 1106-1108.
- Şalk, A., Arın, L., Deveci, M. ve Polat, S., 2008. zel Sebzeçilik. ISBN.978-9944-0786-0- 3. İstanbul. 488 s.
- Takagi, H., 1990. Garlic (*Allium Sativum* L.). In: Rabinowitch, H.O. and Brewster, J.L. (eds.) Onion and Allied Crops Vol. 3 . CRC Press. Boca Raton, Florida, pp. 109-146.
- TİİK, 2015. <http://www.tuik.gov.tr/PreTabloArama.do?metod=search&araType=vt>
- Verbeek, M., Van Dijk, P. ve Van Well, P. M. A., 1995. Efficiency of Four Viruses From Garlic (*Allium sativum*) by Meristem-Tip Culture. Eur. J. Plant Pathol., 101, 231-239.
- Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ., 2000. Kltr Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Egeniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bornova, Izmir, 440 s.
- Weber, N.D., Andersen, D.O. ve North, J.A., 1992. In vitro virucidal effects of Allium sativum extract and compounds. Planta Med., 58: 417-423.
- Yan Dong, D., Lisk, D.J., Block, E. ve Ip, C., 2001. Characterization of the biological activity of γ -glutamyl-Se- methylselenocysteine, Cancer Research, 61, 2923-2928.
- Zheng, S. J., Henken, B., Krens, F. A. ve Kik, C., 2003. The Development of an Efficient Cultivar Independent Plant Regeneration System From Callus Derived From Both Apical and Non-Apical Root Segments of Garlic (*Allium sativum* L.). In Vitro Cell Dev. Biol.- Plant, 39, 288-292.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

| | |
|----------------------|--|
| Adı Soyadı | Esra TAŞ |
| Doğum Tarihi ve Yeri | 21.11.1990/ İÇEL |
| E-posta | esraerbas5860@hotmail.com |

Eğitim Bilgileri

| | | |
|--------|---|------|
| Lisans | Tokat Gaziosmanpaşa Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü | 2014 |
| Lise | Konyaaltı lisesi / ANTALYA | 2010 |