

1.GİRİŞ

Türkiye gerek farklı iklimlere sahip olması gerekse üç floristik bölgenin kesişme noktasında bulunması sebebiyle bitki türlerinin çokluğu bakımından dünyanın zengin ülkeleri arasındadır (Atalay 1994, Arslan vd. 2002). Süs bitkileri yetiştiriciliğinde de uygun iklimsel ve coğrafi koşulları, stratejik konumu ve ucuz iş gücüne sahip olması gibi nedenlerle önemli avantajlara sahiptir (Orta Anadolu Süs Bitkileri ve Mamülleri İhracatçıları Birliği, 2011 Sektör Raporu).

Süs bitkileri sektörü, ekonomiye büyük katkıları bulunan, ciddi ihracat potansiyeli olan, küçük veya büyük arazilerde üretim yapılabilen bir sektördür. Özellikle son yıllarda süs bitkileri birçok ülke için önemli bir konuma gelmiştir. Sektörde en alt düzeye kadar uzmanlaşma, üretim, pazarlama ve tüketim konuları endüstriyel ürünler gibi ele alınmış ve üretimde süreklilik ve teknoloji kullanım düzeylerinde ulaşılan nokta bu sektörün “Süs Bitkileri Endüstrisi” adıyla anılması ile sonuçlanmıştır (Karagüzel 2006).

Türkiye var olan ekolojik üstünlükleri kullanarak, genişleyen AB kapsamındaki büyük tedarikçi üye ülkelere yakınlık avantajını kullanarak, üye ülkelere yapacağı ihracatta yüksek gelir elde etme şansına sahiptir. Özellikle üründe çeşitlilik sağlanması, üretim, kalite ve standartlarda sağlanacak gelişmeler süs bitkileri ihracatında Türkiye’yi daha iyi bir konuma getirecektir (Sayın 2004).

Bu sektöre gereken önemin verilmesi, endemik türlerin korunması, bu türlerin çoğaltılması için çalışmaların yoğunlaşması ve nitelikli eleman yetiştirilmesi ile birlikte sağlanan istihdamla, işsizlik oranının yüksek olduğu ülkemizde, işsizlik oranının düşmesine de katkıda bulunulacaktır.

Çizelge 1.1. Dünya Süs Bitkileri İhracatı ve Türkiye'nin Yeri
(*www.pathfastpublishing.com from Eurstat, USDA & Customs and Excise*)

SIRALAMA	ÜLKELER	DEĞER(1.000 Euro)
1	Hollanda	4.665.501
2	İtalya	510.087
3	Danimarka	502.996
4	Kolombiya	447.324
5	Kanada	338.158
6	Belçika	329.437
7	Almanya	324.295
8	Kenya	242.307
9	İspanya	208.992
10	Fransa	188.305
11	Ekvador	179.433
12	İsrail	157.702
13	Kosta rıka	137.033
14	ABD	78.689
15	Guatemala	59.736
16	Zimbabve	57.748
17	Polonya	57.019
18	Birleşik krallık	55.367
19	Çin	53.481
20	Meksika	51.740
21	Güney Afrika	42.252
22	Türkiye	45.499
23	Tayland	31.222
	TOPLAM	9.067.821

(Kaynak: *pathfastpublishing.com from Eurstat, USDA & Customs and Excise*)

Dünya Süs Bitkileri İhracatı ve Türkiye'nin Yeri çizelgesinde ülkelerin süs bitkisi ihracatından elde ettikleri gelirler avro (Euro) cinsinden verilmiştir. Hollanda yaklaşık 4,7 milyar avro ihracat geliri sağlarken diğer ülkelerin bu rakamın çok daha altında ihracat getirisine sahip oldukları görülmektedir. Hollanda'nın yanında İtalya, Danimarka, Kolombiya ve Kanada ilk beş sırayı paylaşmışlardır. Yirmi beş ülkenin süs bitkileri ihracatından aldıkları payların yer aldığı çizelgede Türkiye 21. sırada yer bulabilmiştir. Listede yer alan bazı ülkelerin gelişmişlik açısından Türkiye ile kıyaslandığında hayli geride oldukları hesaba katılırsa Türkiye'nin süs bitkilerinin yetiştirilmesi ve ihraç edilmesinde yeterli mesafe kaydetmediği anlaşılacaktır.

Yıllara göre süs bitkileri ihracatı Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Türkiye Süs Bitkileri İhracatı

YILLAR	Değer (1.000 Dolar)
2006	40.522
2007	46.447
2008	45.499
2009	49.150
2010	56.053.428
2011	75.956.612
2012	73.028.456

(Kaynak: TÜİK 2012)

Yukarıdaki Türkiye Süs Bitkileri İhracatı verilerini incelediğimizde yıllar itibari ile ihracatın artma eğiliminde olduğu görülmektedir. 2006-2012 yılları arasında ihracatın neredeyse iki kat artış göstermesi, zamanla süs bitkisi ticaretine ilginin arttığının bir göstergesidir.

Türkiye’de üretilen kesme ve süs bitkileri ihracat yapan illere baktığımızda en çok ihracatın Antalya, İstanbul, İzmir ve Yalova illerinde olduğu görülmektedir. Belli başlı illerde süs bitkileri üretiminin ve ihracatının yoğunluk göstermesi, ülke genelinde süs bitkileri sektörünün istenen seviyeye gelemediğini göstermektedir. Çiçek kullanım türlerine göre Türkiye’nin süs bitkileri ihracatı Çizelge 1.3’ de verilmiştir.

Çizelge 1.3. Mal grubuna göre Türkiye'nin süs bitkileri ihracatı (DTM, TUIK)

MAL GRUBU	DEĞER (1.000 ABD Doları)							Değişim (%) 2010/2011
	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012*	
Çiçek soğanları	2.645	2.917	3.011	2.554	1.809	2.305	1.831	27
Canlı bitkiler	7.941	10.871	12.371	16.388	22.121	40.182	26.283	81
Kesme çiçekler	23.482	26.588	24.356	24.381	26.274	27.182	22.257	3
Yosunlar ve ağaç dalları	6.453	6.071	5.759	5.826	5.879	6.287	4.421	7
Toplam	40.522	46.447	45.499	49.149	56.085	76.322	54.794	36

(Kaynak: TUIK 2012)

Süs bitkisi tipine göre Türkiye süs bitki ihracatının bakıldığında, yıllara göre değişmekle birlikte yaklaşık 3 milyar dolar geofit ihracatının yapılmakta olup bunun son derece yetersiz olduğu görülmektedir. Biyolojik zenginliklerimiz içerisinde yer alan bitki gruplarından her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahip olan türlerin yer aldığı yumrulu ve soğanlı bitkiler (geofitler) grubudur. Toprak altındaki kökleri soğan, yumru ve rizomlardan oluşan ve 'Geofit' olarak tanımlanan çiçekli bitkiler her renkten türü ile Türkiye'nin en güzel ve narin doğal bitki zenginliklerindedir. Türkiye'de 688 adet geofit bulunmaktadır. Bu sayı ülkenin florasının %6 sından fazlasını oluşturur (Mathew and Baytop 1984, Özhatay 2003).

Doğadan sökülerek toplanan Doğal Çiçek Soğanlarının 2014 Yılı İhracat Listesi Hakkında Tebliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ (ise resmi gazetede yayınlanmıştır (Çizelge 1.4.). Geofitlerin çok büyük bir kısmı *Liliaceae*, *Iridaceae* ve *Amaryllidaceae* familyalarına dâhildir

Çizelge 1.4. 2014 yılı doğal çiçek soğanlarının ihracat listesi tablosu

(I) Doğadan Toplanmak Suretiyle İhraç Edilmesi Yasak Olan Çiçek Soğanları	(II) İhracatı Kotaya Tabi Olan Çiçek Soğanları				Çevre Uzunluğu (cm)	(III) İhracatı Üretimden Serbest Olan Çiçek Soğanları
	Tür İsmi	Tür İsmi	Yıllık Limit (Adet)			
		Doğa	Büyütme	Üretim		
1. <i>Allium</i> (Yabani soğan) türlerinin hepsi	1. <i>Anemone blanda</i> (Yoğurt çiçeği)	5.000.000	-	-	4	1. <i>Lilium candidum</i> (Miszambağı)
2. <i>Crocus</i> (Çiğdem) türlerinin hepsi	2. <i>Arum italicum</i> (Yılan yastığı)	50.000	-	300.000	6	2. <i>Iris tuberosum</i> (Süsen)*
3. <i>Fritillaria</i> türleri (<i>F. persica</i> , <i>F. imperialis</i> hariç)	<i>Arum dioscorides</i>	50.000	-	200.000	6	3. <i>Calla aethiopica</i> (Kalla)*
4. <i>Lilium</i> (Zambak) türleri (<i>L. candidum</i> ve <i>L. martagon</i> hariç)	3. <i>Cyclamen cilicium</i> (Sıklamen)	100.000	-	200.000	8	4. <i>Polyanthus tuberosa</i> (Sümbülteber)*
5. <i>Muscari</i> (Muskari) türlerinin hepsi	<i>Cyclamen coum</i> (Sıklamen)	600.000	-	150.000	8	5. <i>Fritillaria persica</i> (Adıyaman lalesi)
6. <i>Sternbergia</i> (Kara çiğdem) türleri (<i>S. lutea</i> hariç)	<i>Cyclamen hederefolium</i> (Sıklamen)	-	-	2.000.000	10	
7. <i>Tulipa</i> (Lale) türlerinin hepsi	4. <i>Dracunculus vulgaris</i> (Yılan bıçağı)	50.000	-	300.000	10	
8. <i>Eminium</i> türlerinin hepsi	5. <i>Eranthis hyemalis</i> (Sarı kar çiçeği)	3.000.000	-	-	3,5	
9. <i>Biarum</i> türlerinin hepsi	6. <i>Galanthus elwesii</i> (Toros kardeleni)	4.000.000	1.000.000	1.500.000	4	
10. <i>Nymphaeaceae</i> (Nilüfer) türlerinin hepsi	<i>Galanthus woronowii</i> (Karadeniz kardeleni)	2.500.000	1.000.000	-	4	
11. <i>Orchidaceae</i> (Salep)türlerinin hepsi	7. <i>Leucojum aestivum</i> (Göl soğanı)	-	-	4.000.000	7,5	
12. <i>Arum</i> (Yılan yastığı) türleri (<i>Arum italicum</i> , <i>Arum dioscorides</i> hariç)	8. <i>Urginea maritima</i> (Ada soğanı)	10.000	-	5.000	20	
13. <i>Pancreatium maritimum</i> (Kum zambağı)	9. <i>Geranium tuberosum</i> (Deve tabanı)	500.000	-	300.000	5	
14. <i>Hyacinthus orientalis</i> (Şark sümbülü)	10. <i>Fritillaria imperialis</i> (Ters lale)	-	-	50.000	10	
15. <i>Gentiana lutea</i> (Censiyen)	11. <i>Lilium martagon</i> (Türk zambağı)	-	-	2.500	10	
16. <i>Cyclamen</i> (Sıklamen) türleri (<i>C. coum</i> , <i>C. cilicium</i> ve <i>C. hederefolium</i> hariç)	12. <i>Sternbergia lutea</i> (Karaçiğdem)	-	-	400.000	6	
17. <i>Galanthus</i> (Kardelen)türleri (<i>G. elwesii</i> ve <i>G. woronowii</i> hariç)						
18. <i>Iris</i> (Süsen) türleri						
19. <i>Paeonia</i> (Şakayık) türleri						
20. Diğer yumrulu ve soğanlı türler						

* Üretimi yapılan egzotik türler;(Kaynak: BÜGEM 2014.)

Bitki doku kültürü, aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir. Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik varyabilite oluşturmak doku kültürünün temel amaçları arasında sayılabilir. Bu nedenle bitki doku kültürleri genetiksel iyileştirme çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretiminde, çeşitli doku kültürü yöntemleri rutin olarak uygulanmaktadır (Babaoğlu vd. 2001). Bunun yanında hastaliksız bitki elde edilmesinde meristem kültürü Tüm apikal meristem veya buradan alınan küçük embriyonik parçalar kültüre alınarak uygulanan tekniğe meristem kültürü denir (Babaoğlu vd. 2001). Organize meristemlerden, henüz olgunlaşmamış veya olgunlaşmasını tamamlamış somatik hücrelerden (organogenesis veya somatik embryogenesis) veya indirekt (kallus, protoplast vb.) yollarla bitkilerin çoğaltılması ve köklendirilmesi işlemine genel olarak mikroçoğaltım denilmektedir. Sentetik tohum üretimi, Sekonder metabolit üretimi doku kültürünün diğer uygulama alanlarıdır. Ticari olarak doku kültürü ile üretilen türlerin başında geofitler gelmektedir. Geofitlerin doku kültürü hızlı çoğaltımı üzerine çalışmalar önem kazanmıştır. *In vitro* teknikleri bitkisel materyalin çoğaltılması için uygun bir yapı olarak ortaya çıkmış olup, orkide gibi soğanlı bitkilerden kısa sürede çok sayıda bitki üretilebilmektedir. Geofitlerde *in vitro* çalışmalar; klonal çoğaltım ve tıbbi sekonder metabolit üretimi amacıyla yapılmaktadır. Bitkilerin çoğunun, tohumdan çiçek açabilecek bir soğan boyutuna ulaşabilmesi için 4-5 yıla, hatta daha uzun yıllara gerek duymaları ve bir kısmının da tohum oluşturamaması sebebiyle sadece vejetatif olarak çoğalabildiği göz önünde bulundurulduğunda bir takım hızlı çoğaltma tekniklerinin bu bitkiler üzerinde geliştirilmesi gereklidir.

Geofitlerin çok büyük bir kısmı *Liliaceae*, *Iridaceae* ve *Amaryllidaceae* familyalarına dâhildir. Geofitlerin geleneksel yöntemlerle klonal çoğaltımı Türkiye’de *Arum*, *Lilium*, *Sternbergia*, *Leucojum*, *Galanthus*, *Fritillaria*, *Cyclamen* gibi cinslere ait bazı türlerde yapılmaktadır. *Liliaceae* familyası dünyada yaklaşık 250 cins ve 3500 tür ile temsil edilmektedir (Satıl ve Akan 2006). Ülkemizde bu familyaya ait se 36 cins ve 461 tür mevcuttur (Erik ve Tarýkahya 2004).

Birçoğunu endemik türlerin oluşturduğu geofitlerden birisi olan *Hyacinthella* generusu da Bu Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren ve dünyada 17 türle temsil edilen soğanlı bir cinstir (Arslan 2004). Türkiye'de ise 10 tür ve 1 hibrit (*H. micrantha* x *H. heldreichii*) ile temsil edilmektedir. Bu türlerden *H. acutiloba* K. Persson & Wendelbo ve *H. nervosa* (Bertol.) Chouard türleri hariç diğer 8 tür endemik olup, endemizm oranı %80'dir (Davis 1988, Güner ve ark. 2000). Bu cinsin türleri, park ve bahçelerde süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Zomlefer 1993). Türkiye'de 10 adet *Hyacinthella* türü mevcuttur;

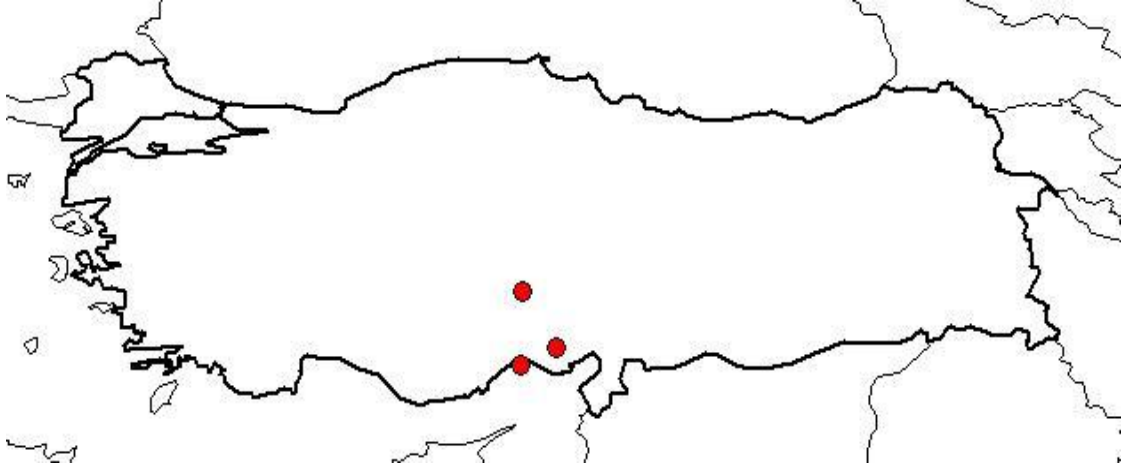
- a) *Hyacinthella hispida* (J. GAY) CHOUARD
- b) *Hyacinthella heldreichii* (BOISS.) CHOUARD
- c) *Hyacinthella lazulina* K. M. PERSS. ET JIM. PRESS
- d) *Hyacinthella glabrescens* (BOISS.) K. PERSSON ET WENDELBO
- e) *Hyacinthella campanulata* K. PERSSON ET WENDELBO
- f-) *Hyacinthella micrantha* (BOISS.) CHOUARD
- g-) *Hyacinthella lineata* (STEUDEL) CHOUARD
- h-) *Hyacinthella acutiloba* K. PERSON ET WENDELBO
- ı-) *Hyacinthella nervosa* (BERTOL.) CHOUARD
- i-) *Hyacinthella sürtensis* MATHEW

Hyacinthella hispida (J. GAY) CHOUARD: Çok yıllık otsu bir endemik türdür. Çiçeklenmesi 2-4 yıl sürmekte, genel olarak çalılıklar, taşlı yamaçlar, kalkerli çağılık, kalkerli kayalıklarda bulunmaktadır (Şekil 1.1.). Genel olarak ülkemizde Adana, İçel ve Hatay illerinde yayılış göstermektedir.



Şekil 1.1. *Hyacinthella hispida* 'nın doğal alandaki görünümü

(<http://www.turkiyebitkileri.com>)



Şekil 1.2. *Hyacinthella hispida*'nın Anadolu'daki yayılışı (<http://tubives.com>)

Hyacinthella heldreichii (BOISS.) CHOUARD: Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak kalkerli çakıllık, Pinus orman açıklıkları, tepelerin kireçli bölümlerinde bulunmaktadır (Şekil 1.3.). Genel olarak ülkemizde Antalya, Burdur, Isparta, İçel ve Konya illerinde yayılış göstermektedir.



Şekil 1.3. *Hyacinthella heldreichii* (<http://www.picsearch.com>)

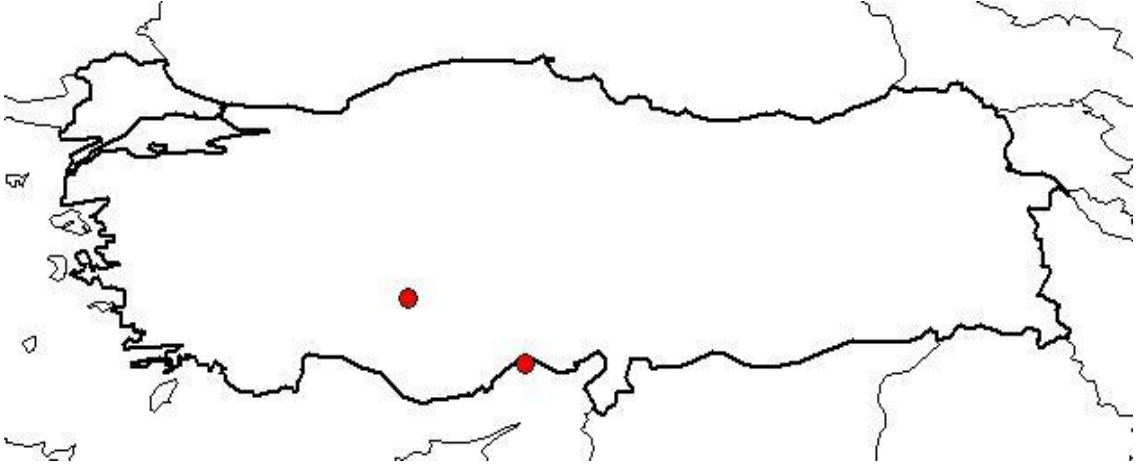


Şekil 1.4. *Hyacinthella heldreichii*'nin Anadolu'daki yayılışı(<http://tubives.com>)

Hyacinthella lazulina K. M. PERSS. ET JIM. PRESS. Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak açık taşlı yerler, *Quercus coccifera* ve *Juniperus* çalılıkları, derin loamlı veya taşlı turfelerde kayalık kireçtaşı yamaçlar, çoğu kez iyi nemli yerlerde bulunmaktadır.(Şekil 1.5.) Genel olarak ülkemizde İçel ve Konya illerinde yayılış göstermektedir.



Şekil 1.5. *Hyacinthella lazulina*'nın doğal alandaki görünümü
(<http://www.picsearch.com>)

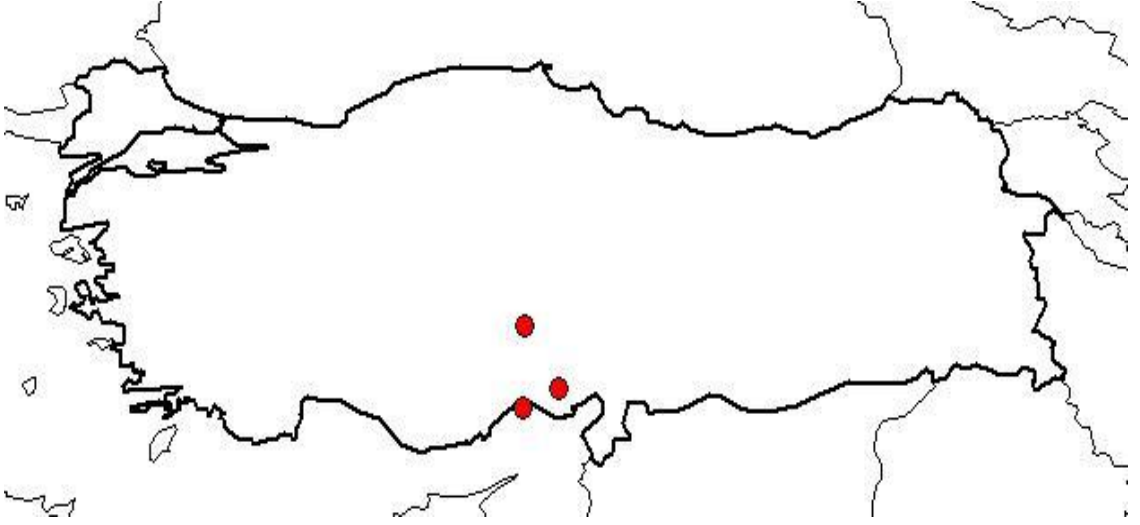


Şekil 1.6. *Hyacinthella lazulina*'nın Anadolu'daki yayılışı (<http://tubives.com>)

Hyacinthella glabrescens (BOISS.) K. PERSSON ET WENDELBO: Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak Pinusların altındaki kuru yamaçlar, kalkerli çağılık, kil, eriyen karlar yaşam alanlarıdır (Şekil 1.7.) Genel olarak ülkemizde Adana,İçel ve Niğde illerinde yayılış göstermektedir.



Şekil 1.7. *Hyacinthella glabrescens* (<http://www.alpinegardensociety.net>)



Şekil 1.8. *Hyacinthella glabrescens*'in Anadolu'daki yayılışı(<http://tubives.com>)

Hyacinthella campanulata K. PERSSON ET WENDELBO: Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak taşlı tepe kenarları, kalkerli uçurumlarda bulunur (Şekil 1.9.) Genel olarak ülkemizde Konya ilinde yayılış gösterir.



Şekil 1.9. *Hyacinthella campanulata* 'nın doğal alandaki görünümü
(<http://www.garden-living.blogspot>)

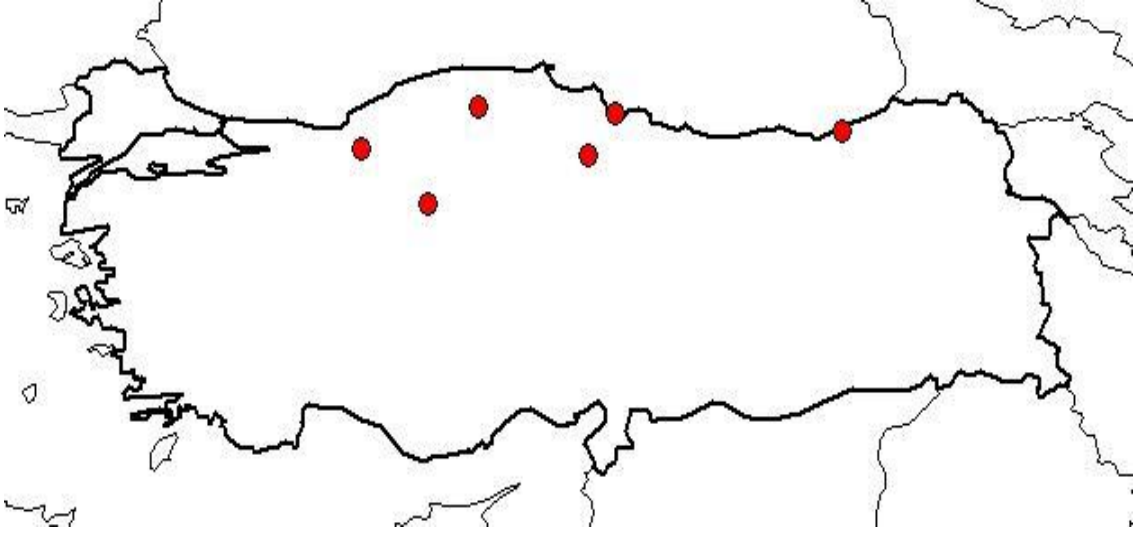


Şekil 1.10. *Hyacinthella campanulata*'nın Anadolu'daki yayılışı (<http://tubives.com>)

Hyacinthella micrantha (BOISS.) CHOUARD: Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak kireçtaşı üzeri, açık güneşli taşlık zeminler, otlatılmış yerlerde bulunur (Şekil 1.11.) Genel olarak ülkemizde, Bolu, Kastamonu, Amasya, Ankara, Çorum, Samsun illerinde yayılış gösterir.



Şekil 1.11. *Hyacinthella micrantha* 'nın doğal alandaki görünümü (<http://www.picsearch.comHyacinthella-pictures.html>)

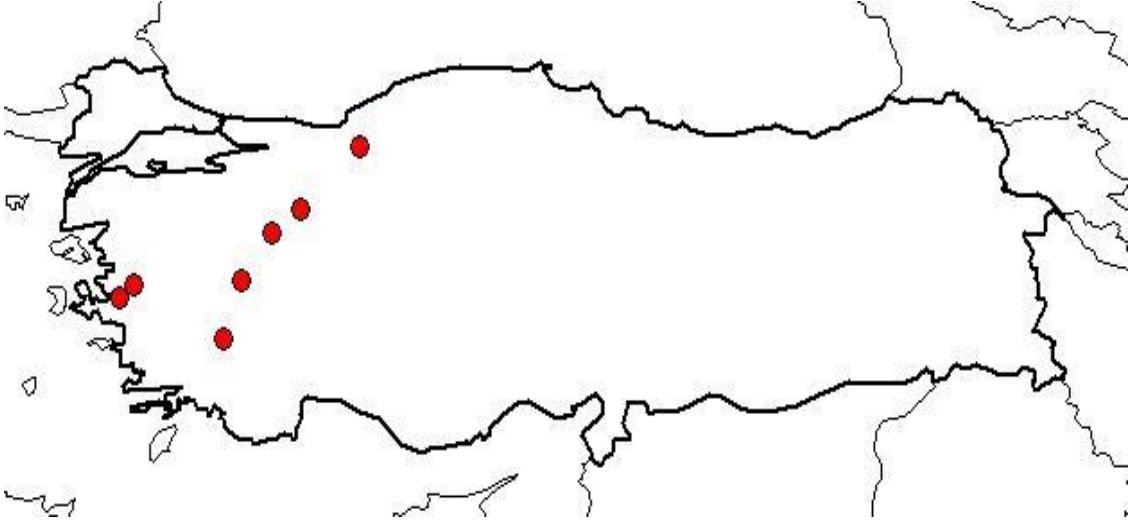


Şekil 1.12. *Hyacinthella micrantha*'nın Anadolu'daki yayılışı(<http://tubives.com>)

Hyacinthella lineata (STEUDEL) CHOUARD: Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak yayılışı *Quercus coccifera* çalılıkları, *Pinus nigra* altları, kumlu ve kayalı aşırı otlanmış yamaçlardır (Şekil 1.13.) Genel olarak ülkemizde Bolu, Denizli, Eskişehir, İzmir, Kütahya, Manisa ve Uşak illerinde yayılış gösterir.



Şekil 1.13. *Hyacinthella lineata* 'nın doğal alandaki görünümü
(<http://www.picsearch.com>)

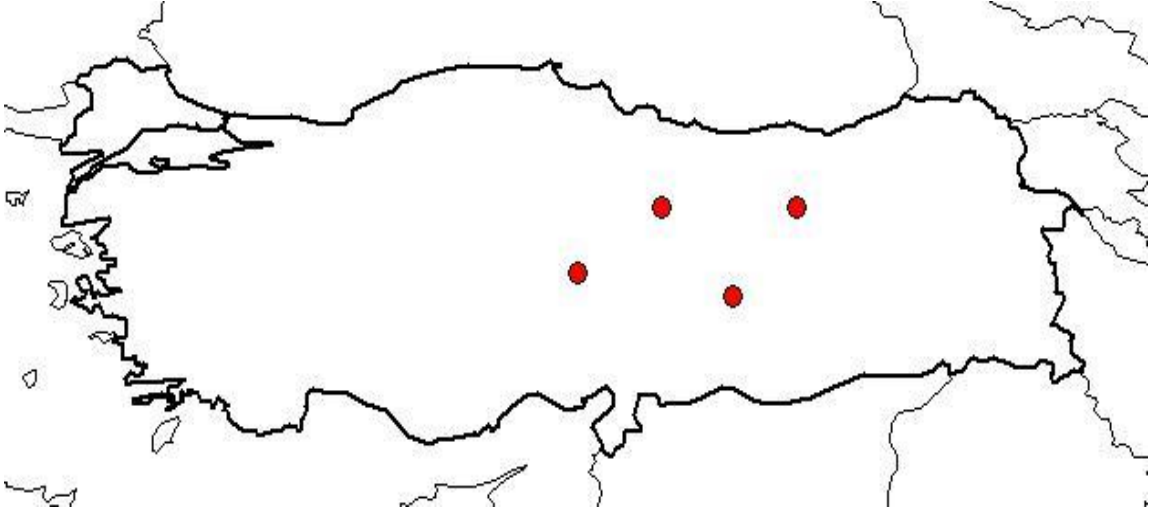


Şekil 1.14. *Hyacinthella lineata* 'nın Anadolu'daki yayılışı (<http://tubives.com>)

Hyacinthella acutiloba K. PERSON ET WENDELBO: Çok yıllık otsu bir bitkidir. Genel olarak yayılışı Quercus çalılıkları, kalkerli kayalı yamaçlar, gipsli tepelerdir (Şekil 1.15.). Genel olarak ülkemizde Erzincan, Kayseri, Malatya ve Sivas illerinde yayılış göstermektedir.



Şekil 1.15. *Hyacinthella acutiloba* (<http://www.agaclar.net>)

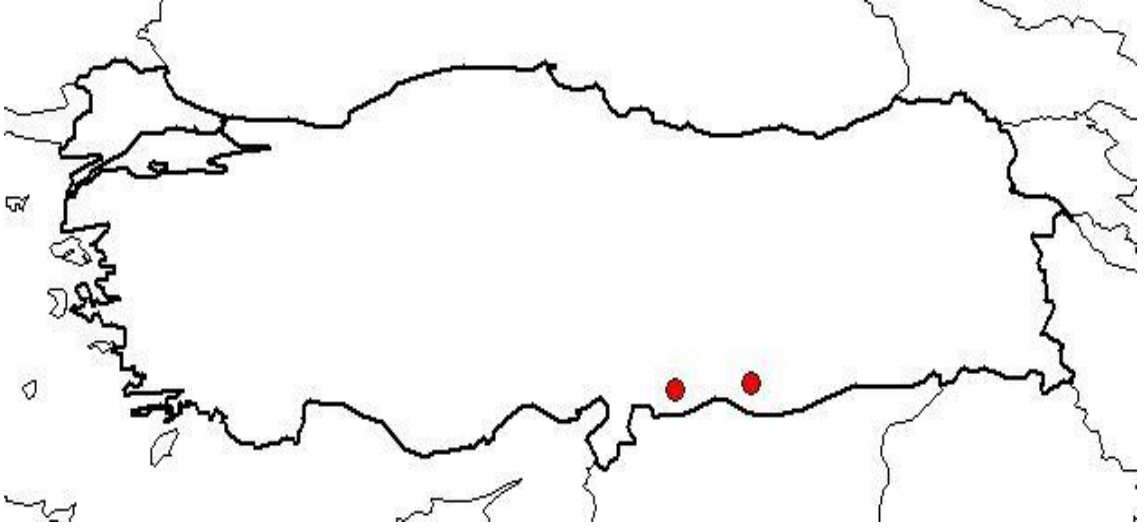


Şekil 1.16. *Hyacinthella acutiloba* 'nın Anadolu'daki yayılışı(<http://tubives.com>)

Hyacinthella nervosa (BERTOL.) CHOUARD: Çok yıllık otsu bir bitkidir. Genel olarak yayılış alanı beyaz tebeşirli alanlar, açık step yamaçları, kireçli topraklar, kalkerli kayalı yamaçlardır (Şekil 1.17.). Genel olarak ülkemizde Gaziantep ve Şanlıurfa illerinde yayılış gösterir.



Şekil 1.17. *Hyacinthella nervosa* (<http://www.pacificbulbsociety.org>)



Şekil 1.18. *Hyacinthella nervosa*'nın Anadolu'daki yayılışı (<http://tubives.com>)

Hyacinthella siirtensis MATHEW: Çok yıllık otsu endemik bir bitkidir. Genel olarak yayılışı şişti kırıç topraklardır (Şekil 1.19.). Ülkemizde Mardin, Siirt ve Şanlıurfa illerinde yayılış gösterir.



Şekil 1.19. *Hyacinthella siirtensis*'nin doğal alandaki görünümü (<http://www.picsearch.com>)



Şekil 1.20. *Hyacinthella siirtensis*'in Anadolu'daki yayılışı(<http://tubives.com>)

Hyacinthella türleri içinde kaybolma tehlikesi yüksek olan ve güzel ve gösterişli çiçekleri ile en önemli tür olan *Hyacinthella micratha* (BOISS.) CHOUDARD. türünün Türkiye florasında yer almakta olup, endemik bir türdür. Türkiye'de daha çok kireçtaşı üzeri, açık güneşli taşlık zeminler, otlatılmış yerler ve A3, A5, B4 gelişim karelerinde yer alan bu türde en çok yayılım gösterdiği iller Çankır, Amasya, Çorum, Samsun ve Ankara il sınırlarıdır. (http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=1&tax_id=9148). *Hyacinthella micratha*, yavru soğan oluşturabilnek için 1 yıl hatta daha uzun yıllara gerek duymaları nedeniyle bir takım hızlı çoğaltım ve alternative üretim tekniklerinin bu bitkiler üzerinde geliştirilmesi gereklidir. Bu çalışmanın da amacı; Bir çoğunun endemik türlerin oluşturduğu *Hyacinthella* genusu içinde endemik bir tür olan ve sınırlı bir alanda yayılış gösteren ve süs bitkisi olarak ekonomik öneme sahip olabilecek *Hyacinthella micratha*'nın *in vitro* hızlı çoğaltımı ve bu bağlamda bu türün korunmasıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Son yıllarda bazı yumrulu, soğanlu, rizomlu ve korm oluşturan geofit türlerinde farklı eksplant kaynakları kullanılarak yapılan *in vitro* klonal çoğaltım çalışmalarında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Tang(1995), *F. ussuriensis* türünde, *in vitro* koşullarda elde edilmiş olan yaprakların karanlık koşullarda MS ortamında kültüre alınmasıyla bir ay içerisinde açık sarı renkli kallus gelişimi sağlanmıştır. 2 mg/l 2,4-D, 0,5 mg/l BA, 0,5 mg/l Kinetin ve 500 mg/l kazeinhidrolizat içeren MS ortamında, 28 gün sonra kalluslar üzerinde somatik embriyolar görülmeye başlanmış ve bu embriyolar daha sonra 0,5 mg/l Kinetin ve 100 mg/l kazeinhidrolizat bulunduran N6 ortamına aktarılmıştır. Somatik embriyolar daha sonra 0,1 mg/l NAA içeren MS ortamına aktarılmış ve burada 2 hafta içerisinde sağlıklı bitkiciğe dönüşmüştür.

Tang vd. (1995), *F. ussuriensis* türünde genç yapraklardan hazırladıkları eksplantları MS besin ortamında kültüre almışlardır. Kallus gelişimi üzerine 2,4-D tek başına kullanıldığında etkinliği düşük bulunurken, Kinetin ve BA 'nın birlikte kullanılması halinde kallus gelişimi daha iyi olmuştur. Kinetin dozu artırıldığında kallus oluşumu daha fazla teşvik edilmiştir. Ancak kallus oluşumunun en yüksek oranda elde edildiği ortam içerisinde 2,4-D, Kinetin ve NAA içeren N₆ ortamlarına aktarılmış, burada sekiz hafta içerisinde adventif soğancıklar meydana gelmiştir. Soğancıklar NAA içeren ortama alındığında ise iki hafta sonra köklenme elde edilebilmiştir. Somatik embriyogenesis aşamasında 2,4-D'nin tek başına kullanılmasının engelleyici etkisinin bulunduğu rapor edilmiştir.

Zhang vd. (1995), *F. sinica*'ya ait genç çiçek saplarını 2,4-D, BA ve Kinetin bulunan MS ortamında kültüre alınmış ve embriyogenik kallus ve soğan elde etmişlerdir. Bu kallus kültürleri organ rejenerasyonu ve somatik embriyogenesis için 1 mg/l NAA, 0,5 mg/l BA içeren ortamda 30-40 gün kültüre alınmıştır. Genel olarak *F. sinica*'dan elde edilen soğanlarda 3 yol kullanılmıştır. 1. Eksplanttan oluşum, 2. Adventif tomurcuktan üretim ve 3. somatik embriyogenesis.

Liu vd. (1996), *F. taipaiensis*'i doku kültürü yoluyla hızlı çoğaltımını yapmışlardır. MS ortamına 1 mg/l NAA ve 3 mg/l BA kullanılan ortamda %93 oranında kallus ve soğancık oluşumu elde etmişlerdir.

Paek vd. (1996), tıbbi bitki olarak kullanılan *Fritillaria* türlerinde, eksplant tipi ve yaşının, kültür ortamı bileşiminin (değişik oksin, sitokinin ve sukroz kombinasyonlarına sahip MS ortamları) mikroçoğaltım üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Soğan pul yaprağı eksplantı alınacak ana soğanlar kuru depolarda +4 °C'de 2-4 hafta veya nemli depolarda 10 °C'de 4-6 hafta bekletildikten sonra eksplant alındığı da, *in vitro* koşullarda soğancık oluşumu elde edilebilmiştir. Pul yaprağı eksplantına göre, boğumlardaki tomurcuklar veya gövde segmentleri, daha iyi soğancık oluşumu sağlamışlardır. Kinetinin etkinliği de BA'e göre daha yüksek bulunmuştur. Optimum Kinetin dozu, eksplant tipine göre farklılık göstermekle birlikte, 1-5 mg/l arasında değişmiştir. Gövde segmentlerinin soğancık oluşturma kapasitesi de eksplant yaşına bağlı olarak değişiklik göstermiş olup, genç gövde eksplantları bu konuda, yaşlı segmentlere göre daha iyi sonuç vermiştir. En yüksek çoğalma katsayısı 20 olmuş ve bu, gövde segmentlerinden elde edilmiştir.

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

Ohkawa ve Kitajima (1998), *F. camtschatcensis* L.Ker-Gawl. türünde, soğan pul yaprağı parçalarını *in vitro* kültüre almışlardır. Büyüme düzenleyici içeren veya içermeyen MS ortamı, karanlık/ışık 15, 20 veya 25 °C inkübasyon sıcaklığı parametrelerinin kullanıldığı; soğancık oluşumu için en uygun koşullar 0,1 mg/l NAA

ve 0,1 mg/l 24-epibrassinolid ilave edilen MS ortamı, 20 °C’de ve karanlıkta inkübasyon olmuştur.

Witomska vd. (1998), *F. imperialis* L. soğanlarına uygulanan sterilizasyon yöntemlerinin yaşama ve rejenerasyon oranları üzerinde ki etkilerini incelemişlerdir. Soğanlar tek aşamalı olarak kloramin çözeltisi (%2,%4 veya %6) içinde bekletilerek, ya da iki aşamalı olarak kloramin öncesinde %0,2 benomil (Benlate) çözeltisine daldırılarak sterilize edilmiştir. Benomil uygulaması, enfeksiyon oranını azaltmış olmakla birlikte, rejenerasyon oranını ve köklenme miktarını azaltıcı etki de yapmıştır. En yüksek steril eksplant oranı, %0,2’lik benomile daldırıldıktan sonra %2 oranındaki kloramin çözeltisinde sterilizasyona tabi tutulan soğancık parçalarından elde edilmiştir.

Gao vd. (1999), *F. unibracteata* türünde yapılan çalışmada araştırmacılar, soğanların küçük parçalar haline getirilerek besin ortamına dikilmesi sonucunda çoğaltılabildiğini bildirmektedirler. 50 günlük bir kültür döneminden sonra oluşan soğancıkların geliştiğini, bunun için en uygun hormon bileşiminin 4,4 µ M BA ve 5,71 Mm IAA olduğunu ve MS besin ortamının yeterli görüldüğünü kaydetmektedirler. Geleneksel çoğaltma yöntemlerine göre 3-50 kat daha fazla çoğalma katsayısı elde edildiği bildirilen araştırmada kültürdeki soğancıkların alkoloit ve diğer yararlı bileşikler bakımından içeriklerinin, doğal koşullarda yetişenlerden daha zengin olduğu da belirlenmiştir.

Stabbert ve Niederwieser (1999), tarafından *Lachenalia cinsine* ait üç varyetede in vitro soğan oluşumu ve oluşan soğanların toprağa aktarılmasında etkili bir metot geliştirdikleri bildirilmiştir. Yaprak eksplantından elde edilen sürgünler düşük ısıda (4-15 °C), bırakıldıktan 2 hafta sonra soğan oluşumunun başladığı bildirilmiştir. Ayrıca, adventif sürgünlerin yaşının soğan oluşumu için çok önemli olduğu,4 mm den küçük sürgünlerin soğan oluşturmadığı ve soğan oluşumu için %3 ile %6 sukroz içeren ortamlar karşılaştırıldığında %6’nın daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir. Soğanların toprakta yaşama şanslarının da boyutları ile doğrudan bağlantılı olduğu bulunmuştur.

Tan ve Gao (1999), *F.unibracteata* türünün yavru soğanlarının ribavirin, jasmonik asitin metil esterini, brassinolid veya sodyum humat ilave edilmiş besin ortamlarında kültüre alındığını bildirmişlerdir. Çalışmada ribavirin maddesinin, özellikle 10 mg/l dozda kullanıldığında soğancık oluşumunu önemli oranda artırdığı belirlenmiştir.

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

Shibli ve Ajlouni(2000), endemik Iris'te somatik embriyogenesi kallus, süspansiyon ve protoplast kültüründen elde etmişlerdir. Kallusların alt kültürü 4.5 µM 2,4-D, 0.5 µM Kinetin, 4.5 µM NAA ve 300 mg/l Prolin içeren ortamda, karanlık koşullarda yapılmıştır. Rejenerasyon ortamı olarak BA, 2IP, Zeatin ve TDZ (0.4, 5.9 VE 13.5 µM)'nin 0.49 µM IBA ve 0.45 µM 2,4-D ile kombinasyonu ile hazırlanan ortamlar kullanılmıştır. Maksimum embriyogenesis 4.5 µM BA'da elde edilmiştir. Zeatin ve TDZ'nin embriyogenesis üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür. 0.2 M Sukroz ve Glukoz ve Fruktoz ile karşılaştırıldığında daha etkili olduğu bulunmuştur. 4.5 µM 2,4-D içeren ortamda 4 hafta içinde süspansiyon kültüründen gelişen hücreler 0.2 M sukroz , 4.5 µM BA içeren ortama transfer edildiğinde oldukça iyi sonuçlar (3568 embriyo/hücre) elde edilmiştir. Çalışma sonucunda gelişen embriyoların %90'ı köklenerek tam bir bitki haline gelmişlerdir. Üretilen bitkilerin ise %95'i dış koşullarda aktarılmıştır.

Hussey (2000), 12 süs bitkisinin *in vitro* soğan oluşturmaya verdikleri tepkiyi karşılaştırmıştır. Dokuz türde hiç kallus oluşmadan direkt olarak gövde dokusundan, 5 türde ovaryumdan, 4 türde ise yaprak dokusundan bitki gelişimi olmuştur. *Gladiolus*, *Hyacinthus*, *Muscari*, *Ornithogalum* ve *Scilla* 'da MS ortamına hiç büyüme düzenleyici ekmeden bitkicik elde edilmiştir. *Hippeastrum*, *Schizostylis*, *Sparaxis* ve *Ipheion*'da ortama oksin eklenerek sonuç elde edilmiştir. *Freesia*, *Tulipa* ve *Narcissus*'da ise direkt eksplant üzerinden bitki elde edilememiştir. 10 türde soğan ve korm parçaları kullanılarak soğancık elde edilmiş olsa da bunlarda bulaşıklık önemli bir engel teşkil etmiştir. *Tulipa* ve *Hippeastrum* dışındaki bitkilerde kallus elde edilmiştir. *Gladiolus*, *Sparaxis* ve *Schizostylis* dışındaki türlerde ise kallustan bitki oluşmuştur. Bulunan farklar bu tür ve aileler arasında basit bir ilişki olmadığını göstermiştir.

Zaidi vd. (2000), soğanlı ve yumrulu bitkilerde yapılan *in vitro* çalışmaları derlemiştir. Buradan elde edilen sonuçlara göre; besin ortamı olarak en fazla MS besin ortamının kullanıldığını, istenen gelişim sürecine göre (somatik embriyogenesis, organogenesis ve direkt organogenesis) BAP, Kinetin, 2,4-D gibi büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyonlarının kullanıldığını, 2,4-D 'nin daha çok kallus oluşturmada, düşük oksin yüksek sitokin kombinasyonunun sürgün oluşturmada, yüksek oksin düşük sitokin veya sadece oksinin ise köklendirmede kullanıldığı bildirilmiştir.

Wawrosch vd. (2001) , çok pahalı bir tıbbi bitki olan Nepal zambağı (*Lilium nepalense* D.Don) için bir hızlı çoğaltım protokolü geliştirilmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında olgunlaşmamış soğanlardan hazırlanan çift soğan pul yaprak eksplantlarından 20 µM Zeatin içeren MS ortamında sürgünler elde etmişlerdir. Çalışmada, bir eksplanttan dört hafta sonra yediden fazla sürgün oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca, ½MS ortamında, MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği belirtilmiştir.

Paek ve Murthy (2002), *F. thunbergii*'nin soğan pul yaprakları ile yaptıkları rejenerasyon çalışmasında en iyi sonucun 1.62 M NAA veya 4,65 µM Kinetin içeren MS ortamında (%13,7) elde edildiğini bildirilmişlerdir. Elde edilen soğanlar kültür sonunda 5 °C' de beş hafta bekletilerek kompost, vermikulit ve perlit (1:1:1) içeren ortama aktarıldığında 10 mm çapındaki soğanların %100' ünün sürgün verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, rejenerasyon çalışmasına başlamadan önce soğanları 10 °C'de 6 hafta bekletmenin rejenerasyonu olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir.

Naik ve Nayak (2005), *Ornithogalum virens*'de soğan pul yaprağı kullanılarak kallus oluşumu ve indirekt organogenesis elde etmişlerdir. Sürgün oluşumu 1 mg/l NAA ve 2 mg/l BA içeren ortamda sağlanmıştır. Soğan pul yaprağı ile 2 mg/l 2,4-D içeren MS besin ortamında kültüre alınan soğan pul yapraklarından kallus elde edilmiştir. Kallustan sürgün rejenerasyonu ise 2 mg/l NAA ve 0,5 mg/l BA içeren ortamda en iyi olmuştur. Sürgünlerden kök oluşumu hormonsuz MS ortamında sağlanmıştır. Rejenere olan bitkiler MS sıvı ortamında geliştirilmiştir. Saksılara başarılı olarak aktarılmıştır. Regenerantlardan oluşan soğancıklar sukrozu artırılmış (45-90 g/l) MS besin ortamına alınmışlardır. Direkt soğancık oluşumu ise soğan pul yaprağından 1mg/l NAA, 2 mg/l

BA ve 60 g/l sukroz içeren ortamda gerçekleşmiştir. Soğan büyüklüğü ise ½ MS'de artmıştır. *In vitro* 'da oluşan soğancıklar direkt olarak saksıya aktarılmıştır.

Dilik (2006), Şemdinli lalesi (*F.imperialis*) ve Adıyaman lalesi (*F.persica*)'nin *in vitro* soğancık üretiminde gövde segmenti (çiçek sapı) eksplantlarının kullanıldığı denemelerde besin ortamı olarak MS temel besin ortamı bileşimi olumlu sonuçlar vermiştir. 1,0 mg/l BA ile birlikte 0,5 mg/l KNA veya NAA kullanımı, soğancık ve kallus oluşumunu sağlamıştır. %6 sukroz yerine, anılan uygulamalara %6 fruktoz veya %6 glukoz ilave edilmesi, soğancık oluşum oranını ve oluşan soğancık sayısını artırmıştır.

Doğan-Kalyoncu (2007), Türkiye'de endemik olarak bulunan *Tulipa sintenisii* Baker ve *Tulipa armena*'nin olgunlaşmamış embriyolarından ilk kez *in vitro* soğancık üretimini yapmıştır. Olgunlaşmamış embriyolar farklı oranlarda oksin ve sitokin içeren MS (tek aşamalı protokol) ve N₆ (4 aşamalı protokol) besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 16 ay sonra 4 aşamalı protokolde *T. Sintenesii* türünde eksplant başına ortalama 22,67 adet, *T. armena*'da ise 16,42 adet soğancık üretimi gerçekleşmiştir. *T. sintenesii* türünde tek aşamalı protokol kullanılarak ise 27,10 adet soğancık elde edilebilmiştir. Bu çalışma sonucunda *T. sintenesii* ve *T. armena*'da soğan eksplantlarında görülen bulaşıklıktan ötürü, olgunlaşmamış embriyonun *in vitro* çoğaltım için en uygun eksplant olduğu tespit edilmiştir.

Karaoğlu (2008), *Sternbergia* cinsine ait *Sternbergia candida*, *S. fischeriana*, *S. clusiana* ve *S. lutea* türlerinden *in vitro* soğancık eldesi ve dış koşullara adaptasyonla ilgili çalışmalar yapmıştır. *S.candida*'nın olgunlaşmamış embriyolarından ve ikili soğan pul yapraklarından *in vitro* koşullarda yüksek oranda soğancıklar elde edilmiştir. *S. fischeriana*'nın ikili soğan pul yapraklarından en yüksek sonuç eksplant başına 10 adet soğancık ile 1 mg/l BAP ve 0,5 mg/l NAA içeren MS besin ortamından, olgunlaşmamış embriyolarından en yüksek sonuç ise eksplant başına 2,9 adet soğancık ile 4 mg/l BAP ve 1mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. *S.clusiana*'nın ikili soğan pul yapraklarından ve olgunlaşmamış embriyolarından sırasıyla; eksplant başına 2.1 ve 2.2 adet soğancık ile 2mg/l BAP ve 1mg/l NAA içeren MS besin ortamında en yüksek sonuçlar elde edilmiştir. *S. lutea*'nın ikili soğan pul yapraklarından en yüksek sonuç ise

eksplant başına 15 adet soğancık ile 4 mg/l BAP ve 0,5 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edildiğini bildirmiştir.

Kapoor vd. (2008), 3- 4 mm boyutundaki kök segmentleri, kökün ortasından izole edilmiş, 1-1.5 mg/L naphthalene acetic acid (NAA) ve benzyladenine (BA) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. NAA ve BA'nın yalnız kullanıldığı durumlarda soğancık üretimi olmamıştır.

Uranbey vd. (2010), *M.azureum*'da soğan pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyo eksplantından yüksek frekansta *in vitro* soğancık üretimi gerçekleştirilmiştir.

Yanmaz vd. (2010), Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* (Kollman) Ozhatay, Matthews, Siraneci)'nda sürgün ucu ve kök kültürü yaparak bitki rejenerasyonu ve soğancık oluşumu üzerine çalışmışlardır. Farklı kombinasyonlarda, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), naphthalene acetic acid (NAA) içeren besin ortamları kök kültürü için, NAA, indole-3-acetic acid (IAA) with benzyladenin (BA) (0, 0.1, 1.0 mg/L içeren MS besin ortamı sürgün kültürü için kullanılmıştır. Kök ucunun uygun bir eksplant olmadığı görülürken, sürgün ucundan eksplant başına 1-2 sürgün elde edilmiştir. Besin ortamında oksin miktarı düşmesinin soğancık oluşumuna etkisinin önemli olduğu vurgulanmıştır.

Marija vd. (2011), *Fritillaria meleagris* L. bitkisinde, olgun zigotik embriyolar kullanılarak somatik embriyogenezis elde etmeyi başarmışlardır. İzole edilen embriyolar % 3 sukroz, % 7 agar, 250.0 mg/l casein hydrolysate, 250.0 mg/l L-proline, 80 mg/l adenine sulfate ve 1.0 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ya da thidiazuron (TDZ) içeren besin ortamında kültüre alınmış, 4 hafta sonra TDZ içeren besin ortamında embriyonik kallus elde edilmiştir.

Bektaş vd. (2013), *Orchis coriophora* L. en yüksek çimlenme oranı(% 44.2), aktifleştirilmiş kömür ve 1mg /Lve indol-3-asetik asit içerenOrchimax besin ortamında elde edilmiştir. Aktif kömür ve 0.25mg /L6-benziladenin içeren Orchimax besin ortamının protokorm oluşumu için uygunbir ortam olduğubulunmuştur.

Cavuşoglu vd. (2013), *Crocus sativus* L. 1 mg/l IAA içeren MS besin ortamı en iyi yavru korm oluşumunu (% 76.7) sağlamıştır. En iyi köklenme oranı (% 46.7) ve eksplant başınakök sayısı(1.5)120günde 2mg/l IBA içeren MS besin ortamında bulunmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Bitki Materyali ve Bitki Toplama Çalışmaları

Bu çalışmada materyal olarak *Hyacinthella micrantha* 'nın (BOISS.) CHOUARD türü doku kültürü çalışmaları için çiçek açma (sonbahar) döneminde Çankırı Ilgaz Köseköy mezarlığından toplanmıştır.

3.2. Eksplant seçimi

Hyacinthella micrantha 'nın soğan pul yaprakları doku kültürü çalışmalarında kullanılmıştır. Toplama sırasında kullanılacak olan eksplantın fizyolojik döneminin *in vitro* kültüre uygunluğuna dikkat edilmiştir. Soğanlar dörde bölünmüş, 2-3 mm genişliğinde 6-7 mm uzunluğunda ve bazal doku içeren 3-4 pul yapraklı soğan eksplantları kullanılmıştır.

3.3. Soğanların yüzey Sterilizasyonu, İzolasyonu ve Kültüre Alınması

Toplanan soğanların büyük bir kısmı tarlada kültüre alınmış geriye kalan az miktarda soğan ile yüzey sterilizasyonu denemelerine alınmıştır. Steril kabin içerisinde soğanların dış pul yaprakları çıkartılıp atıldıktan dıştaki kurumuş kabukları temizlenerek ve steril su ile yıkanmış, sonra kalan soğan parçaları denemelerde kullanılmıştır. Dış kabuklar soyulduktan sonra yarısı kuru şekilde fungusit (N-(trichloromethyl thio) cyclochox-4 ene-1, 2-dicarboximide) karıştırılmış ve kalan 50 adet soğan ıslatılarak fungusit ile muamele edilmiş ve kurutma kağıdında 24 saat 20 °C'de bekletilmiştir. Soğanlar % 95'lik etanol'de üç dakika bekletilmiş, daha sonra % 5'lik Sodyum hipoklorit içeren ve steril suyla değişik oranlarda seyreltilen ticari çamaşır suyunda (Axion) 10, 20, 30, 40 d sterilizasyona tabi tutulmuştur Sodyum hipokloritin yüzeye temasını sağlamak için 1-2 damla Tween-20 ilave edilmiştir. Soğan pul yaprakları, 20 g/L sukroz ve 7 g/L agar içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır.

Yüzey sterilizasyonun optimizasyonunu takiben pull yaprakları, öncelikle 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D, 2 g/l gelrite ve aktif kömür içeren ve içermeyen temel besin ortamı olarak MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Besin ortamında 4-6 hafta süreyle *in vitro* kallus oluşumu bakımından karşılaştırılmıştır. Daha sonra soğanlar, çeşitli temel

besin ortamları (MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Medium), 0.1 mg/l NAA + 40 g/l sukroz, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/l BAP, Zeatin ve 2-iP + 7 g/l agar içeren sürgün ve soğancık teşvik ortamı ortamında 16 °C’de 3 tekerrürlü olarak kültüre alınmıştır.

3.4. Besin Ortamı ve Kültür Koşulları

Denemelerde temel besin ortamı olarak MS (*Murashige ve Skoog, 1962;*), MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Medium (Lindeman 1970), mineral tuzları ve vitaminleri kullanılmıştır (Çizelge 3.1,2.,3.). Besin ortamın pH’sı, 1 N NaOH ya da HCl kullanılarak 5.6-5.8’e ayarlanmış ve 121°C, 1,2 kg/cm² basınç altında 20 ya da 25 dk. süreyle sterilize edilmiştir. Bütün kültürler ±16°C’de ve 16 saatlik fotoperiod ile beyaz floresan altında geliştirilmiştir.

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

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

Çizelge 3.2. ORCHIMAX ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

Mikro besin elementleri	mg/l	µM
FeNaEDTA	36.70	100.00
H ₃ BO ₃	3.10	50.16
KI	0.415	2.50
MnSO ₄ .H ₂ O	8.45	50.00
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0.0125	0.05
CoCl ₂ .6 H ₂ O	0.0125	0.05
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0.125	0.52
ZnSO ₄ .7H ₂ O	5.30	18.42
Makro besin elementleri	mg/l	mM
CaCl ₂	166	1.50
KH ₂ PO ₄	85	0.62
KNO ₃	950	9.4
MgSO ₄	90.35	0.75
NH ₄ NO ₃	825	10.31
MES	1000	4.69
Vitaminler	mg/l	µM
Myo Inositol	100	554.94
Thiamine HCl	10	29.65
Pyridoxine HCl	1	4.86
Nicotinic acid	1	8.12

Çizelge 3.3. LINDEMANN ORCHID MEDIUM ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

Ortamda bulunan maddeler		mg/L
Makro besin elementleri	Ca(NO ₃) ₂	347.20
	KH ₂ PO ₄	135.00
	KCl	1050.00
	MgSO ₄	58.98
	(NH ₄) ₂ SO ₄	1000.00
Mikro besin elementleri	AlCl ₃ .6H ₂ O	0.56
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.02
	FeCitrate	4.40
	H ₃ BO ₃	1.01
	KI	0.10
	KI	0.05
	MnSO ₄ .H ₂ O	0.03
	NiCl ₂ .6H ₂ O	0.57
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	
Vitaminler	Inositol	100
	Nicotinic Acid	0.5
	Pyridoxine-HCl	0.5
	Thiamine-HCl	0.1
	Glycine	2

Çizelge 3.4. Kullanılan büyüme düzenleyiciler ve çözünme ortamları ve saklanma koşulları.

Hormonlar	Çözücü	Saklama sıcaklığı(°C)
Oksinler		
NAA	1N NaOH	+4
Sitokininler		
Zeatin	Saf su	-20
BAP	1 N NaOH	+4
2-İP	1 N NaOH	-15- 25

3.5. *In vitro*'da Üretilen Soğanların Aklimatizasyonu

Soğan çapı 1.00 cm'ye ulaşam soğanlar birbirinden ayrılarak, *Soğancık Olgunlaştırma Ortamı I* : MS mineralleri ve vitaminleri + 50 g/l sukroz,, +, 40 g/l mannitol, 1000 mg/l kazein + 7 g/ l agar; *Soğancık Olgunlaştırma Ortamı II* : Orchimax mineralleri ve vitaminleri + 50 g/l sukroz + 40 g/l mannitol, 1000 mg/l kazein + 7 g/ l agar, *Soğancık Olgunlaştırma Ortamı III* : Lindeman Orchid Medium + 50 g/l sukroz,, +, 40 g/l mannitol soğancık olgunlaştırma ortamına aktarılmış, Burada 4-6 hafta bekletilen yumru çapı 1-1.5 cm'ye ulaşan soğanlar,, iklim odasında torf içeren küçük saksılara alınmış, yüksek nemde (% 70-90) tutulmaya başlanmıştır.

3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Laboratuvar ve tarla denemeleri, tesadüf parselleri ve tesadüf bloklarında bölünmüş parseller deneme desenine göre kurulmuştur. Elde edilen veriler Düzgüneş vd. (1983) tarafından bildirildiği şekilde varyans analizi ve Duncan testi uygulanmıştır. Yüzde değerler istatistiki analizden önce açı değerlerine dönüştürülmüş (Snedecor ve Cochran 1967) ve tüm istatistiki analizler, MSTAT-C bilgisayar programında yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Arazi Çalışmaları

Bu çalışmada materyal olarak *Hyacinthella micrantha*'nın (BOISS.) CHOUARD türü doku kültürü çalışmaları için çiçek açma (sonbahar) döneminde Çankırı Ilgaz Köseköy mezarlığından daha önceden toplanmıştır. Çiçeklenme periyodu olup, türün teşhisi ve toplanması bakımından en uygun dönemdir. Doç.Dr. Arif İPEK Bölgenin florasını iyi bilen bölgenin vegetasyonunu çalışmış bir araştırmacıdır. Kendisinden bitki türü ve bulunduğu alanlar hakkında bilgiler alınmıştır. *Hyacinthella micrantha*'nın türünün korunmuş mezarlık alanlarda ve yamaçlarda daha fazla yayılış gösterdiği alanın kuzeye bakan bölgelerinde ve taşlık alanlarda yayıldığı görülmüştür (Şekil 4.1. ve 2). Daha önceden yapılan soğan toplanması sırasında bulunduğu doğal alanda bitki türünün varlığını tehdit etmeyecek düzeyde olmasına dikkat edilmiştir. *Hyacinthella micrantha*'nın çiçek morfolojisi bakımından kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. *Hyacinthella micrantha*'nın taç yaprakları genellikle açık mavi ve beyaz renktedir.



Şekil 4.1. *Hyacinthella micrantha*'nın doğal yayılış gösterdiği Çankırı Ilgaz Köseköyü alanından görüntü



\$\$\$\$Şekil 4.2 Doğal yayılış alanında *Hyacinthella micrantha*'nın çiçeğine ait görüntüler (Beyaz çiçekli *Hyacinthella micrantha*)

4.2. Doku Kültürü Çalışmaları

4.2.1. Farklı dezenfektan doz ve uygulama sürelerinin kontaminasyon ve soğan canlılığı üzerine etkileri

Geofitlerde özellikle toprak altı organları (soğan pul yaprakları, korm, tuber, rizom) eksplant olarak kullanıldığından, bulaşıklık riski çok yüksektir. MS besin ortamında kültüre alınan bazı soğan pul yaprakların da 4-7. günden itibaren bakteri ve fungus bulaşıklığı görülmüştür. Erken dönemde kontaminasyon görülen eksplantlar kültürden uzaklaştırılmıştır. 30. günde bulaşıklık olmayan eksplant oranları ile canlılık oranları Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı dezenfektan dozu ve süresinin. *Hyacinthella micrantha* ' soğan pul yapraklarının canlılığı ve kontaminasyonu oranı üzerine etkileri

Doz (%)	Süre(dakika)	Canlılık(%)	Bulaşıklık oranı (%)
10	10	100	50
20	10	100	60
40	10	100	100
50	10	90	100
10	20	100	80
20	20	80	50
40	20	70	100
50	20	80	60
10	30	100	80
20	30	100	90
50	30	80	50
10	40	100	50
20	40	100	30
40	40	80	20
50	40	90	50

Yüzey sterilizasyonunda kullanılan dezenfektanın konsantrasyonu ve sterilizasyon süresi, eksplantın canlılığını ve rejenerasyon kapasitesini önemli derecede etkilemektedir (Allan, 1991). En kısa süre ve en düşük konsantrasyon da maksimum yüzey sterilizasyonu ve canlılık ana hedefdir. 30. günün sonunda yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılan türde süre artırıldıkça bütün dozlarda kontaminasyon oranının azaldığı görülmüştür. % 40 dezenfektan dozu ve 40 dakikalık sterilizasyon süresinin kontaminasyon bakımından uygun olduğu görülmüştür. Ayrıca ana hedef minimum kontaminasyon, maksimum doku canlılığı olduğundan, aynı dozlarda canlılığın % 80 olduğu saptanmıştır. % 40 dezenfektan dozu ve 40 dakikalık sterilizasyon süresinde kontaminasyon % 20'lere kadar düşmüştür. Yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılan soğan eksplantında, dezenfektan dozu ve uygulama süresi artırıldığında, canlılık oranında özellikle yüksek sürelerde azalmay görülmüştür. Bulaşıklık oranını daha da azaltmak için her bir soğan için ayrı steril petri kullanılmıştır.

4.2.2. *Hyacinthella micrantha*'nın soğan pul yapraklarının *in vitro* da kültüre alınması ve embriyonik kallus oluşumu

Soğan pul yaprakları, çeşitli temel besin ortamlarında (MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Medium) farklı oranlarda BAP, Zeatin ve 2-iP, 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D, 2 g/l gelrite ve aktif kömür içeren ve içermeyen besi yerlerinde 4-6 hafta süreyle *in vitro* kallus oluşumu bakımından karşılaştırılmıştır. Bu amaçla her bir farklı temel besin ortamında benzer oksin ve diğer bileşikler eklenmiştir.

Eksplant sayısına göre 3 tekerrür altına düşen ortamlar, deneme konusundan çıkarılarak, denemeler tekrarlanmıştır.

Embriyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IA : MS mineralleri ve vitaminleri, + 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D ve 2 g/l gelrite

Embriyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IB : MS mineralleri ve vitaminleri, 1 g/l aktif kömür + 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D ve 2 g/l gelrite

Embriyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIA : Orchimax, + 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D ve 2 g/l gelrite

Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIB : Orchimax, 1 g/l aktif kömür + 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D ve 2 g/l gelrite

Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIIA : Lindeman Orchid Medium, + 400 mg/l kazein, 2.5 mg/l 2,4-D ve 2 g/l gelrite

Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIIB: Lindeman Orchid Medium, + 400 mg/l kazein, 1 g/l aktif kömür, 2.5 mg/l 2,4-D ve 2 g/l gelrite

3-4 pul yapraklı yapraklı soğan eksplantların kültüre alındıktan yaklaşık 15-20 gün sonra genişlemeye başladığı görülmüştür. Yaklaşık 2.0-3.5 cm çapına ulaşan pul yaprakların önce kenarlarında daha sonra tüm etrafında yoğun bir kallus oluşumu görülmüştür (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Kültüre alındıktan yaklaşık 4 hafta sonra embriyonik kallus oluşturan soğan pul yapraklarının etrafında Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamında kallus oluşu başlamış 4-6 haftalar arasında bazı eksplantlarda globular, kalp ve torpedo safhasında embriyonik kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Embyonik kallus oluşumu teşvik amacıyla kullanılan tüm temel besin ortamlarında ortamlarında 3-4 pul yapraklı eksplantların büyük çoğunluğunun kallus oluşturduğu görülmüştür Çizelge 4.2. Kültüre alındıktan yaklaşık 6 hafta sonra gevşek yapılı kalluslar soğancık geliştirme ortamına transfer edilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı temel besin ortamı ve aktif kömürün pul yapraklarından *in vitro* embriyonik kallus oluşturan eksplant oranı üzerine etkileri

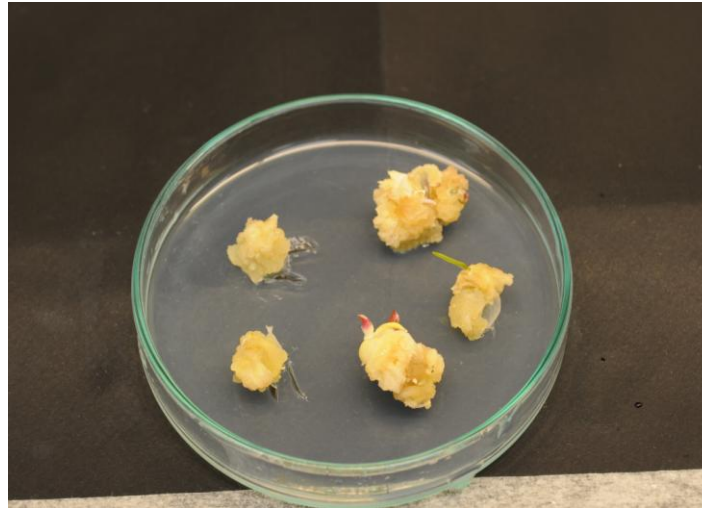
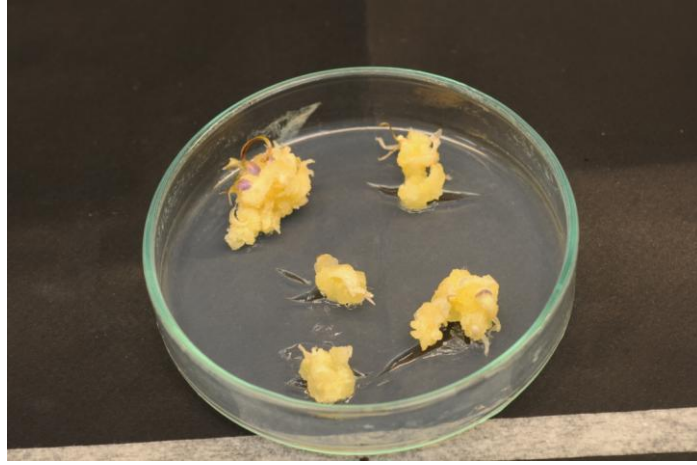
Besin ortamları	Embriyonik kallus oluşturan eksplant oranı (%)
Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IA	83,3
Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIA	100
Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIIA	90
Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IB	100
Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIB	100
Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamı IIIB	100



Şekil 4.3. Aktif kömür içermeyen embriyonik kallus oluşumu teşvik IA, IA ve IIIA besin ortamında kültür başlangıcından 2 hafta sonra 3-4 pul yapraklı eksplantlar



Şekil 4.4. Aktif kömür içeren embyonik kallus oluşumu sırasıyla IB, ve IIIB besin ortamında kültür başlangıcından 2 hafta sonra 3-4 pul yapraklu eksplantlar



Şekil 4.5. Aktif kömür içermeyen Embryonik kallus oluşumu teşvik sırasıyla IA, IIA ve IIIA besin ortamında kültür başlangıcından 4-6 hafta sonra yoğun embriyonik kallus oluşumu



Şekil 4.6. Aktif kömür içeren embyonik kallus oluşumu teşvik IA ve IIIA besin ortamında kültür başlangıcından 4-6 hafta sonra yoğun embriyonik kallus oluşumu

Her üç temel besin ortamında da aktif kömür içeren besi yerlerinin daha fazla oranda ve rejeneratif yapıda kompakt yapıda embyonik kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Aktif kömür içermeyen besi yerlerinde ise oluşam kallusların daha gevşek yapılı ve camsı olduğu görülmüştür. Bu nedenle her üç temel besi ortamı için kallus teşvik ortamı olarak aktif kömür içeren besi yerlerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2.3. *Hyacinthella micrantha* soğan pul yapraklarından adventif sürgün ve soğancık oluşumu

Embyonik kallus oluşumu teşvik ortamından transfer edilen pul yaprakları, aşağıdaki temel besin ortamlarında (MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Medium)

Soğancık Geliştirme Ortamı I: MS mineralleri ve vitaminleri + 0.1 mg/l NAA + 40 g/l sukroz, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/l BAP, Zeatin ve 2-iP + 7 g/l agar

Soğancık Geliştirme Ortamı II: Orchimax mineralleri ve vitaminleri + 0.1 mg/l NAA + 40 g/l sukroz, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/l BAP, Zeatin ve 2-iP + 7 g/l agar

Soğancık Geliştirme Ortamı III: Lindeman Orchid Medium mineralleri + 0.1 mg/l NAA + 40 g/l sukroz, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/l BAP, Zeatin ve 2-iP + 7 g/l agar içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır.

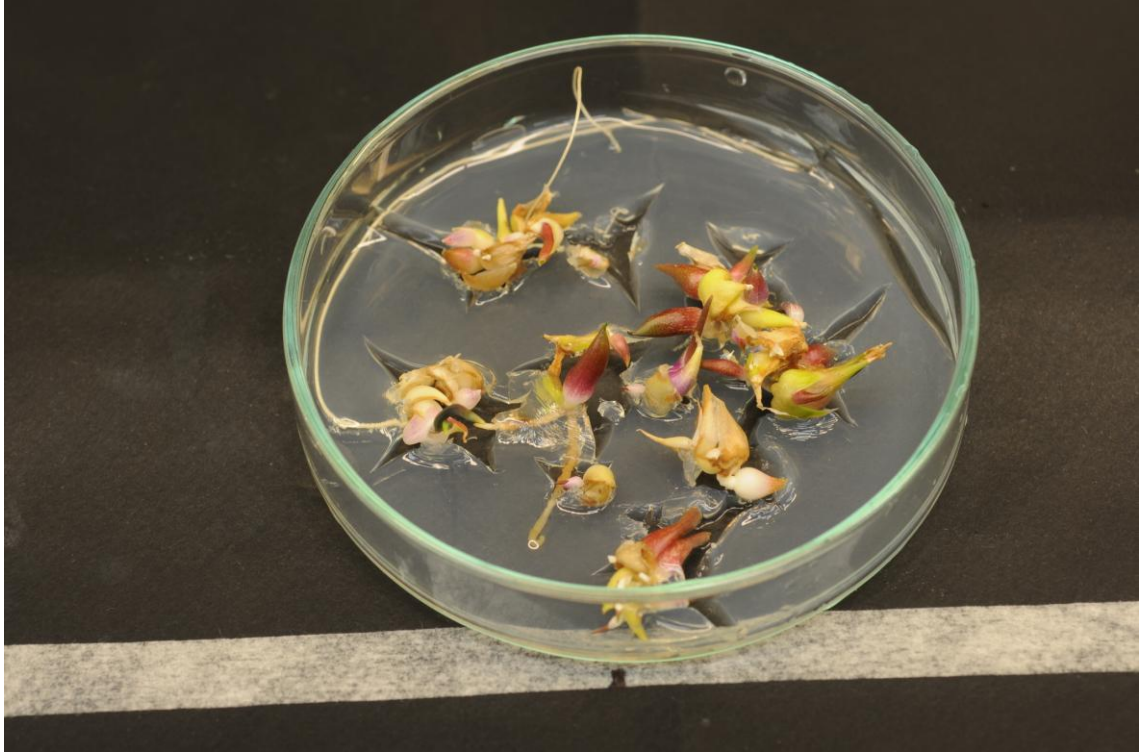
Kallus teşvik ortamı temel besin ortamları olarak aynı olan tüm soğancık geliştirme ortamlarda benzer olarak kültüre alındıktan yaklaşık 13-16 hafta sonra kallus üzerinde somatik embriyolardan yeşil sürgün ve küçük soğancıkların oluşmaya başladığı gözlenmiştir. 4-6 hafta sonra gelişen bu kalluslar daha sonra mikroskop altında incelenmiş, bu kallusların bazılarını embriyonik olduğu görülmüş, bu embriyonik kallusların bir kısmının soğancıklara dönüşmeye başladığı saptanmıştır. Bu ortamlarda canlı kalan eksplantlarda kültüre alındıktan 20 hafta sonra yavru soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına yavru soğancık sayısı belirlenerek istatistiki analiz yapılmıştır (Çizelge 4.3).

Kültür başlangıcından 24-28 hafta sonra tüm besin ortamlarında yarı gelişkin soğanlar oluşmuştur. Farklı sitokinin tip ve konsantrasyonlarını (BAP, 2-İP ve Zeatin) içeren MS (*Soğancık Geliştirme Ortamı I*) besin ortamının, 3-4 yapraklı soğan eksplantlarının in vitro soğancık üretimi üzerine etkilerine ilişkin varyans analiz sonuçlarına göre, farklı sitokinin konsantrasyonlarının, sürgün oluşturan eksplant oranı (%) üzerine etkisine 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranına ilişkin Duncan testi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı % 10-70 arasında değişmiştir. En yüksek sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı (%72) 2 mg/l Zeatin içeren *Soğancık Geliştirme Ortamı I* 'den elde edilmiştir.

Tüm besin ortamlarında Eksplant başına soğancık sayısı 0.70-5.33 adet arasında değişmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı bakımından da farklı besin ortamları arasındaki, fark 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. En yüksek eksplant başına soğancık sayısı (5.33 adet) 2.0 mg/l BAP içeren *Soğancık gelişim ortamı I* de saptanmıştır (Şekil 4.7.). Sitokinin tiplerinden BAP, 2-İP ve Zeatin'in soğancık oluşumu üzerine etkisi benzer etkide olduğu söylenenebilir.

Çizelge 4.3. Farklı sitokinin tip ve konsantrasyonlarını içeren MS besin ortamının (*Soğancık geliştirme ortamı I*) pul yapraklarından *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkileri

Sitokininler (mg/l)			Embriyonik kallus oluşturan eksplant oranı (%)	Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı	Eksplant başına soğancık sayısı
BAP	2-iP	Zeatin			
-	-	-		22.2 cd	0.60 b
1.0				23.3 cd	1.43 b
2.0				54.7 abc	5.33 a
4.0				68.5 ab	1.93 ab
8.0				40.0 a-d	1.40 b
	1.0			10.0 d	1.10 b
	2.0			28.5 a-d	1.87 ab
	4.0			33.0 a-d	3.93 ab
	8.0			19.4 cd	0.70 b
		1.0		26.3 bcd	0.63 b
		2.0		72.0 a	3.70 ab
		4.0		20.0 cd	0.50 b
		8.0		29.7 a-d	0.63 b
				LSD %1 23.75	LSD %1 3.185



Şekil 4.7. Pul yaprak eksplantlarından 2 mg/l BAP içeren MS besin ortamında (*Soğancık geliştirme ortamı I*) soğancık oluşumu

Farklı sitokin tip ve konsantrasyonlarını içeren Orchimax besin ortamının (*Soğancık geliştirme ortamı II*) pul yapraklarından *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkileri belirlemiştir. Farklı sitokin tipleri içeren besin ortamlarının soğan pul yaprakların da *in vitro* yavru soğancık üretimi üzerine etkilerine ilişkin varyans analiz sonuçlarına göre, yavru soğancık oluşturan eksplant oranı (%) ve eksplant başına ortalama yavru soğancık sayısı) üzerine besin ortamlarının etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün/soğancık rejenerasyonuna ilişkin Duncan testi sonuçları, Çizelge 4.4’de verilmiştir. Tüm besin ortamlarında sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı % 0-87.00 arasında değişmiştir. En yüksek sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı (% 87) 2 8.0 mg/L Zeatin içeren Orchimax besin ortamında saptanırken, % 60.7 ile bunu 4 mg/L Zeatin içeren Orchimax besin ortamı izlemiştir. Eksplant başına yavru soğancık sayısı 0.00-5.60 arasında değişmiştir. En yüksek eksplant başına yavru soğancık sayısına (5.60 adet) yine 8.0 mg/L Zeatin içeren Orchimax besin ortamında ulaşılrken, bunu sırasıyla 4.80 adet ile 8.0 mg/L BAP, 4.47 adet ile mg/L Zeatin içeren Orchimax besin ortamı izlemiştir. Özellikle uygulanan yüksek Zeatin dozlarında ve BAP’ın bazı dozlarının

yavru soğancık oluşumunu tetiklediği (Şekil 4.8.), buna karşılık, Yüksek 2-İP dozlarında ise yüksek oranda kallus oluşturmaya rağmen yavru soğancık oluşumunu teşvik etmediği görülmüştür.

Çizelge 4.4. Farklı sitokininin tip ve konsantrasyonlarını içeren Orchimax besin ortamının (*Soğancık geliştirme ortamı II*) pul yapraklarından *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkileri

Sitokininler (mg/l)			Embriyonik kallus oluşturan eksplant oranı (%)	Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı (%)	Eksplant başına soğancık sayısı
BAP	2-iP	Zeatin			
-	-	-		13.0 cd	1.07 cd
1.0				0 e	0.0 d
2.0				22.5 cd	2.47 bcd
4.0				32.9 bc	1.37 cd
8.0				23.3 cd	4.80 ab
	1.0			13.0 cd	1.37 cd
	2.0			15.7 cd	0.70 cd
	4.0			3.4 de	0.17 cd
	8.0			20.0 cd	2.20 bcd
		1.0		26.3 c	2.57 bcd
		2.0		21.0 cd	3.03 abc
		4.0		60.7 b	4.47 ab
		8.0		87.0 a	5.60 a
				LSD %1 16.13	LSD %1 2.585



Şekil 4.8. Pul yaprak eksplantlarından 8.0 mg/L Zeatin içeren Orchimax besin besin ortamında (*Soğancık geliştirme ortamı II*) yoğun soğancık oluşumu

(*Soğancık Teşvik Ortamı III*) pul yapraklı soğan eksplantlarından *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkilerine ilişkin varyans analiz sonuçlarına göre, farklı sitokinin konsanrasyonlarının sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı (%)0.01 düzeyinde önemli bulunmuş, eksplant başına soğancık sayısı üzerine etkisi ise önemsiz çıkmıştır. Varyans analizine ilişkin Duncan testi sonuçları Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı % 6.6 % 41.4 arasında değişmiş olup, en yüksek Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı 8.0 mg/L BAP içeren Lindeman Orchid besin ortamında elde edilmiştir (Şekil 4.9). Eksplant başına yavru soğancık sayısı 0.53-3.13 arasında değişmiştir. En yüksek eksplant başına soğancık sayısı (3.13 adet) 8.0 mg/L BAP içeren Orchimax besin ortamında, Sitokinin tiplerinden BAP'ın dört pul yaprak eksplantlarında soğancık oluşumu üzerine etkisi sürgün oranında olduğu gibi diğer sitokinin tiplerinden daha etkili olduğu söylenebilir. Yüksek 2-İP ve Zeatin dozlarında ise yüksek oranda kallus oluşturmalarına rağmen yavru soğancığı tetiklemediği görülmüştür.

Çizelge 4.5. Farklı sitokininin tip ve konsantrasyonlarını içeren Lindeman Orchid besin ortamının (*Soğancık geliştirme ortamı III*) pul yapraklarından *in vitro* soğancık üretimi üzerine etkileri

Sitokininler (mg/l)			Embriyoni kallus oluşturan eksplant oranı (%)	Sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı (%)	Eksplant başına soğancık sayısı
BAP	2-iP	Zeatin			
-	-	-		19.4 ab	0.90 cd
1.0				6.6 b	1.30 bcd
2.0				26.3 ab	2.17 abc
4.0				28.5 ab	1.30 bcd
8.0				41.4 a	3.13 a
	1.0			23.3 ab	1.33bcd
	2.0			13.0 ab	0.90cd
	4.0			39.9 a	1.67bcd
	8.0			30.0 ab	0.77cd
		1.0		16.5 ab	1.50bcd
		2.0		23.3 ab	2.47ab
		4.0		6.6 b	0.53d
		8.0		16.5 ab	1.30bcd
				LSD %1 17.44	LSD %1 1.251



Şekil 4.9. Pul yaprak eksplantlarından 8.0 mg/L BAP içeren Lindeman Orchid besin ortamında (*Soğancık geliştirme ortamı III*) soğancık oluşumu

Temel besin ortamları karşılaştırılacak olursa, Özellikle MS ve Orchimax besin ortamının Lindeman Orchid besin ortamına göre daha erken embriyonik kallus oluşumuna neden olduğu ve bütün sitokinin tip ve konsantrasyonların da bu iki temel ortamın soğancık üretimi bakımından daha uygun olduğu söylenebilir.

Her üç temel besin ortamında kültüre alınan soğan pul yapraklarından, kültüre alındıktan yaklaşık 8-10 hafta bir süre sonra kallus oluşumu olmaksızın ya da pul yapraklarını kenarında düşük bir kallus oluşumundan sonra direk soğancık oluşumunun gerçekleştiği görülmüştür.(Şekil4.10.).



Şekil 4.10. Pul yaprak eksplantlarından kültüre alındıktan 10 hafta sonra büyüme konilerinden kallus oluşumu olmaksızın soğancık oluşumu

4.2.4. *İn vitro*'da gelişen soğancıkların, soğancık olgunlaştırma ortamına alınması ve aklimatizasyon çalışmaları

Kültüre alındıktan 24. haftadan itibaren pul yaprak çevresinde oluşan kallus üzerindeki 2-4 mm çapındaki soğancıklar soğancık olgunlaştırma ortamlarına alınmaya başlamıştır.

Soğancık Olgunlaştırma Ortamı I : MS mineralleri ve vitaminleri + 50 g/l sukroz,, +, 40 g/l mannitol, 1000 mg/l kazein + 7 g/ l agar

Soğancık Olgunlaştırma Ortamı II : Orchimax mineralleri ve vitaminleri + 50 g/l sukroz + 40 g/l mannitol, 1000 mg/l kazein + 7 g/ l agar

Soğancık Olgunlaştırma Ortamı III : Lindeman Orchid Medium + 50 g/l sukroz,, +, 40 g/l mannitol soğancık olgunlaştırma ortamında kültüre alınan soğancıklar genişlereyek büyümeye başlamıştır. Büyüyen soğancıklar birbirinden ayrılarak ve parçalanmıştır ve aynı ortamda alt kültüre alınmıştır. Yaklaşık olarak pul yarıkları izole edilerek besin ortamına alınmasından 7-8 ay yarı gelişkin soğanlar (Şekil 11), 10-12 ay sonra ise arazi

koşularındaki büyüklüğüne ulaşmış (çapı 1.5 cm'den büyük) tam gelişkin soğanlar elde edilmiştir.

Soğancık olgunlaştırma ortamında köklenmeye de başlayan soğancıklar toprağa aktarılmadan önce 4-6 °C'de 3-4 hafta ön üşütmeye tabi tutulmuştur. Daha sonra iklim odasında kompost, torf ve içeren küçük saksılara alınmaya başlamıştır. Soğancıkların nem şartlara uyumu hem de kök sisteminin gelişmesi beklenmiş yaşayan bitkiler aklimatize edilmiştir ve edilmeye devam edilmektedir



Şekil 4.11. Kültüre alındıktan yaklaşık 7-8 ay sonra Soğancık Olgunlaştırma ortamlarındaki yarı gelişkin soğanlar

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Doku kültürü çalışmasına konu olan bitkiye ait yüzey sterilizasyonu için en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi gerekir. Yüksek konsantrasyon ve uzun süreli dezenfektan içerisinde yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılan eksplantların dokuları zarar görerek rejenerasyon kapasitesi düşmekte, hatta eksplantlar ölmektedir. Geofitlerin toprak altı organları (soğan pul yaprakları, korm, tuber, rizom) doku kültürlerinde eksplant olarak kullanıldığından, kontaminasyon problemi çok yüksektir (Uranbey 2009). Bu çalışmada da, çeşitli konsantrasyonlarda çamaşır suyunda ve farklı sürelerde soğanlar yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılmış, 30. günün sonunda süre artırıldıkça bütün dozlarda kontaminasyon oranının azaldığı görülmüştür. % 40 dezenfektan dozu ve 40 dakikalık sterilizasyon süresinin kontaminasyon bakımından uygun olduğu görülmüştür. Ayrıca ana hedef minimum kontaminasyon, maksimum doku canlılığı olduğundan, aynı dozlarda canlılığın % 80 olduğu saptanmıştır. % 40 dezenfektan dozu ve 40 dakikalık sterilizasyon süresinde kontaminasyon % 20'lere kadar düşmüştür.

Doku kültürü çalışmalarda, bitkilerde rejenerasyon önemli problemlerden biri olup, kullanılan tür, genotip, eksplantın yaşı, besin ortamlarının içeriği gibi faktörler rejenerasyon kapasitesini etkilemektedir. Özellikle kullanılan temel besin ortamları ve oksin” ve “sitokinin” tipi ve konsantrasyonları da rejenerasyonu önemli ölçüde etkileyebilmekte olup, çok sayıda farklı tiplerde besin ortamlarında, eksplant tiplerinde ve sitokinin ve oksin konsantrasyonlarında rejenerasyon protokolleri *geliştirilmiştir* *Lilium longiflorum* (Nhut, 1998), *Acampe praemorsa* (Nayak, ve ark., 1997) *Crocus sativus* (Bhagyalakshmi, 1999), *Fritillaria thunbergii* (Paek ve Murthy, 2002), *Sternbergia fischeriana*, (Mirici ve ark., 2005) *Muscari muscarimi*, (Parmaksız ve ark., 2005). Çalışmada öncelikli eksplantlar kallus teşvik ortamına alınmış, çalışmada, gerek aktif kömür kullanılan gerekse kullanılmayan tüm ortamlarda ve tüm temel besin ortamlarında yüksek oranda kallus oluşumu görülmüştür. Ancak aktif kömür kullanılan besin ortamlarında, her iki türde de daha sıkı ve büyük kallus oluşumu dikkat çekmiştir. 2-4-D'nin pek çok doku kültürü çalışmasında tercih edilen bir oksin analogu olması nedeniyle, kallus teşvik ortamında kullanılmasına karar verilmiştir. Bu

çalışmada ğal üreme hızı düşük olan endemik *Hyacinthella micrantha* türünde, pul yaprakları, çeşitli temel besin ortamları (MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Medium), 0.1 mg/l NAA + 40 g/l sukroz, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0 mg/l BAP, Zeatin ve 2-İP + 7 g/l agar içeren sürgün ve soğancık teşvik ortamı ortamında kültüre alınmıştır. farklı temel besin ortamları (MS, Orchimax ve Lindeman Orchid Medium ve hormon konsantrasyonlarında (BAP, Zeatin ve 2-İP) kültüre alınan *Hyacinthella micrantha* türünden *in vitro* kültürü ile geniş ölçekli soğancık üretimi yapılmıştır. En yüksek sürgün/soğancık oluşturan eksplant oranı (% 87) ve en yüksek eksplant başına yavru soğancık sayısına (5.60 adet) yine 8.0 mg/L Zeatin içeren Orchimax besin ortamında saptanmıştır. MS ve Orchimax besin ortamının Lindeman Orchid besin ortamına göre daha erken embriyonik kallus oluşumuna neden olduğu ve bütün sitokin tip ve konsantrasyonlarında bu iki temel ortamın soğancık üretimi bakımından daha iyi sonuçlar verdiği, görülmüştür. Yüksek oranda *in vitro* soğancık üretimi için pul yaprakların çok uygun eksplant olduğu söylenebilir. Benzer olarak *M.azureum*'da iki pul yapraklı eksplantlardan için en yüksek eksplant başına soğancık sayısı (8.77 adet) 2 mg/l KIN içeren Orchimax besin ortamından elde edilirken, dört pul yapraklı eksplantlardan da ise en yüksek eksplant başına soğancık sayısı (4.8 adet) 1 mg/l BAP Orchimax besin ortamından saptanmıştır. (Uranbey vd. 2009). Benzer olarak, *M.azureum* ve *M.aucheri*' de türlerin de kullanılan temel besin ortamları içinde MS ve Orchimax besin ortamı sürgün ve soğancık oluşumu bakından öne çıkmıştır (Uranbey 2009; Uranbey vd. 2010). Ayrıca bu çalışmada Buna karşılık, sitokin kaynağı olarak BAP ve Zeatinin tüm doz ve konsantrasyonların da diğer sitokin kaynaklarından 2-İP'ye göre daha stabil, daha fazla daha fazla sağlıklı ve daha az camsı soğancık üretimi gerçekleştiği söylenebilir. BAP etkili bir sitokin kaynağı olarak pek çok geotifin mikro üretiminde kullanılmaktadır. Nhut (1998), zambak (*Lilium longiflorum*)'ın gövde nodlarından 1, 2,3 µM BA içeren ortama aldığı da çok sayıda sürgün oluştuğunu, belirtmiştir. Ayade ve Sumi (1998), sarımsak (*Allium sativum* L.) gövde disklerini 0,1 mg/l NAA ve 0,1 mg/l BA içeren ortamda kültüre alındığında 2 hafta sonra her bir eksplanttan çok sayıda sürgün ucu geliştiğini, Suzukı ve Nakano (2001a) yaptıkları çalışmada, *Muscari armeniacum*'da büyük, sarımsı ve nodular kallus kallusların 0.44-44 µM IBA içeren ortama transfer edildiğinde yüksek oranda sürgün oluşumu meydana geldiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda görüldüğü gibi, Zeatin de

sitokinin kaynağı olarak kullanıldığında *in vitro* soğancık üretimini ciddi bir şekilde teşvik etmiştir. Benzer olarak, *Lilium nepalense*'de yapılan bir çalışmada olgunlaşmamış soğanlardan hazırlanan çift soğan pul yaprak eksplantları 20 µM Zeatin içeren MS ortamında kültüre alınmış ve çok sayıda sürgünler edilmiştir.

Bu çalışma ile de ülkemizde doğal olarak yetişen ve endemik olan *Hyacinthella micrantha* türü ilk defa doku kültürü yöntemiyle çoğaltılmış olup, farklı temel besin ortamları kültüre alınan *Hyacinthella micrantha* türünün *in vitro* kültürü ile geniş ölçekli ve yüksek frekansta *in vitro* soğancık üretimi başarılmıştır.

Başarılı sonuçlar alınan bu çalışma, diğer *Hyacinthella* türlerinin de doku kültürü çalışmalarında başarılı sonuçlar vereceği umudunu doğurmuştur. Yapılan bu çalışmanın bundan sonra yapılacak olan çalışmalara esin kaynağı olması beklentisindeyiz. Bu çalışmanın bir son değil bir başlangıç olması tek dileğimiz.

KAYNAKLAR

- Akhtar, M.N.,Atta-ur-Rahman,Choudhary,M.I., Sener, B.,Erdoğan, I. ve Tsuda, Y. 2003 New class of steroidal alkaloids from *Fritillaria imperialis* Phytochemistry. Vol. 63: pp. 115-122
- Akhtar, M.N., Atta-ur-Rahman, Choudhary, M.I., Sener , B., Erdoğan, I. ve Tsuda,Y.2002. New class of steroidal alkaloids from *Fritillaria imperialis*.Phytochemistry.Vol. 63: pp. 115-122.
- Anonymous.2006. Web sitesi: www.giftplazen.com,Erişim tarihi: 12.05.2006
- Arslan, N. 1999. Güneydoğu tarımına kazandırılabilcek iki bitki Adıyaman lalesi ve ağlayan gelin. GAP 1. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, 629-634, Şanlıurfa.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşcü, A., Sarıhan, E.O., İpek, A., Özcan, S., Mirici, S., Parmaksız, İ. 2002. “*Sternbergia Candida* Mathew Et, Baytop Türünün Kültüre Alınması Üzerinde Araştırmalar.”[Bildiri]. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Özcan, S., Mirici, S., Gümüşcü, A., ve Parmaksız, İ. 2003. *Sternbergia candida* ve *Sternbergia fischeriana* Türlerinin Kültüre Alınması ve Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar.TÜBİTAK Projesi Proje No; TOGTAG-1843, Kesin Sonuç Raporu,Ankara.
- 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 Pep. 17; 773-779.
- Atalay, İ. 1994. Türkiye Vejetasyon Coğrafyası. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
Ayade M, Sumi S, (1998). Establishment of a Novel Tissue Culture Method, Stem-Disculture, and Its Pratical Application to Micro Propagation of Garlic (*Allium Sativum* L.). Plant Cell Pep. 17: 773-779.
- Ayade, M., Sumi, S., Establishment of a Novel Tissue Culture Method, Stem-Disc Culture, and its Practical Application to Micropropagation of Garlic (*Allium sativum* L.), *Plant Cell Pep.*, 17, 773–779, (1998).
- Babaoğlu M, Yorgancılar M, Akbudak M. (2001). Ed. Özcan. Doku Kültürü Uygulamaları (s.1). Konya: Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları.
- Bach A, 1992. Micro Propagation of *Hyacinths* (*Hyacinthus Orientalis* L.). High-Tech and Micro Propagation, Vol 4. Springer, Berlin Heidelberg New York, 244-259.
- Bailey, L.H. 1996. *Manual of cultivated plants*. Mac Millan Company.New York, pp. 218-219.

- Baytop, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255.
- Bhagyalakshmi, N., Factors Influencing Direct Shoot Regeneration from Ovary Explants of Saffron. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 58, 205-211, (1999).
- Borochoy, A., Spiegelstein, H. ve Weiss, D. 1997. ISHS Acta Horticulturae 430: VII International Symposium On Flowerbuds. Dormancy and Storage of Geophytes 1 Aralık 1997.
- Chang, C., Chen, C-T., Tsai Y-C. ve Chang W.C. 2000 A tissue culture protocol of a rare plant, *Lilium speciosum* Thunb. var *gloriosoides* Baker. Bot. Bull. Sin. Vol:41:pp. 139-142.
- Chu, C.C., Wang, C.C. ve Sun, C.S. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. Sci. Sin. Vol:18; pp. 659-668.
- Çakırlar, H., Tıprıdamaz, R. ve Ellialtıoğlu, Ş. 1994. Türkiye’de Ticari Deđeri Olan *Galanthus* (*G. Elwesii* Hooker Fil. ve *G. İkariae* Baker.) Türlerinin Doku Kültürü Yoluyla Üretimi. TÜBİTAK projesi. Proje no; TBGAG-19/A, Ankara.
- Davis PH 1988 Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 10, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Dilik, M. 2006. Şemdinli lalesi (*Fritillaria imperialis*) ve Adıyaman lalesi (*F. Persica*)’nin doku kültürüyle çoğaltılması. Yüksek Lisans Tezi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Doğan-Kalyoncu, D. 2007 Bazı Yabancı Tulipa türlerinde *In Vitro* soğancık üretimi ve tarla şartlarına adaptasyonu, Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. Ankara.
- Erik S, Tarıkahya B. 2004 Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç* 17, 139-163.
- Famelaer L., Ennik E, Creemers-Molenaar J., Eikelboom W., ve Van Tuyl J.M. 2000 Initiation and Establishment of Long-Lived Callus And Suspension Cultures of *Tulipa praestans*. ISHS Acta Horticulturae 508: XIX International Symposium on Improvement of Ornamental Plants.
- Gao, S.L., Zhu, D.N., Cai, Z.H., Jiang, Y. And Xu, D.R. 1999. Organ culture of a precious Chinese medical plant *Fritillaria* and *bracteata*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59:3, 197-201.
- Girmen, M. 1986. Untersuchungen zur *in vitro* Kultur von Geophyten, Dissertation dire Univ. Hannover.

- Güner, A., Özhatay, H., Ekim, T. ve Başer, K.H.C. 2000. Flora of Turkey and the east Aegean Island. Edinburgh University Pres, Edinburgh, (11): 243, 246-247.
- Heywood, V.H. 1978. Flowering plants of the world. Oxford Univ. Pres, London, 309-314.
- Hussey, G., 2000. Totipotency in Tissue Explants and Callus of Some Members of the *Liliaceae*, *Iridaceae*, and *Amaryllidaceae*, Journal of Experimental Botany Volume 26, Number 2 pp. 253-262.
- Kaneo, K., Katsuhara, T., Kitamura, Y., Nishizawa, M., Chen, Y.P. ve Hsu, H.Y. 1988. New steroidal alkaloids from the chinese herb drug 'bei-mu'. Chem. Pharm. Bull. Vol:36, pp.4700-4705.
- Karagüzel, O., 2008. Kesme Çiçek Sektöründe Araştırma- Geliştirme (ARGE). Standart, Ekonomik ve Teknik Dergi Y/47, N/555, s.35-41
- Karagüzel ve ark., 2001. Bitkisel Üretim Özel İhtisas Komisyonu Süs Bitkileri Alt Komisyonu Raporu Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı. Yayın No: DPT:2645-ÖİK:653
- Karaoğlu 2008. Bazı *Sternbergia* türlerinde doku kültürleriyle soğancık üretimi ve dış koşullara alıştırılması, Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Karaoğlu, C. 2004. Göl Soğanı (*Leucojum aestivum L.*)'nin *In Vitro* Koşullarında Hızlı Çoğaltımı, Yüksek Lisans Tezi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Kitajima, J., Noda, N., Ida, Y., Miyahara, K. ve Kawasaki, T. 1981. Steroidal alkaloids of fresh bulbs of *Fritillaria thunbergii* and of crude drug (bai-mo) prepared therefrom. *Heterocycles*. 15, 791-796.
- Koch, L. 1974. Untersuchungen zur vegetativen Vermehrung bei Phanaeopsis in vitro. Dissertation der Univ. Hannover.
- Koyuncu, M. ve Ekim, T. 1987. Türkiye'nin İhraç Ettiği Geofitler ve Bunların Ekonomik Önemi. V. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Kitabı:45-52.
- Kukulczanka, K., Kromer, K. ve Czastka, B. 1989. Propagation of *Fritillaria meleagris* L. Through tissue culture. Acta-Horticulture. Proceedings of a Symposium on Growth Regulators in Ornamental Horticulture, Skierniew, 147-153.
- Lehsem B, Lilien-Kipnis H, ve Steintz B, 1982. The effect of Light and of Explant Orientation on The Regeneration and Subsequent Growth of Bulblets on *Lilium*

- Longiflorum* Thunb. Bulb-Scalesections cultured *in Vitro*. Scientia Hort. 17: 129-136.
- Liu, Y., Wang, W. ve Li, Z. 1996. Experiment on the rapid reproduction of *Fritillaria taipaiensis* P.Y. Li. PubMed – indexed for Medline. Jan;21(1):15-7, 663.
- Mathew B, Baytop T, 1984. The Bulbous Plants of Turkey. London. Batsford Ltd
- Mirici, S., Parmaksız, İ., Özcan, S., C., Sancak., Uranbey, S., Sarıhan, E. O., Gümüşcü, A., Gürbüz, B. ve Arslan, N. 2005. Efficient *in vitro* bulblet production from immature embryos of endangered *Sternbergia fischeriana*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 80; 239-246.
- Murashige, T. ve Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant.15:473-497.
- Naik, P.K. ve Nayak, S. 2005. Different modes of plant regeneration and factors affecting *in vitro* bulblet production in *Ornithogalum virens*. Science Asia 31;409-414.
- Nayak, N.R., Patnaik, S., Rath, S.P. Direct Shoot Regeneration from Foliar Explants of an Epiphytic Orchid, *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and McCann, *Plant Cell Rep.*, 16, 583-586, (1997).
- Niimi, Y. 1985. Factors Affecting the Regeneration and Growth of Bulblets in Bulb-Scalecultures of *Lilium Rubellum* Baker J. Jap. Hort. Sci. 54:82-86.
- Nhut, D.T., Micropropagation of Lily (*Lilium longiflorum*) Via *in vitro* Stem Node and Pseudo-Bulblet Culture, *Plant Cell Pep.*, 17, 913-916, (1998).
- Okhawa, W. ve Kitajima, J. 1998. Studies on the propagation of *Fritillaria camtschatcensis* Ker-Gawl. by *in vitro* culture. I. Characteristics of sprouting, leafiness, flowering and new bulb formation from mother-bulb and bulblet formation from small globule-scale. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 67:2, 242-248.
- Özcan, S. 2002. Effect of different genotypes and auxins on efficient somatic embryogenesis from immature zygotic embryo explants of maize. Biotechnology & Biotechnological Equip. 16 (2); 51-57
- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S. ve Draper, J. 1993. Efficient Adventitious Shoot Regeneration and Somatic Embryogenesis in Pea. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 34; 271-277.
- Özhatay, N., Byfield, A. ve Atay, S. 2003. Türkiye'nin Önemli Bitki Alanları WWF Türkiye Doğal Hayatı Koruma Vakfı Yayınları, S. 88. İstanbul.

- Paek K.Y, Sung, N.S., Park, C.H., Tozai, K., Kubota, C., Fujiwara, K., Ibaraki, Y. ve Sase, S. 1996. Several factors affecting bulbet regeneration from the culture of scale segment and node-bud *in fritillaria* as medicinal bulbous plant. International Symposium on Plant Production in Closed Ecosystems. Automation, Culture and Environment, Narita, Japan. Acta-Horticulturae, 440, 498-503.
- Paek, K.Y. ve Murthy, H.N. 2002. High frequency of bulbet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 68:3, 247-252.
- Parmaksız, İ., Çöçü, S., Uranbey, S., Mirici, S., Özcan, S., Sancak, C., Sarihan, E.Ö., İpek, A., Kaya, M.D., Arslan, N., Tehlike Altındaki Endemik *Muscari muscarimi* Türünde Olgunlaşmamış Embriyolardan *in vitro* Hızlı Soğancık Üretimi. 14. Biyoteknoloji Kongresi. 31 Ağustos- 2 Eylül, Eskişehir, (2005).
- Perry, L.M. 1980. Medicinal Plant of East and South East Asia. MIT Pres, Cambridge, MA, pp. 236-237.
- Rice RD, Alderson PG, Wright NA 1983. Induction of Bulbling of Tulip Shoots in Vitro. Sci. Hortic. 20:377-390.
- Rix, M. ve Phillips, R.1981. The bulb book. Londra.
- Ronsted, N., Law, S., Thorton H., Fay, M.F. ve Chase, M.W. 2005.Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *fritillaria* and *Lilium* (*Liliaceae*; *Liliales*) and the infrageneric classification of *Fritillaria*. Moleculer Phylogenetics and Evolution. 35: 509-527.
- Sancak, C., Mirici, S. ve Özcan, S. 2000. High frequency shoot regeneration from immature embriyo explants of Hungarian vetch (*Vicia pannonica Crantz*). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 61; 231-235.
- Satıl F, Akan H 2006. *Liliaceae* Familyasından Bazı Endemik ve Nadir Geofitler Üzerinde Anatomik Araştırmalar. Ekoloji 58, 21-27.
- Say, B. Sayın, C., 2004. Türkiye Süs Bitkileri Üretim ve Pazarlama Yapısının AB'ne Uyum Açısından Değerlendirilmesi, Türkiye VI. Tarım Ekonomisi Kongresi, 16-18 Eylül, Tokat.
- Schact, N. 1995. Blumenzwiebeln für Garten und Heim. Ulmer, Stuttgart, 171p.
- Schenk, R.U. ve Hildebrant, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot., 50: 199-204.
- Selles, M., Viladomat, F., Bastida, J. ve Codina, C. 1999. Callus induction, somatic embryogenesis and organogenesis in *Narcissus confusus*: correlation between

- the state of differentiation and the content of galanthamine and related alkaloids. *Plant Cell Rep.*18; 646-651.
- Shibli, R.A. ve Ajlouni, M.M. 2000. Somatic embriyogenesis in the endemic black iris: *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.* 61; 15-21.
- Snedecor, G.W. ve Cochran, W.G. 1967. *Statistical Methods*. The State University Press, Iowa, USA.
- Squires W.M, Langton F.A, Fenlon J.S 1991. Factor in Fluencing the Transplantation Success of Micro Propogated Narcissus Bulbils, *J. Hort. Sci.* 66: 661-671.
- Stimart D.P, Ascher P.D, Wilkins H.F 1982. Over Coming Dormancy of *Lilium Longiflorum* Bulblets Produced by Tissue Culture. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 107: 1004-1007.
- Suzuki, S., Nakano, M., Organogenesis and Somatic Embryogenesis from Callus Cultures in *Muscari armeniacum* Leicht. ex Bak. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 37,382-387, (2001a)
- Taeb, A.G, Alderson P.G 1990. Shoot Production and Bulbling of Tulip *in Vitro* Related to Ethylene, *J. Hort. Sci.* 65: 199-204.
- Tan, F.P. ve Gao, S.L. 1999. The effect of growth regulators on growth of cultured bulbets of *Fritillaria unibracteata* Hisao et K.C. Hsia. *Journal of Plant Resources Environment* 8:1, 52-55.
- Tang, W. 1995. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaflets of *Fritillaria ussuriensis* M. *Journal of Northeast Agricultural University English edition*, 2:2, 152-155.
- Tang, W. ve Wu, J.Y. 1993. Studies on somatic embryogenesis in *Fritillaria ussuriensis*. *Acta Agronomica Sinica*, 19:2, 188-189.
- Tang, W., Gui, Y.L. and Guo, Z.C. 1995. A study of morphogenesis in *Fritillaria ussuriensis* Maxim. *Research of Agricultural Modernization*, 16:4, 267-269.
- Tekşen, M. 2004. Akdeniz Bölgesindeki (Türkiye) *Fritillaria L. (Lilliacea)* Cinsinin Revizyonu. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi(Basılmamış), 165 s., Ankara.
- Tıprıdamaz, R. 2003. Rooting and acclimatization of in vitro micropropagated snowdrop (*Galanthus ikariae* baker.) Bulbets Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(2), 121-126.
- Tıprıdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş., Çakırlar, H., Kardelenin 1999. “*Galanthus ikariae* Baker - Doku Kültürü Yoluyla Çoğaltımı: Eksplant Tipi, Ortam pH’sı ve

- Karbonhidrat Kaynağının Soğancık Oluşumuna Etkisi”. *Agriculture and Forestry* (4): 823-830.
- TÜBİTAK 2002. *Stenbergia Candida* ve *Stenbergia Fischeriana* Türlerinin Kültüre Alınması ve Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Ankara: TÜBİTAK.
- Uluğ, B.V. 1997. Adıyaman Lalesi (*Fritillaria persica* L.) Soğanlarının Değişik Vejetatif Yöntemlerle Üretilmeleri ve Farklı Ekolojilerin Yavru Soğan Gelişmesine Etkileri Üzerine Araştırmalar. Tekirdağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Uranbey, S., 2009. Endemik ve tehlike altında bulunan *Muscari azureum* ve *Muscari aucheri*'nin kültüre alınması ve In Vitro Hızlı Çoğaltımı. Tübitak sonuç raporu (106 0 034) (Basılmamış).
- Uranbey S. (2010). “In Vitro Bulblet Regeneration From Immature Embryos of *Mazureum*”. *Af. Journal of Biotechnology*, 9(32): 5121-5125.
- Uranbey S, İpek A, Çalışkan M, Dündar E, Çöçü S, Başalma D , Güneyliloğlu H. 2010. *In vitro* bulblet induction from bulb scales of endangered ornamental plant *Muscari azureum*. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 24(2): 1843-1848.
- Uzmay A, Durmaz S, Örümlü A.E (2001). “Mordoğan'da Nergis (*Narcissus Poeticus*) Yetiştiriciliği Üzerine Bir Araştırma”. *E.Ü. Ziraat Fak. Dergisi*, 38 : 39-46.
- Van Leeuwen, P.J., Van der Weijden, J.A. (1997). “Propagation of Specialty Bulbs by Chipping”. *VII. International Symposium on Flowerbulbs*. İsrail: Acta Horticulturae İSHS.
- Vasil, V., Srivastava , V., Castilo, A.M., Fromm, M.E. ve Vasil I.K. 1993. Rapid productionof transgenic wheat plants by direct bombardment of cultured immature embryos. *Biotechnology*; 1553-1558.
- Wang, S.Y., Gao, W., Chen, H. ve Xiao, P. 2005. New starches from *Fritillaria* species medicinal plants *Carbohydrate Polymers*, xx (In Press), 1-4.
- Wawrosch, C., Malla, P.R. ve Kopp, B. 2001. Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, a threatened medicinal plant of Nepal, *Plant Cell Rep.* 20; 285-288.
- Witomska, M., Wilk, T. ve Lukaszewska, A. 1998. Effect of sterilization method on infection level and regeneration *in vitro* of explants of *Fritillaria imperialis* L. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa Kwaciarsstwa Skierniewicach*, 5: 121-130
- Yamagishi, M. 1991. *In vitro* propagation of triploid *Fritillaria camtschaticensis* (L.) – Gawler. *Bulletin of Research Institute of Agricultural Resources, Ishikawa Agricultural College*, 2, 19-26.

- Zaidi, N., Khan, N.H., Zafar, F. ve Zafar, S.I. 2000. Bulbous and Cormous monocotyledonous ornamental plants *in vitro* Science vision. 6(1): 58-73.
- Zhang, H., Chen, Z. ve Yang, L. 1995. Organ regeneration and somatic embryogenesis from young stems of *Fritillaria sinica*. PubMed- indexed for Medline. Mar; 26 (1): 33-7.
- Ziv, M. ve Lilien-Kipnis, H. 2000. Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. Plant Cell Rep. 19: 845-850.
- Zomlefer WB (1993) Guide to Flowering Plant Families. The University of North Carolina, London.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Birol BULUT

Doğum Yeri : Gölbaşı/Ankara

Doğum Tarihi : 28.03.1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : birol-79@hotmail.com

Eğitim Durumu:

Lise : Dr. Şerafettin Tombuloğlu Lisesi, 1998

Lisans : Gazi Üniversitesi Eğitim Bölümü, 2002

Yüksek Lisans : Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman

Anabilimi Dalı, 2012