

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

***FRITILLARIA IMPERIALIS* L. ve *FRITILLARIA PERSICA* L. TÜRLERİNDE *IN VITRO* SOĞANCIK ÜRETİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Derya GÜRLEK

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2011**

Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

FRITILLARIA IMPERIALIS L. VE *FRITILLARIA PERSICA* L. TÜRLERİNDE *IN VITRO* SOĞANCIK ÜRETİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Derya GÜRLEK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN

Ülkemiz genetik çeşitliliğinde önemli bir yere sahip olan ve geofit olarak adlandırılan soğanlı bitkiler; içermiş oldukları alkaloidler ve sahip oldukları güzel çiçeklerden dolayı parfümeri ve ilaç sanayisi ile süs bitkisi olarak önemli bir potansiyele sahiptir. *Liliaceaea* familyasına dahil olan *Fritillaria* cinsine ait *Fritillaria imperialis* ve *F. persica* (Siverek ve Mersin kökenli) türlerinde *in vitro* soğancık üretimi ve dış koşullara adaptasyonla ilgili çalışmalar yapılmıştır. *F. imperialis* ve *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarından, Siverek kökenli *F. persica*'nın *in vitro*'dan elde edilen yaprak, yaprak saplarından ve *in vitro*'da çimlendirilen tohumlardan gelişen soğancıkların kültüründen yüksek oranlarda soğancıklar elde edilmiştir. Olgunlaşmamış embriyolar farklı oranlarda oksin ve sitokinin içeren MS (tek aşamalı protokol) ve N₆ (4 aşamalı protokol) besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Tek aşamalı protokolde kültür başlangıcından 14 ay sonra Mersin kökenli *F. persica* ve *F. imperialis*'te eksplant başına en fazla soğancık sırasıyla 30.85 ve 7.22 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Siverek kökenli *F. persica*'da ise eksplant başına en fazla (12.62 adet) soğancık 2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Dört aşamalı protokol uygulanarak eksplant başına en fazla soğancık 23.70 adet ile karanlık ortamda Mersin kökenli *F. persica*'dan elde edilmiştir. Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak ve yaprak saplarının kültüründe en fazla soğancık 21 adet ile yaprak sapı eksplantından 6 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. *In vitro*'da Siverek kökenli *F. persica*'nın tohumlarının çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültüründe en fazla soğancık 22.86 adet ile 2 mg/l TDZ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. *In vitro*'da üretilen soğancıkların dış koşullara aktarılmasında değişik uygulamalar yapılmış olup, 10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında 15 günlük muamele sonucunda dış koşullara aktarımda en iyi sonuçlar alınmıştır. Toprağa aktarılan soğancıklar 2 yıl canlılıklarını devam ettirseler de daha sonra gelişmemişlerdir.

Eylül 2011, 146 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Fritillaria persica* L., *Fritillaria imperialis* L., ters lale, geofit, mikroüretim, *in vitro*, soğancık

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

STUDIES ON *IN VITRO* BULBLET REGENERATION IN *FRITILLARIA IMPERIALIS* L. AND *FRITILLARIA PERSICA* L. SPECIES

Derya GÜRLEK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN

Turkey has great genetic diversity of bulbous plants (geophytes) with beautiful flowers used as an ornamental plant and also contained alkaloids which has considerable usage potential in perfume and pharmaceutical industry. The study reports *in vitro* propagation and acclimatization of *Fritillaria imperialis* and *F. persica* of Liliaceae family. Bulblets production was obtained from immature embryos leaves, prtiotes and *in vitro* grown bulblets of *Fritillaria imperialis* and *F. persica*. Immature embryos were cultured on MS (one-step protocol) and N6 (4-step protocol) nutrient medium containing different concentrations of auxins and cytokinins. After 14 months of culture using single-stage culture protocol, maximum of 30.85 and 7.22 bulblets per explant of *F. imperialis* (Mersin origin) and *F. persica* were recorded on MS medium containing 0.5 mg/l TDZ and 0.5 mg/l NAA respectively. Whereas, maximum of 12.62 bulblets per explant of *F. persica* (Siverek origin) were recorded on MS medium containing 2 mg /l Kinetin. Using 4-stage protocol, maximum of 23.70 bulblets per explant of *F. persica* (Mersin origin) were obtained under darkness. Maximum of 21.0 bulblets per explant of *F. persica* (Siverek origin) from petiole was obtained on MS medium containing 6 mg/l 2,4-D and 0.2 mg /l, whereas, 22.86 bulblets were obtained on MS medium containing 2 mg/l TDZ using *in vitro* grown bulblets from seeds of *F. persica* (Siverek origin). Regenerated bulblets were treated with different concentrations of KCl, NaCl and CaCl₂ salts and treatment with 10 g/l NaCl followed by transfer to greenhouse conditions after 15 days were supposed to be more suitable for acclimatization. Bulblets transferred to soil continued to remain alive upto 2 years but could not develop further.

September 2011, 146 pages

Key Words: *Fritillaria persica* L., *Fritillaria imperialis* L., crown imperial, geophytes, micropropagation, *in vitro*, bulblets

TEŞEKKÜR

“*Fritillaria imperialis* ve *F. persica* türlerinde *in vitro* soğancık üretimi üzerine araştırmalar” konulu araştırmayı doktora tezi olarak veren, çalışmalarım da beni yönlendiren, araştırmamın her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN’a (A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü), bitki materyallerinin temininde yardımcı olan ve her konuda kendisine danışma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Neşet ARSLAN’a (A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü), laboratuvar çalışmalarının her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren kıymetli hocalarım Prof. Dr. Cengiz SANCAK (A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü), Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU (A.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü), Prof. Dr. Serkan URANBEY (Çankırı Karatekin Üniversitesi Biyoloji Bölümü), Yrd. Doç. Dr. Satı ÇÖÇÜ (E.Ü. Seyrani Ziraat Fakültesi), Prof. Dr. Khalid M. KHAWAR (A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü) ve Yrd. Doç. Dr. Arif İPEK’e (Çankırı Karatekin Üniversitesi Biyoloji Bölümü), teşekkürü bir borç bilirim. Aynı zamanda çalışmalarım boyunca olduğu gibi tez yazım aşamasında da sabırla beni dinleyen ve bana her konuda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Muhammad AASIM’a (Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyoloji Bölümü), laboratuvar çalışmalarım boyunca bana yardımcı olan değerli arkadaşım Zir. Yük. Müh. Hande ÖZAT’a ve arkadaşlarım Dr. Derya GÜLOĞLU, Dr. Sheyda DANESHVAR, Yrd. Doç. Dr. Sevil SAĞLAM, Dr. Cuma KARAOĞLU ve ismini saymadığım tüm arkadaşlarıma, tarla teknisyenimiz sayın Arslan ÖKSEL’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Eğitim hayatım boyunca bana her türlü desteği sağlayan, göstermiş oldukları sonsuz hoşgörü ve fedakârlıklarından dolayı sevgili anneme, babama ve kardeşlerime en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Derya GÜRLEK

Ankara, Eylül, 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1 Materyal.....	20
3.2 Yöntem.....	21
3.2.1 Besin ortamı ve doku kültürü koşulları.....	21
3.2.2 Eksplant izolasyonu.....	23
3.2.3 Eksplant sterilizasyonu.....	23
3.2.4 Tohumların <i>In vitro</i> 'da Çimlendirilmesi.....	26
3.2.5 Doku Kültürü Tekniğinin Yapılışı.....	26
3.2.6 Köklendirme çalışmaları.....	30
3.2.7 <i>In vitro</i> 'da üretilen soğancıkların olgunlaştırılması ve dış şartlara alıştırılması.....	30
3.2.8 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi	31
4. BULGULAR.....	32
4.1 <i>F. imperialis</i> ve <i>F. persica</i> Tohumlarının <i>In Vitro</i> Çimlendirilmesi.....	32
4.1.1 <i>F. imperialis</i> tohumlarının <i>in vitro</i> 'da çimlendirilmesi.....	32
4.1.2 Siverek orijinli <i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesi.....	34
4.1.3 Mersin orijinli <i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesi.....	36
4.2 <i>Fritillaria imperialis</i> 'te <i>In Vitro</i> Soğancık Elde Edilmesi.....	36
4.2.1 <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyolarının kültürü.....	36
4.2.2 <i>F. imperialis</i> 'in etli soğan pul yapraklarının kültürü.....	50

4.2.3	Yaprak ve yaprak sapı kültürü.....	51
4.3	Siverek kökenli <i>Fritillaria persica</i> 'da <i>In Vitro</i> Soğancık Elde Edilmesi.....	51
4.3.1	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarının kültürü.....	51
4.3.2	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın etli soğan pul yapraklarının kültürü.....	67
4.3.3	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgun tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültürü.....	68
4.3.4	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın <i>in vitro</i> 'da gelişen soğancıklarının yaprak ve yaprak saplarının kültürü.....	73
4.3.5	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü.....	79
4.4	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'da <i>In Vitro</i> Soğancık Elde Edilmesi.....	80
4.4.1	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarının kültürü.....	80
4.4.2	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın etli soğan pul yapraklarının kültürü.....	94
4.5	<i>F. imperialis</i> ve <i>F. persica</i> 'nın Olgunlaşmamış Embriolarından Dört Aşamalı 2. Protokol ile Soğancık Eldesi.....	95
4.6	Siverek Kökenli <i>F. persica</i> 'nın <i>In vitro</i> 'da Üretilen Soğancıkların olgunlaştırılması ve Dış Koşullara Alıştırılması.....	103
4.6.1	Agar ve gelritin etkisi.....	103
4.6.2	Farklı tuzların ve oranlarının etkisi.....	109
4.6.3	Farklı sıcaklıklarda agar, gelrit ve aktif kömür uygulamasının etkisi.....	115
4.6.4	Siverek kökenli <i>F.persica</i> 'ya ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması.....	121
4.6.5	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması.....	128
4.6.6	<i>F. imperialis</i> 'e ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması.....	130

5.	TARTIŞMA ve SONUÇ.....	132
5.1	<i>Fritillaria</i> tohumlarının <i>in vitro</i> 'da çimlendirilmesi.....	132
5.2	Olgunlaşmamış Embriyolardan Soğancık Oluşumu.....	133
5.3	<i>F. imperialis</i> , <i>F. persica</i> 'nın Soğan Pul Yapraklarının Kültürü.....	135
5.4	Olgunlaşmış Tohumların <i>In Vitro</i> 'da Çimlendirilmesiyle Gelişen Soğancıkların Kültürü	136
5.5	<i>In vitro</i> 'da gelişen Soğancıkların Yaprak ve Yaprak Saplarının Kültürü	136
5.6	Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü.....	137
5.7	<i>In Vitro</i> 'da Üretilen Soğancıkların Olgunlaştırılması ve Dış Koşullara Alıştırılması	137
	KAYNAKLAR.....	139
	ÖZGEÇMİŞ.....	145

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BA, BAP	6-Benzilaminopurin
2,4-D	2,4 Diklorofenoksi asetik asit
A.K	Aktif kömür
ACC	1-aminosiklopropan-karboksilik asit
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
CITES	Nesli Tehlikede Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme
g, mg, µg	gram, milligram, mikrogram
GA ₃	Giberellik asit
IAA	Indol-3-asetik asit
IBA	Indol-3- butirik asit
K.O	Kareler ortalaması
KCl	Potasyum klorür
KTO	Kallus teşvik ortamı
l, ml, µl	litre, mililitre, mikrolitre
M, µM	Molar, Mikro Molar
mm, cm	Milimetre, santimetre
MS	Murashige ve Skoog temel besin ortamı
MSO	Büyüme düzenleyici içermeyen Murashige ve Skoog temel besin ortamı
NAA	α-Naftelin asetik asit
NaCl	Sodyum klorür
PPM	PPM (Plant Preservative Mixture)
S.D	Serbestlik derecesi
SGO	Soğancık geliştirme ortamı
SOGO	Soğancık olgunlaştırma ortamı
SOO	Soğancık olgunlaştırma ortamı
TDZ	Thidiazuran (1 Phenil 3- (1,2,3-thidiazol 5yL urea)
V.K	Varyasyon Kaynakları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1	A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen <i>F. imperialis</i> bitkileri.....	20
Şekil 3.2	A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen Siverek kökenli <i>F. persica</i> bitkileri.....	20
Şekil 3.3	A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen Mersin kökenli <i>F. persica</i> bitkisi.....	21
Şekil 3.4	<i>F. persica</i> 'ya ait olgunlaşmamış embriyoları içeren tohumların yüzey sterilizasyonu ve sterilizasyondan sonra tohumdan çıkarılan embriyoların besin ortamına alınması.....	24
Şekil 4.1	<i>F. imperialis</i> tohumlarının 2-3 ay içerisinde 4 °C'de çimlenmesi (solda) ve 16 °C'ye alınmış tohumların sürgün ve soğancık oluşturması (sağda).....	33
Şekil 4.2	<i>F. persica</i> (Siverek orijinli) tohumlarının 2-3 ay içerisinde 4°C'de çimlenmesi (solda) ve 16 °C'ye aktarılmış tohumların sürgün ve soğancık oluşturması (sağda).....	35
Şekil 4.3	<i>Fritillaria</i> tohumlarının filtre kağıdı arasında çimlenmesi.....	36
Şekil 4.4	<i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 1 ay sonra 0.25 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında kallus oluşumu.....	37
Şekil 4.5	<i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantları üzerinde 5 ay sonra 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün gelişimi.....	37
Şekil 4.6	Kültür başlangıcından 14 ay sonra 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda olgunlaşmamış <i>F. imperialis</i> embriyolarından soğancık oluşumu.....	40
Şekil 4.7	<i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyolarından 14 ay sonra 0.5 mg/l TDZ içeren besin ortamında oluşan soğancıklar.....	42
Şekil 4.8	Kültür başlangıcından 4 ay sonra 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında <i>F. imperialis</i> embriyolarından soğancık oluşumu.....	44

Şekil 4.9	<i>F. imperialis</i> 'in soğanlarının yüzey sterilizasyonundan 1 hafta sonra gözlenen bulaşıklık durumu.....	51
Şekil 4.10	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından kültür başlangıcından 1 ay sonra küçük-sert kallus ve meristematik uçların oluşumu.....	55
Şekil 4.11	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kültür başlangıcından 6 ay sonra 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında sürgün oluşumu.....	56
Şekil 4.12	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından kültür başlangıcından 14 ay sonra 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında soğancık oluşumu.....	63
Şekil 4.13	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarında 14 ay sonra 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında gelişen sürgünlerin soğancığa dönüşmesi.....	65
Şekil 4.14	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarından 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında gelişen soğancıklar ve yeni oluşan kökler.....	65
Şekil 4.15	Siverek kökenli <i>F. persica</i> soğanlarının yüzey sterilizasyonu sonucunda gözlenen fungus ve bakteriyel kökenli bulaşıklık.....	67
Şekil 4.16	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın soğan eksplantları üzerinde kültür başlangıcından 1 ay sonra 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu.....	68
Şekil 4.17	<i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklar ikiye kesilerek 0.5 mg/l TDZ içeren besin ortamında kültüre alınması.....	68
Şekil 4.18	<i>F. Persica</i> 'nın soğancıkları üzerinde 3 hafta sonra gelişen kallus ve sürgünler.....	69
Şekil 4.19	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın çimlenen tohumlarından gelişen soğancıklardan 9 ay sonra 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında oluşan soğancıklar.....	71

Şekil 4.20	Siverek kökenli <i>F. persica</i> soğancıklarından gelişen yaprak eksplantlarında 3 hafta sonra 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında kallus ve meristematik sürgün oluşumu.....	73
Şekil 4.21	Kültür başlangıcından 3 ay sonra Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın <i>in vitro</i> 'da gelişen yaprak eksplantlarında 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında soğancık ve kök oluşumu.....	74
Şekil 4.22	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak sapı eksplantlarında 3 hafta sonra 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında kallus ve meristematik sürgün oluşumu.....	76
Şekil 4.23	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak sapı eksplantlarında somatik embriyo ve somatik embriyolardan soğancık oluşumu.....	76
Şekil 4.24	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak sapı eksplantlarında 6 ay sonra somatik embriyolardan soğancık ve kök oluşumu.....	76
Şekil 4.25	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak sapı eksplantlarından oluşan soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınması, soğancıklarda yeni kök ve yaprak oluşumu.....	78
Şekil 4.26	<i>F. persica</i> 'nın ovaryum eksplantlarından 1 ay sonra 4 mg/l Zeatin içeren MS besin ortamında kallus ile soğancık oluşumu ve kararma.....	79
Şekil 4.27	<i>F. persica</i> 'ya ait anter eksplantlarında kültür başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra kallus ile soğancık oluşumu ve kararma.....	80
Şekil 4.28	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 1 hafta sonra 0.5 TDZ ve 0.5 NAA içeren MS besin ortamında embriyoların hacimlerindeki artış ve kallus oluşumu.....	81
Şekil 4.29	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün oluşumu.....	87

Şekil 4.30	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 12 ay sonra 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu.....	89
Şekil 4.31	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarından 14 ay sonra 2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında soğancık ve yaprak oluşumu.....	90
Şekil 4.32	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'da yüzey sterilizasyonundan 1 hafta sonra eksplantlarda gözlenen fungus ve bakteriyel kökenli bulaşıklık.....	95
Şekil 4.33	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 20 gün sonra 2 mg/l 2,4-D içeren N ₆ besin ortamında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperyotta küçük ve sert kallus oluşumu.....	96
Şekil 4.34	<i>F. imperialis</i> 'te 20 gün sonra 2 mg/l 2,4-D içeren N ₆ besin ortamında 25 ± 1 °C'de karanlıkta olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında küçük ve sert kallus oluşumu.....	96
Şekil 4.35	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'da olgunlaşmamış embriyolarda 6 ay sonra 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperyotta oluşan sürgünler ve kökler.....	97
Şekil 4.36	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarından 6 ay sonra 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperyotta (aydınlık) gelişen sürgünlerin soğancığa dönüşmesi.....	98
Şekil 4.37	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'da kültür başlangıcından 14 ay sonra 25 ± 1 °C'de karanlıkta 2 mg/l 2,4-D içeren N ₆ besin ortamında gelişen soğancıklar.....	100
Şekil 4.38	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların 1.5 g/l agar ve 1.6 g/l gelrite ile katılaştırılan 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında bitki dokularının sıkılaşması ve yeni yaprak oluşumu.....	103
Şekil 4.39	Köklendirmeye alınan soğanların dip kısımlarında oluşan ikincil soğancıklar.....	107

Şekil 4.40	<i>In vitro</i> 'dan elde edilen Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların agar-gelrite ile muamelesi sonucunda bitki dokularının sıkılaşması, yeni yaprak ve kök oluşumu.....	108
Şekil 4.41	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'da kökler üzerinde ikincil soğancık oluşumu.....	108
Şekil 4.42	Köklendirmeye alınan Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıklarda kallus ve soğancıkların dip kısımlarında ikincil soğancık oluşumu.....	109
Şekil 4.43	10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların 1 ay sonra bitki dokularının sıkılaşması ve yaprak oluşumu.....	109
Şekil 4.44	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'da 10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen soğancıkların 1 ay sonra bitki dokularının sıkılaşması, yaprak oluşumu ve kök gelişimi.....	110
Şekil 4.45	10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen soğancıkların bitki dokularının sıkılaşması, yan soğancık ve köklerinin oluşması.....	110
Şekil 4.46	10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıklar üzerinde soğan gövdesinden yaprak oluşumu.....	111
Şekil 4.47	<i>In vitro</i> 'da üretilen Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların farklı katılaştırıcılar ve aktif kömür kullanılarak 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınması.....	116
Şekil 4.48	Agar içeren MS besin ortamında 16 °C'de kültüre alınması sonucunda soğancıkların olgunlaşması, kök ve ikincil soğancık oluşumu.....	116
Şekil 4.49	Gelrit içeren MS besin ortamında 16 °C'de kültüre alınması sonucunda soğancıkların olgunlaşması, çok sayıda kök ve ikincil soğancık oluşumu.....	117
Şekil 4.50	Soğancıkların saksıya aktarılmasından 1 ay sonra yapraklarındaki gelişmeler.....	122

Şekil 4.51	Soğancıkların saksıya aktarılmasından 1 ay sonra yeni köklerin oluşması.....	122
Şekil 4.52	Dış koşullara aktarılan soğan yapraklarının 1 ay içerisinde solması ve yeni yaprakların oluşumu.....	123
Şekil 4.53	Yeni çıkan yaprakların 4 ay içerisinde solması ve tekrar yaprağın çıkması.....	123
Şekil 4.54	Dış koşullara aktarılan soğandan yeni yaprak ve kök oluşumu.....	124
Şekil 4.55	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğanların dış koşullara aktarılmasından 1 hafta sonra soğanların canlı kalması ve çok sayıda yeni yaprakların oluşması.....	125
Şekil 4.56	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğanların iklim odasından seraya alınması.....	126
Şekil 4.57	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğanların iklim odasından seraya alınması ve yeni çıkan yaprakların büyümesi.....	126
Şekil 4.58	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğanların dış koşullara aktarımından 10 ay sonra sıcak kontrollü serada yeni çıkan yapraklar.....	127
Şekil 4.59	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğanların sıcak kontrollü serada yaprakların çıkmasından 2 ay sonra yaprak oluşumu ve bitki gelişimi.....	128
Şekil 4.60	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında + 4 °C'de 7 ay sonra soğancık gelişimi, kök ve yaprak oluşumu.....	129
Şekil 4.61	Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların dış koşullara aktarılması.....	129
Şekil 4.62	<i>F. imperialis</i> 'e ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında +16 °C'de gelişimi.....	130
Şekil 4.63	<i>F. imperialis</i> 'e ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında +16 °C'de kök ve yaprak oluşumu.....	130
Şekil 4.64	<i>F. imperialis</i> 'e ait soğancıkların dış koşullara aktarılması.....	131

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1	Türkiye Süs Bitkileri İhracatı.....	2
Çizelge 1.2	2009 Yılı Ülkelere Göre Türkiye Süs Bitkileri İhracatı.....	3
Çizelge 1.3	2010 Yılı Doğal Çiçek Soğanlarının İhracat Listesi.....	5
Çizelge 3.1	Denemelerde kullanılan MS, N ₆ ve SH temel besin ortamlarının içeriği.....	22
Çizelge 3.2	Kullanılan büyüme düzenleyicileri, çözücüleri ve saklama koşulları.....	22
Çizelge 4.1	Farklı sıcaklık ve sürelerin <i>F. imperialis</i> tohumlarının çimlenmesine etkisine ait varyans analizi	32
Çizelge 4.2	Farklı sıcaklık ve sürelerin <i>F. imperialis</i> tohumlarının çimlenmesine etkisi.....	33
Çizelge 4.3	Farklı sıcaklık ve sürelerin Siverek orijinli <i>F. persica</i> tohumlarının çimlenmesine etkisine ait varyans analizi.....	34
Çizelge 4.4	Farklı sıcaklık ve sürelerin Siverek orijinli <i>F. persica</i> tohumlarının çimlenmesine etkisi.....	35
Çizelge 4.5	Farklı TDZ ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	38
Çizelge 4.6	Farklı TDZ ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	39
Çizelge 4.7	Farklı TDZ ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	40
Çizelge 4.8	Farklı TDZ ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	41

Çizelge 4.9	Farklı BAP ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	42
Çizelge 4.10	Farklı BAP ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	43
Çizelge 4.11	Farklı BAP ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	45
Çizelge 4.12	Farklı BAP ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	45
Çizelge 4.13	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	46
Çizelge 4.14	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	47
Çizelge 4.15	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	48
Çizelge 4.16	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	48
Çizelge 4.17	Farklı 2,4-D dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	49
Çizelge 4.18	Farklı 2,4-D dozlarının <i>F. imperialis</i> 'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	50
Çizelge 4.19	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	52

Çizelge 4.20	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	52
Çizelge 4.21	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	54
Çizelge 4.22	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	54
Çizelge 4.23	Farklı BAP ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	56
Çizelge 4.24	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	57
Çizelge 4.25	Farklı BAP ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	58
Çizelge 4.26	Farklı BAP ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	59
Çizelge 4.27	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	60
Çizelge 4.28	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	60
Çizelge 4.29	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	61

Çizelge 4.30	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	62
Çizelge 4.31	Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	63
Çizelge 4.32	Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	64
Çizelge 4.33	Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	66
Çizelge 4.34	Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	66
Çizelge 4.35	Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 3 ay sonra sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	69
Çizelge 4.36	Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 3 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	70
Çizelge 4.37	Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 9 ay sonra soğancık oluşumuna ait varyans analizi.....	71
Çizelge 4.38	Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> tohumlarının <i>in vitro</i> çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 9 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	72
Çizelge 4.39	Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak eksplanlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna ait varyans analizi.....	74
Çizelge 4.40	Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak eksplanlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	75

Çizelge 4.41	Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak sapı eksplanlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna ait varyans analizi.....	77
Çizelge 4.42	Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın yaprak sapı eksplanlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	77
Çizelge 4.43	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	81
Çizelge 4.44	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	82
Çizelge 4.45	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	83
Çizelge 4.46	Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	83
Çizelge 4.47	Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	84
Çizelge 4.48	Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	85
Çizelge 4.49	Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	86
Çizelge 4.50	Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	86

Çizelge 4.51	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	88
Çizelge 4.52	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	88
Çizelge 4.53	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	90
Çizelge 4.54	Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	91
Çizelge 4.55	Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	92
Çizelge 4.56	Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	92
Çizelge 4.57	Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	93
Çizelge 4.58	Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	94
Çizelge 4.59	Aydınlık ve karanlık fotoperiyotlarının <i>F. imperialis</i> ve <i>F. persica</i> türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi.....	98
Çizelge 4.60	Aydınlık ve karanlık fotoperiyotlarının <i>F. imperialis</i> ve <i>F. persica</i> türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	99

Çizelge 4.61	Aydınlık ve karanlık fotoperyotlarının <i>F. imperialis</i> ve Siverek ve Mersin kökenli <i>F. persica</i> türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi.....	101
Çizelge 4.62	Aydınlık ve karanlık fotoperyotlarının <i>F. imperialis</i> ve Siverek ve Mersin kökenli <i>F. persica</i> türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi.....	102
Çizelge 4.63	Farklı agar ve gelrit dozlarının 4 ay sonra Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarından gelişen soğancıkların olgunlaşması üzerine farklı agar ve gelrit dozlarının etkisine ait varyans analizi.....	104
Çizelge 4.64	Farklı agar ve gelrit dozlarının 4 ay sonra Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'nın olgunlaşmamış embriyolarından gelişen soğancıkların olgunlaşması üzerine farklı agar ve gelrit dozlarının etkisi.....	106
Çizelge 4.65	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'da KCl, NaCl ve CaCl ₂ tuzlarının kök oluşum yüzdesi, kök uzunluğu, kök sayısı yaprak oluşum oranı, yaprak sayısı, ikincil soğancık oranı ve ikincil soğancık sayısına ait varyans analizi.....	112
Çizelge 4.66	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'da KCl, NaCl ve CaCl ₂ tuzlarının kök oluşum yüzdesi, kök uzunluğu, kök sayısı yaprak oluşum oranı, yaprak sayısı, ikincil soğancık oranı ve ikincil soğancık sayısına etkisi.....	114
Çizelge 4.67	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların agar, gelrit, aktif kömür ve sıcaklık uygulaması sonucunda soğancıklarda kök oluşum oranı, kök uzunluğu, kök sayısı, ikincil soğancık oluşum oranı ve ikincil soğancık sayısına ait varyans analizi.....	118
Çizelge 4.68	Siverek kökenli <i>F. persica</i> 'ya ait soğancıkların agar, gelrit, aktif kömür ve sıcaklık uygulaması sonucunda soğancıklarda kök oluşum oranı, kök uzunluğu, kök sayısı, ikincil soğancık oluşum oranı ve ikincil soğancık sayısına etkisi.....	120

1. GİRİŞ

Türkiye, coğrafi konumu, değişik iklim ve toprak özelliklerine sahip olmasının sonucunda zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Ülkemiz Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerin kesiştiği bir konumdadır. Anadolu'nun büyük yükseklik farklarına, zengin su kaynaklarına, orman, bozkır, bataklık-sulak alan, kumul vb. çok farklı habitatlara sahip olması bu çeşitliliğin artmasında önemli rol oynamıştır. Bunun sonucu olarak en son derlemelere göre ülkemizde yaklaşık üçte biri endemik olmak üzere toplam 11 014 adet bitki taksonu (tür, alttür, varyete vb.) bulunmaktadır (Güner vd. 2000). Yılın büyük bir kısmını toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi organları ile geçiren ve geofit adı verilen soğanlı-yumrulu bitkiler de bu bitki çeşitliliğinin önemli bir kısmını oluştururlar. Son derlemelere göre ülkemizde 688 adet geofit bulunmakta (Özhatay vd. 2003) ve ülkemiz florasının %6'dan fazlasını teşkil etmektedir. Bundan dolayı yabancı kaynaklarda Anadolu geofitlerin anavatanı olarak adlandırılmaktadır (Schacht 1955).

Türkiye florası geçmişten beri yabancıların ilgisini çekmektedir. Bu nedenle ülkemize her yıl çok sayıda bilimsel, amatör veya ticari amaçlı botanikçi gelmekte; bunların çok az bir kısmı ülkemiz florasına ve bilime katkıda bulunurken, bir kısmı da kendi özel meraklarını tatmin veya ticari amaçlarla Anadolu'dan bitki toplamakta ve bunları kendi ülkelerine götürmektedirler (Koyuncu ve Ekim, 1987). Bu bitki grupları içerisinde süs bitkileri büyük önem arz etmektedir. Bazı süs bitkileri tıbbi özellikleri ile de dikkati çekmektedir. Süs bitkileri son yıllarda dünyada büyük talep arz etmektedir. Dünyada yaklaşık yılda 9-10 milyar Euro civarında süs bitkileri ihracatı yapılmaktadır. Türkiye süs bitkileri ihracatı üretime paralel olarak, her yıl ortalama %25 artarak; 2000 yılında 13 milyon dolar iken, 2009 yılı sonunda yaklaşık 50 milyon dolara ulaşmıştır. Türkiye'nin süs bitkileri ihracatının yıllar itibariyle gelişimi çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 Türkiye süs bitkileri ihracatı

Yıllar	Değer (1.000 \$)
2000	12.956
2001	14.282
2002	22.299
2003	31.485
2004	37.748
2005	36.229
2006	40.522
2007	46.447
2008	45.524
2009	49.150

Kaynak: Dış Ticaret Müsteşarlığı (DTM)

Çizelge 1.1’de görüldüğü gibi Türkiye süs bitkileri ihracatı üretime paralel olarak, her yıl ortalama %25 artarak; 2000 yılında 13 milyon dolar iken, 2009 yılı sonunda 50 milyon dolara ulaşmıştır. Küresel krizin en derin şekilde hissedildiği 2009 yılında dünya süs bitkileri ticaretinde %30 oranında bir gerileme yaşanmasına rağmen ülkemiz süs bitkileri sektörü %8 oranında ihracat artışı yakalayarak rekabet gücünü uluslararası arenada ispatlamıştır.

Türk ihracatçıları Türkiye’nin coğrafi konumu ve büyük tüketim merkezlerine yakınlığının avantajını kullanmaktadır. Türkiye’den dünya üzerinde 52 ülkeye süs bitkileri ihracatı yapılmaktadır (DTM). Süs bitkileri ihraç eden ülkeler içerisinde en çok Hollanda, Birleşik Krallık, Almanya, Rusya gibi ülkeler gelmektedir (DTM). 2009 yılı ülkelere göre Türkiye süs bitkileri ihracat ettiği ülkeler ve değerleri çizelge 1.2’de verilmiştir.

Çizelge 1.2 2009 Yılı ülkelere göre Türkiye süs bitkileri ihracatı

Ülkeler	Değer (\$)
Hollanda	8.476.786
Birleşik Krallık	8.071.346
Almanya	6.253.684
Rusya federasyonu	4.472.310
Türkmenistan	3.667.986
Ukrayna	3.397.288
Azerbeycan-Nahçıvan	3.071.179
Romanya	3.054.945
Bulgaristan	1.311.543
Irak	1.199.716
Libya	1.064.489
K.K.T.C.	999.121
Birleşik Devletler	594.906
Macaristan	468.690
Yunanistan	465.730
Gürcistan	450.239
Diğer Ülkeler	2.129.668
Toplam	49.149.625

Kaynak: Dış Ticaret Müsteşarlığı (DTM)

Türkiye'nin soğanlı, yumrulu ve rizomlu bitki türlerinin satın alınmasında tercih edilen ülkelere birisi olmasının ana nedeni bu materyalin doğada hazır olarak ve ucuz sağlanmasıdır. Bu olgunun yüzyılı aşkın bir geçmişe dayanması doğada onarılması çok zor bir tahribatın ve tür azalmasının nedeni olmuştur. Nitekim salep yapımında kullanılan *Orchidaceae* familyasına dahil türler sürekli olarak doğadan sökülmesinden dolayı kaybolma tehlikesi ile karşı karşıya kalmışlardır.

1981-84 yılları arasında yürütülen iki TÜBİTAK projesinin sonuçlanmasından sonra bazı türlerin ihracatı yasaklanmış; bazı türlerde de üretime geçilmiştir. 1989 yılında bir yönetmeliğin çıkarılması, Doğal Çiçek Soğanları Derneği'nin kurulması ile bu bitkilerin koruma önlemleri artırılmış, ihracatına sınırlamalar getirilmiştir. Bu arada dış ülkelerdeki çevre örgütlerinin girişimleri ile CITES heyetlerinin Türkiye'de yaptıkları incelemeler de etkili olmuştur. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından 1989 yılında çıkarılan yönetmelik 1991, 1995 ve 2005 yıllarında yeniden düzenlenerek yayınlanmıştır. Bu yönetmelikle ülkemiz florasının korunması, çiçek soğanlarının tahrip edilmeden ve tüketilmeden doğadan toplanması, üretilmesi, depolanması ve ihracatı konuları disiplin altına alınmıştır (Uluğ 1997).

Türkiye Cumhuriyeti Hükümeti CITES (Convention an International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora: Nesilleri Tehlike Altındaki Doğal Bitki ve Hayvan Türlerinin Uluslararası Ticaretini Düzenleme Antlaşması)'e 1996 yılında taraf olmuştur. Ancak daha önce Türk bilim adamlarının girişimi ile *Galanthus*, *Cyclamen* ve *Eranthis* cinslerine giren türler CITES Ek II listesine alınmıştır. 2005'te geliştirilerek ve daha kapsamlı hale getirilen yeni yönetmeliğe göre Tarım ve Köyişleri Bakanlığı nezdinde oluşturan teknik komite her yıl ihracatı yapılan çiçek soğanlarının cins, tür, miktar, doğa kontenjanı, sökülme takvimini belirlemekte ve hazırlanan doğal çiçek soğanı ihracat listesi de her yıl Ekim-Kasım aylarında Resmi Gazete'de yayınlanmaktadır. Bu listenin dışında teknik komitenin izni olmadan doğadan ticari amaçlarla çiçek soğanı toplayıp ihraç etmek yasaktır. Bu yönetmelik gereğince hazırlanan 2011 yılı doğal çiçek soğanları ihracat listesine göre, ihracat yasağı veya izni olan türler dikkate alınarak 3 grupta oluşturulmuştur (Çizelge 1.3). Bunlar;

- 1-Doğadan toplanarak ihracatı yasak olan doğal çiçek soğanları,
- 2- İhracatı kotayla veya başka herhangi bir kayıtla sınırlandırılan çiçek soğanları,
- 3- İhracatı üretimden serbest olan çiçek soğanları.

Çizelge 1.3 2011 Yılı doğal çiçek soğanlarının ihracat listesi

(I) Doğadan Toplanarak İhracatı Yasak Olan Çiçek Soğanları	(II) İhracatı Kotayla veya Başka Herhangi Bir Kayıtlı Sınırlandırılan Çiçek Soğanları					(III) İhracatı Üretimden Serbest Olan Çiçek Soğanları	
	Tür İsmi	Tür İsmi	Yıllık Limit (Adet)				Çevre Uzunluğu (cm)
			Doğa	Büyütme	Üretim		
1. <i>Allium</i> (Yabani soğan) türlerinin hepsi 2. <i>Crocus</i> (Çiğdem) türlerinin hepsi 3. <i>Fritillaria</i> türleri (<i>F. persica</i> , <i>F. imperialis</i> hariç) 4. <i>Lilium</i> (Zambak) türleri (<i>L. candidum</i> ve <i>L. martagon</i> hariç) 5. <i>Muscari</i> (Muskari) türlerinin hepsi 6. <i>Sternbergia</i> (Kara çiğdem) türleri (<i>S. lutea</i> hariç) 7. <i>Tulipa</i> (Lale) türlerinin hepsi 8. <i>Eminium</i> türlerinin hepsi 9. <i>Biarum</i> türlerinin hepsi 10. <i>Nymphaeaceae</i> (Nilüfer) türlerinin hepsi 11. <i>Orchidaceae</i> (Salep) türlerinin hepsi 12. <i>Arum</i> (Yılan yastığı) türlerinin hepsi (<i>Arum italicum</i> , <i>Arum dioscorides</i> hariç) 13. <i>Pancreatium maritimum</i> (Kum zambağı) 14. <i>Hyacinthus orientalis</i> (Şark sümbülü) 15. <i>Gentiana lutea</i> (Censiyen) 16. <i>Cyclamen</i> (Sıklamen) türleri (<i>C. coum</i> , <i>C. cilicium</i> ve <i>C. hederefolium</i> hariç) 17. <i>Galanthus</i> (Kardelen) türleri (<i>G. elwesii</i> ve <i>G. woronowii</i> hariç) 18. <i>İris</i> (Süsen) türleri 19. <i>Paeonia</i> (Şakayık) Türleri 20. Diğer yumrulu ve soğanlı türler	1. <i>Anemone blanda</i> (Yoğurt çiçeği)	6.000.000	-	-	4	1. <i>Lilium candidum</i> (Miszambağı) 2. <i>Sternbergia lutea</i> (Karaçiğdem) 3. <i>Iris tuberosum</i> (Süsen)* 4. <i>Calla aethiopica</i> (Kalla)* 5. <i>Polyanthus tuberosa</i> (Sümbülteber)*	
	2. <i>Arum italicum</i> (Yılan yastığı)	50.000	-	300.000	6		
	<i>Arum dioscorides</i>	50.000	-	200.000	6		
	3. <i>Cyclamen cilicium</i> (Sıklamen)	200.000	-	100.000	8		
	<i>Cyclamen coum</i> (Sıklamen)	600.000	-	150.000	8		
	<i>Cyclamen hederefolium</i> (Sıklamen)**	-	-	2.000.000	10		
	4. <i>Dracunculus vulgaris</i> (Yılan bıçağı)	50.000	-	300.000	10		
	5. <i>Eranthis hyemalis</i> (Sarı kar çiçeği)	3.500.000	-	-	3,5		
	6. <i>Galanthus elwesii</i> (Toros kardeleni)	4.000.000	1.250.000	750.000	4		
	<i>Galanthus woronowii</i> (Karadeniz kardeleni)	2.500.000	500.000	-	4		
	7. <i>Leucojum aestivum</i> (Göl soğanı)	1.500.000	-	2.500.000	7,5		
	8. <i>Scilla bifolia</i> (Silla)	50.000	-	-	4		
	9. <i>Urginea maritima</i> (Ada soğanı)	10.000	5.000	-	20		
10. <i>Ornithogalum nutans</i> (Tükrük otu)	100.000	-	-	7			
11. <i>Geranium tuberosum</i> (Deve tabanı)	700.000	-	300.000	5			
12. <i>Fritillaria persica</i> (Adıyaman lalesi)	-	-	300.000	10+			
<i>Fritillaria imperialis</i> (Ters lale)	-	-	-	10+			
13. <i>Lilium martagon</i> (Türk zambağı)	-	-	2.500	10+			

* Üretimi yapılan egzotik türler.

** Doğadan sökülen materyalin çevre uzunluğu 20 cm ve üzeri olacaktır.

Geofitlerin büyük kısmı *Liliaceae*, *Iridaceae* ve *Amarryllidaceae* familyasına dahildir. Ülkemizin zengin florası içinde geofitler 26 cins ve 540 türle temsil edilmektedir (Güner vd. 2000). Bu türlerin yaklaşık 1/3'ü endemik olup hemen tamamından insanlar çeşitli şekillerde yararlanmaktadır. Bu bitkilerden 35 tür 48 taksonla temsil edilen *Fritillaria* türlerinin ayrı bir yeri ve önemi vardır. *Fritillaria* cinsinin yer aldığı *Liliaceae* familyası, Dünya'da yaklaşık 250 cins ve 3500 tür ile temsil edilmektedir. *Liliaceae* familyası üyeleri süs bitkisi (lale, sümbül, zambak ve ters lale) ve sebze (soğan, pırasa ve sarımsak) olarak kullanılabilirdiği gibi içerdikleri kimyasal maddeler nedeniyle tıbbi bitki olarak ta kullanılabilirler (Heywood 1978). Dünyada 139 tür, 17 alt tür ve 9 varyete olmak üzere 165 taksonla temsil edilen *Fritillaria* cinsi, Avrupa, Ortadoğu ve Orta Asya ile Kuzey Amerika'nın batısında yayılış göstermektedir (Rix ve Phillips, 1981). *Fritillaria* cinsinin tür sayısı Türkiye'de 35 iken, Yunanistan'da 25, Rusya'da 22, Çin'de 24, İran'da 18 ve Kaliforniya'da 20'dir. Ayrıca Bulgaristan'da 6, İtalya'da 4, İspanya'da 3, Lübnan, Suriye, Portekiz, Afganistan'da 2'şer tür, İsrail ve Pakistan'da 1'er tür ve Afrika kıtasında 1 tür bulunmaktadır. Ülkelerin içerdiği tür sayısına bakıldığında *Fritillaria* cinsinin en fazla Türkiye'de temsil edildiği görülmektedir. Bu cinste üç gen merkezinden söz edilebilmektedir: 1. gen merkezi Kaliforniya, 2. gen merkezi Yunanistan ve Türkiye, 3. gen merkezi Çin'dir. TÜBİTAK Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı'na (www.arbis.tubitak.gov.tr, 2004) göre Monokotiledonlar içerisinde *Fritillaria* (35 tür ve 48 takson), *Allium* (160 tür), *Iris* (40 tür) ve *Crocus* (36 tür)'dan sonra en fazla tür içeren 4. cinstir (Tekşen 2004).

Türkiye’de bulunan *Fritillaria* tür ve alttür taksonları TÜBİTAK-Türkiye Taksonomik Tür Veritabanı’na göre aşağıda verilmiştir.

1. *F. acmopetala* Boiss.
2. *F. acmopetala* Boiss. subsp. *acmopetala*
3. **F. acmopetala* Boiss. subsp. *wendelboi*
4. **F. alburyana* Rix
5. *F. alfredae* Post
6. **F. alfredae* Post subsp. *glaucoviridis*
7. *F. alfredae* Post subsp. *platyptera*
8. **F. armena* Boiss.
9. *F. assyriaca* Baker
10. *F. assyriaca* Baker subsp. *assyriaca*
11. **F. assyriaca* Baker subsp. *melananthera* Rix
12. **F. aurea* Schott
13. **F. baskilensis* Behçet
14. *F. bthynica* Baker
15. **F. byfieldii* N. Özhatay & Rix
16. *F. carica* Rix
17. *F. carica* Rix subsp. *carica*
18. **F. carica* Rix subsp. *serpenticola*
19. *F. caucasica* J. F. Adam
20. *F. crassifolia* Boiss. & Huet
21. **F. crassifolia* Boiss. & Huet subsp. *crassifolia*
22. *F. crassifolia* Boiss. & Huet subsp. *hakkarensis*
23. *F. crassifolia* Boiss. & Huet subsp. *kurdica*
24. **F. elwesii* Boiss.
25. **F. fleischeriana* Steudel & Hochst ex Schultes & Schultes fil.
26. **F. forbesii* Baker
27. *F. hermonis* Fenzl
28. *F. hermonis* Fenzl subsp. *amana*
29. *F. imperialis* Linnaeus
30. **F. kittaniae* Sorger
31. *F. latakensis* Rix

32. *F. latifolia* Wild.
33. **F. michailovskyi* Fomin
34. **F. minima* Rix
35. **F. minuta* Boiss & Noe
36. *F. persica* Linnaeus
37. *F. pinardii* Boiss.
38. *F. pontica* Wahlenb.
39. *F. rhodia* A. Hansen
40. *F. sibthorpiana* (Sm.) Baker
41. **F. sibthorpiana* (Sm.) Baker subsp. *enginiana* Byfield & N. Özhatay
42. **F. sororum* Jim. Perss. & K.M. Perss.
43. *F. straussii* Bornm.
44. *F. stribrnyi* Velen.
45. *F. uva-vulpis* Rix
46. *F. viridiflora* Post
47. **F. whittallii* Baker
48. **F. zagrica* Stapf

(*) ile işaretli olanlar endemik taksonlardır.

Fritillaria türleri arasında tam endemik olanlar bulunmakta, ancak çiçeklerinin süs bitkisi olarak kullanılabilmesi potansiyeline sahip olan yarı endemik iki türü *Fritillaria imperialis* ve *F. persica*'nın ticari önemi bulunmaktadır. Geofit bitkileri içinde en gösterişli ve güzel türlerden birisi *F. imperialis*, Şemdinli lalesi, ters lale, ağlayan gelin, Hakkari lalesi, Şahtuğu ve Tuğu Şahi kral tacı olarak ta bilinmektedir. *F. persica* türü ise Adıyaman ili ve çevresinde doğada sıkça bulunduğundan bu bitkiye de Adıyaman lalesi veya karagöz lalesi adı verilmektedir. Bazen her iki türe birden ağlayan gelin olarak genel bir isim verildiğine de rastlanabilmektedir. Avrupa ülkelerinde park ve bahçelerde, tarihi mekanların bahçelerinde kullanılan türler olmasına karşılık, *Fritillaria* türleri ülkemizde henüz süs bitkisi olarak yeterince tanınmamakta ve kullanılmamaktadır. Buna karşılık ihraç potansiyeli yüksek türlerdir.

Fritillaria cinsinin tür sayısı bakımından en yoğun olduğu bölgeler Akdeniz ve Doğu Anadolu Bölgesi'dir. Karadeniz, Güneydoğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde en az türleri bulunmaktadır. Tür sayısı bakımından en zengin iller ise Muğla, Antalya, İçel, Kahramanmaraş, Hatay, Erzurum, Van ve Hakkari'dir.

Fritillaria türleri farmasötik endüstrisinde ve süs bitkisi olarak önemli bir yere sahip tıbbi bitkilerdir (Wang vd. 2005). *Fritillaria* soğanları halk tıbbında binlerce yıldan beri, Uzakdoğu başta olmak üzere, yayılış gösterdiği ülkelerde kullanılmaktadır (Ronsted vd. 2005, Gao vd. 1999, Akhtar vd. 2003, Paek ve Murthy, 2002). Söz konusu ülkelerde *Fritillaria* türlerinin soğanlarından, öksürük ve boğaz ağrısı giderici, balgam söktürücü, ateş düşürücü, akciğer nemlendirici, yüksek tansiyon düşürücü, astım, sıraca, salgı bezi tümörleri ve bronşit tedavi edici olarak yararlanıldığı bildirilmektedir (Kitajima vd. 1981, Kaneo vd. 1988, Gao vd. 1999, Akhtar vd. 2002, Wang vd. 2005, Ronsted vd. 2005). İçerdiği steroidal alkaloidler nedeniyle *Fritillaria*'ların, modern tıpta ilaç sanayinde de kullanım alanı söz konusudur (Perry 1980, Bailey 1996, Gao vd. 1999, Ronsted vd. 2005, Wang vd. 2005). *Fritillaria* türleri üzerinde yapılan araştırmada, alkaloidlerin dışında saponin, sterol, polisakkarit, nişasta, flavonoid, yağ asitleri, organik asitler ve uçucu yağların bulunduğu belirlenmiştir. *F. imperialis*'te bulunan imperallin adındaki alkaloidin, yapılan çalışmalar sonucunda iki ana etkisinin bulunduğu belirlenmiştir (www.giftpflanzen.com):

1. Antitusif ve ekspektoran etkisi (akciğerlerdeki salgılanmanın azaltılarak öksürüğün hafifletilmesi, burun ve gözlerdeki akıntının azaltılması gibi gripin semptomlarının giderilmesi),
2. Merkezi sinir sistemi ve kalp kasları üzerindeki etkisi (kalp atışlarındaki düzensizliğin giderilmesi, kalp atış hızının azaltılarak tansiyonun düşürülmesi, motor hareketlerinin düzenlenmesi vb.).

Ancak alkaloid yapısındaki bu maddelerin zehir etkisi oluşturacağı gözden uzak tutulmamalıdır (www.giftpflanzen.com).

Toplam soğan biyokütle içeriğinin yaklaşık %80'i nişastadan oluşan bazı *Fritillaria* türleri, ayrıca gıda olarak da özellikle Uzakdoğu'da kullanılmaktadır (Wang vd. 2005). *Fritillaria*'ların diğer bir kullanım alanını oluşturan süs ve peyzaj bitkisi vasıfları ise 16. yüzyılda keşfedilmiştir. Yalnızca kesme çiçek olarak değil aynı zamanda peyzaj amaçlı olarak kullanılabilmeleri, bu bitkilerin soğanlarının geniş bir ticaret hacmine sahip olmasına olanak tanımıştır. Bu sebeple *Fritillaria*'lar, tüm dünyada süs bitkisi olarak en çok tercih edilen ve soğanlarının ticareti yapılan bitkilerdendir. *F. imperialis* L. Doğu ve Güneydoğu Anadolu, İran, Irak, Afganistan ve kuzey Hindistan'ın dağlık bölgelerinde, *F. persica* L. ise Anadolu, Filistin, Ürdün, Suriye, Irak ve İran'da doğal yayılış göstermektedir (Arslan 1999). Ülkemizin yıllık 2,5-3 milyon dolarlık çiçek soğanı ihracatı içerisinde bu bitkilerinde önemli bir yeri vardır. Yeterli üretim olduğu takdirde ihracat potansiyelinin yüksek olduğu vurgulanmaktadır (Arslan 1999).

Fritillaria türlerinin gerek ihracatı, gerekse yurt içindeki süs bitkisi yetiştiriciliği alanında da tanınan bir bitki olarak yaygınlaştırılması esas alındığında bu bitkilerde üretimin artırılması gerektiği anlaşılmaktadır. Tohumla üretimi mümkün olan bu bitki türlerinin aynı zamanda yumrularından vejetatif olarak parçalanmak suretiyle çoğaltılması da mümkündür. Ancak tohumla çoğaltımda genetik varyasyon oldukça fazla olduğundan çiçek rengi, yapısı, çiçeklenme zamanı bakımından bir örnek bitki elde edilmesi zorlaştığı gibi, vejetatif yolla soğanlarından üretilmesinde de çoğalma katsayısı ve hızı yavaş olmaktadır. Bu gibi durumlarda doku kültürüyle çoğaltım, sorunun ortadan kaldırılmasında önemli bir katkı sağlayabilmektedir. Etkin bir doku kültürü tekniği geliştirilmesi halinde, çoğaltılmasında sorun bulunan ve istenen sayıda materyalin kısa sürede elde edilmesi mümkün olmayan türlerde, ticari anlamda önemli kazançlar sağlanabilmektedir. Bu tez çalışmasında, ülkemiz için önemli bitki türlerinden olan *F. imperialis* (Şemdinli Lalesi) ve *F. persica* (Adıyaman Lalesi)'nin *in vitro* koşullarda doku kültürü yoluyla çoğaltılabilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kukulczanka vd. (1989), *Fritillaria meleagris* L. türünün doku kültürü ile çoğaltılması konusunda yaptıkları çalışmalarında pul yaprağı parçalarından veya tüm soğancıklardan *in vitro* koşullarda adventif soğancıklar oluşturmuşlardır. En yüksek soğancık oluşumu, 1.0 mg/l NAA ve 2.0 mg/l BA içeren MS ortamında meydana gelmiştir.

Taeb ve Alderson (1990), Merry Widow lale çeşidinin gövde eksplantlarından 1 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Bu ortamda eksplantlar 12 veya 16 hafta 20 °C'de inkübe edildiğinde, eksplantın taban kısmında soğan primordiumlarının oluşmaya başladığı belirtilmiştir. Primordiumların gelişmesi ve artırılması için kültür kaplarına 1 ve 10 ppm etilen veya 1, 10 ve 100 µM ACC (1-aminosiklopropan-karboksilik asit) eklenmiştir. Gövde eksplantlarında endogenous ACC'nin düzeyi 7 günlük inkübasyondan sonra artmış fakat kültür kaplarındaki atmosferde etilen artışı olmamıştır. Çiçekli gövde eksplantlarının inkübasyonunun ilk döneminde dokuların ACC'den etilene dönüşüm için gerekli olan enzimleri içermediği bildirilmiştir.

Yamagishi (1991), Triploid *F. camtschaticensis* L. Ker-Gawl.bitkisinden *in vitro* koşullarda çoğaltım yaparak materyali hızlı çoğaltmayı amaçlamıştır. Soğan, yaprak ve gövde parçalarından eksplantlar hazırlayarak bunları değişik bileşimlere sahip Linsmaier and Skoog (LS) ortamına dikmiştir. Soğan parçalarından gelişen *in vitro* soğancıklardan alınan yeni eksplantlar, 5 mg/l NAA ve 0.005 mg/l BA içeren LS ortamına alındıklarında çok sayıda soğancık oluşturmuştur. Bu soğancıklar 2 °C'de 100 gün bekletildikten sonra toprağa aktarılarak seraya alınmışlar; burada birkaç hafta sonra yaprak ve sürgün oluşturmaya başlamışlardır.

Tang ve Wu (1993), *F. ussuriensis* türünde soğan pul yapraklarından oluşturdukları doku parçalarını makro elementleri MS, mikro elementleri N₆ ortam kompozisyonuna uyacak şekilde hazırladıkları besin ortamlarında kültüre almışlardır. Bu eksplantların %95'inden sadece kallus gelişimi elde edilirken, %1'lik bir bölümünden yeşil bitkiler geliştirilebilmiştir.

Çakırlar vd. (1994), *Galanthus elwesii* ve *G. ikariae*'nin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılması için en uygun eksplant tipi ve besin ortamı araştırmışlardır. Soğan parçası ile tek veya çift yapraklı soğan pul yapraklı eksplantlarının en iyi soğancık oluşturma yeteneğinde oldukları belirtilmiştir. MS ortamının *Galanthus* doku kültürüne uygun olduğu, Gamborg ortamının da soğancık oluşumunu önemli düzeyde artırdığı bildirilmiştir. Yine, %6 oranında kullanılan sukroz ile en yüksek sayıda soğancık üretilmiştir.

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 etkenliği 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, BA ve kazeinhidrolizat olduğu ifade edilen araştırmada elde edilen kalluslar, BA, 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 almış ve embriyogenik kallus ve soğan elde etmişlerdir. Bu kallus kültürleri organ rejenerasyonu ve somatik embriyogenes 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 3mg/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 alındığında, *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'ye 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 aleminde 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 denemelerde; 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 üzerindeki etkilerini incelemiştir. 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 benomil’e 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 µM BA ve 5.71 µM IAA olduğunu ve MS besin ortamının yeterli görüldüğünü kaydetmektedirler. Geleneksel çoğaltma yöntemlerine göre 3-50 kat daha fazla çoğalma katsayısı elde edildiği bildirilen çalışmada kültürdeki soğancıkların alkoloit ve diğer yararlı bileşikler bakımından içeriklerinin, doğal koşullarda yetişenlerden daha zengin olduğu da belirlenmiştir.

Seon vd. (1999), *F. thunbergii*’nin soğan pul yaprağı parçalarını, 3-5 mg/l Kinetin ilave edilen MS besin ortamında adventif soğancık oluşumu için kültüre almışlardır. Eksplantların alınacağı ana soğanlar nemli koşullarda 10 °C’de, 4-6 hafta bekletilmesinin soğancık oluşturma oranını artırdığı belirlenmiştir. Çiçek sapları, diğer tüm eksplant tiplerine göre soğancık oluşumunda en iyi sonucu vermiştir. Soğancık gelişimi için en iyi uygulama yüksek oranda şeker içeren MS besin ortamına 10-100

mg/l süksinik asit, 2.2 mg/l dimetil hidrazit ya da kloromequet eklenerek elde edilmiştir. Uzun süreli soğuk uygulamasından sonra toprağa aktarılan soğancıklarda yaprak çıkışı hızlanmıştır.

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 esteri, 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 muamelesin 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/g

hücre) elde edilmiştir. Çalışma sonucunda gelişen embriyoların %90'ı köklenerak tam bir bitki haline gelmişlerdir. Üretilen bitkilerin ise %95'i dış koşullara 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 geliştirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında, olgunlaşmamış soğanlardan hazırlanan çift soğan pul yaprak eksplantlarından 20 µM Zeatin içeren MS ortamında sürgünler elde etmişlerdir. Çalışmada, bir eksplanttan dört hafta sonra yediden fazla sürgün oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca, köklenmenin 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 µM NAA veya 4.65 µM Kinetin içeren MS ortamından (%13,7) elde edildiğini bildirmişlerdir. 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.

Tıprıdamaz (2003), *Galanthus ikariae*'nin soğan pul yapraklarından *in vitro*'da elde edilen adventif soğancıkların köklendirilmesi ve dış koşullara aktarmaya çalışmıştır. Köklendirme için, soğancıklar farklı konsantrasyonlarda sukroz (30 ve 60 g/l), aktif kömür (AK) (%0.2, 0.5 ve 1.0) ve NAA (0, 0.01, 0.1 ve 0.5 mg/l) içeren tam, 1/2, ¼ ve 1/8 kuvvette azaltılmış Murashige ve Skoog (DMS) ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültürler 23°C sıcaklık ve 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyoduna ayarlanmış iklim dolabında 16 hafta süreyle inkübe edilmiştir. En yüksek köklenme oranı 0.5 mg/l NAA içeren kültür ortamlarında elde edilmiştir. Dış koşullara aktarma aşaması denemeleri için 1/8 DMS, 0.5 mg/l NAA, %0.5 AK ve 60 g/l sukroz içeren ortam ile 1/2 DMS, 0.5 NAA, % 0.5 aktif kömür ve 30 g/l sukroz içeren ortamlarda köklendirilmiş soğancıklar ya direkt olarak ya da 8 hafta 4°C' de inkübe edildikten sonra %2 sukroz ve gibberelik asittin (GA3) değişik dozlarını (10 ve 50 mg/l) içeren DMS ortamında 4 hafta inkübe edildikten sonra toprağa aktarılmışlardır. Bu uygulamalar içinde en yüksek yaşama oranı (%28) 1/2 DMS, 0.5 NAA, % 0.5 aktif kömür ve 30 g/l sukroz içeren ortamda kültüre alınarak köklendirilen ve direkt toprağa aktarılan soğancıklarda görülmüştür.

Arslan vd. (2003) ve Mirici vd. (2005), *In vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia candida* ve *S. fischeriana* türlerinin öncelikle soğan pul yaprak eksplantlarını farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre almışlardır. Soğancık oluşturan eksplant oranı (%75.99) ve eksplant başına soğancık sayısı (3.30 adet) birlikte düşünüldüğünde en yüksek soğancık oluşumu *S. candida* türünde 4 mg/l BAP ve 0.50 mg/l KNA içeren besin ortamında 2 pul yapraklı soğan eksplantlarından elde edilmiştir. *S. fischeriana*'da ise en yüksek soğancık oluşumu (%76.67 ve 2.59 adet) 2 mg/l BAP ve 0.50 mg/l KNA içeren ortamda yine 2 pul yapraklı eksplantlardan üretilmiştir. Öte

yandan, *S. candida*'nın olgunlaşmamış zigotik embriyolarının 6 mg/l pikloram içeren besin ortamında kültüre alınmasıyla 1.5 yıl sonunda eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar büyüklüklerine göre sınıflandırılarak 5 °C de muhafaza edilmiştir. Soğancıklar bu şartlarda 5 hafta bekletildikten sonra toprağa aktarılmıştır. Ancak, toprağa aktarılan soğancıklarda ya gelişme olmamış ya da cılız bir gelişme gözlenmiştir.

Karaoğlu (2004), göl soğanı bitkisinde *in vitro* hızlı çoğaltım için soğan pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyo eksplantlarını değişik BAP ve NAA içeren ortamlarda kültüre almıştır. 4 ve 2 pul yapraklı soğan eksplantlarında en fazla soğancık oluşumu sırasıyla 6.67 ve 5.83 adetle 1 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA ile 2 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Olgunlaşmamış embriyolarda ise en fazla soğancık 2.27 adetle 0.5 mg/l BAP ve 4 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Elde edilen soğancıklar 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir. Köklenen soğancıklar dış koşullara başarılı bir şekilde aktarılmıştır.

Naik ve Nayak (2005), *Ornithogalum virens*'te soğan pul yaprağı kullanılarak kallus oluşumu ve indirekt organogenesis elde etmişlerdir. Sürgün oluşumu 1 mg/l NAA ve 2 mg/l BA içeren ortamda sağlanmıştır. Soğan pul yaprağı ile 2 mg/l 2,4-D içeren MS besin ortamında kültüre alınan soğan pul yapraklarından kallus elde edilmiştir. Kallustan sürgün regenerasyonu ise 2 mg/l NAA ve 0.5 mg/l BA içeren ortamda en iyi olmuştur. Sürgünlerden kök oluşumu hormonsuz MS ortamında sağlanmıştır. Rejenere olan bitkiler MS sıvı ortamında geliştirilmiştir. Saksılara başarılı olarak aktarılmıştır. Regenerantlardan oluşan soğancıklar sukrozu artırılmış (45-90 g/l) MS besin ortamına alınmışlardır. Direkt soğancık oluşumu ise soğan pul yaprağından 1 mg/l NAA, 2 mg/l BA ve 60 g/l sukroz içeren ortamda gerçekleşmiştir. Soğan büyüklüğü ise ½ MS'de 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 sağlamış, ancak bunların oranı farklı olmuştur. Besin ortamına 500 mg/l Augmentin katılması, enfeksiyonu önleme bakımından azda olsa etkili olmuşsa da, gelişmeyi engelleyici bir etki sergilemiştir. Soğancık oluşumu oranı bakımından 'A – NAA İMP (Augmentin bulundurmeyen NAA içeren *F.imperialis*)' ve 'A – NAA PER (Augmentin bulundurmeyen NAA içeren *F. persica*)' uygulamaları, tercih edilebilir bulunmuştur. %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*'nın 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 embriyolardan en yüksek sonuç ise eksplant başına 2.9 adet soğancık ile 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. *S. clusiana*'nın ikili soğan pul yapraklarından ve olgunlaşmamış embriyolarından sırasıyla; ekplant başına 2.1 ve 2.2 adet soğancık ile 2 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından 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.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada bitki materyali olarak *F. imperialis* ve *F. persica* (*Siverek* ve *Mersin orijinli*) türlerine ait (Şekil 3.1-3.3) eksplantlar Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasından temin edilmiştir.



Şekil 3.1 A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen *F. imperialis* bitkileri



Şekil 3.2 A.Ü Ziraat Fakültesi Deneme Tarlasında yetişen Siverek kökenli *F. Persica* bitkileri



Şekil 3.3 A.Ü Ziraat Fakültesi deneme tarlasında yetişen Mersin kökenli *F. persica* bitkisi

3.2 Yöntem

3.2.1 Besin ortamı ve doku kültürü koşulları

Denemelerde MS (Murashige ve Skoog 1962), N6 (Chu vd. 1975) veya SH (Schenk ve Hildebrandt 1972) mineral ve vitaminleri kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bu temel besin ortamlarına kullanılan eksplant tipine ve amaca göre farklı oranlarda büyüme düzenleyicileri, şekerler, vitaminler ve katılaştırıcılar ilave edilmiştir. Ortamların hazırlığında bidistile su kullanılmış, duruma göre besin ortamlarına farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.7'ye ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir. Tüm kültürler beyaz florasan ışığında 16 saat ışık ve 8 saatlik karanlık fotoperiyotta 24 °C'de tutulmuştur.

Çizelge 3.1 Denemelerde kullanılan MS, N₆ ve SH temel besin ortamlarının içeriği

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

Büyüme düzenleyicileri uygun çözücülerde çözüldükten sonra saf su ile istenen miktarlarda ve oranlarda stok solüsyonları hazırlanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Kullanılan büyüme düzenleyicileri, çözücüler ve saklama koşulları

Büyüme Düzenleyicileri Oksinler ve Sitokinler	Çözücü	Saklama koşulları (°C)
BAP	1 N NaOH	+ 4
NAA	1 N NaOH	+ 4
Kinetin	1 N NaOH	0
TDZ	Etanol	+ 4
2,4-D	Su	+ 4
Zeatin	1 N NaOH	+ 4

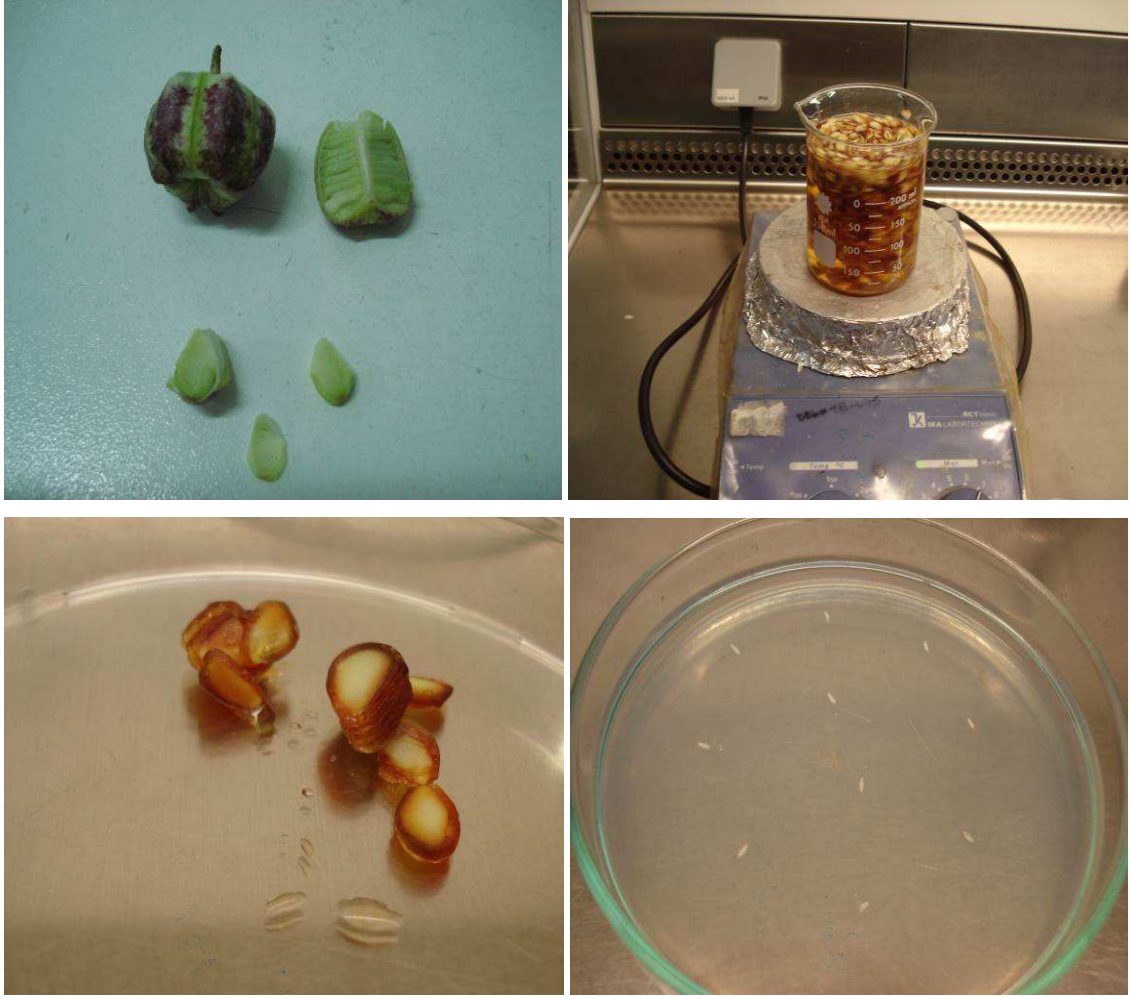
3.2.2 Eksplant izolasyonu

Denemelerde farklı organ eksplantları (soğan etli pul yaprakları, tohumlar, olgunlaşmamış embriyolar ve *in vitro*'da gelişen fidelerden izole edilen eksplantlar) kullanılmıştır. Eksplantlar Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasından temin edilmiştir. Bitki materyalinin alınması sırasında kullanılacak olan eksplantın fizyolojik döneminin *in vitro* kültüre uygunluğuna dikkat edilmiştir. Tarladan sökülen soğanlar kuruması için oda sıcaklığında karanlıkta 1-1,5 ay, dormansi istediği içinde 4 °C'de 1-2 ay kadar bekletilmiştir

3.2.3 Eksplant sterilizasyonu

a- Olgunlaşmamış tohumların ve meyvelerin yüzey sterilizasyonu

Olgunlaşmamış tohumları içeren meyveler %80'lik ticari çamaşır suyu (ACE, %5-6 NaOCl) ile 20 dakika süreyle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra 3 kez 5'er dakika steril saf su ile durulanmıştır. Ayrıca olgun meyvelerin içinden çıkarılan tohumlar %40'lık ticari çamaşır suyunda 20 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulup, daha sonra 3 kez 5'er dakika steril saf su ile durulanmıştır (Şekil 3.4). Steril edilen olgunlaşmamış tohumlardan embriyolar, pens ve bistüri yardımıyla çıkarılıp steril petripler içerisindeki besin ortamlarına konulmuştur.



Şekil 3.4 *F. persica*'ya ait olgunlaşmamış embriyoları içeren tohumların yüzey sterilizasyonu ve sterilizasyondan sonra tohumdan çıkarılan embriyoların besin ortamına alınması

b- Soğan sterilizasyon yöntemleri

A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasından sökülen soğanların kuruması için oda sıcaklığında karanlıkta 1-1,5 ay, dormansi isteği içinde 4 °C'de 1-2 ay kadar bekletildikten sonra soğan sterilizasyonu için değişik yöntemler uygulanmıştır. Bu yöntemler aşağıda verilmiştir.

İlk yöntemde soğanlar birkaç damla deterjan içeren su ile yıkanıp çeşme suyu içinde 15 dakika, ardından 1 saat fungusitte bekletilip durulanmıştır. Durulanan soğanlar sırasıyla %70'lik ethanolde 2 dakika, %1.0 v/v'lik Tween 20 ve %50'lik hidrojen peroksit ile 15

dakika manyetik karıştırıcıda yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Sterilizasyonu yapılan soğanlar 3 kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile durulanmıştır. Son olarak %1 v/v'lik PPM (Plant Protection medium)'da 1 saat bekletilerek soğanlar parçalanmadan tüm olarak MS besin ortamı içeren magenta kaplarına dikilmiştir. Yüzey sterilizasyonu yapılan soğanlar üzerinde 1 hafta sonunda hepsinde fungus gözlenmiştir.

İkinci yöntemde soğanlar birkaç damla deterjan içeren su ile yıkanıp çeşme suyu altında 15 dakika bekletilmiş, daha sonra %70' lik ethanolde 2 dakika beklettikten sonra %1.0 v/v'lık Tween 20 ve %50'lik ticari çamaşır suyunda (ACE) 20 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulup, soğanlar 3'er defa 5 dakika süreyle steril saf su ile durulanmıştır. Daha sonra 10 mg/l Amphotericin B ve Nystatin (fungusit) steril saf su içerisine ilave edilerek 20 dakika bekletilmiştir. Soğanlar tekrar 3 kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyonu yapılan soğanlar parçalanmadan tüm olarak 100 mg/l Augmentin içeren MS0 besin ortamına dikilmiştir. Bu yöntem ile de soğanlar üzerinde 1 hafta sonucunda fungus gözlenmiştir.

Üçüncü yöntemde soğanlar birkaç damla deterjanlı su ile yıkanıp çeşme suyu içinde 15 dakika, ardından %70' lik ethanolde 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra %100'lük çamaşır suyu ile 30 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulup, soğanlar 3 kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyonu yapılan soğanlar 5 x 5 mm² olacak şekilde parçalanarak MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Bu yöntemle *F. persica*'nın yüzey sterilizasyonunda fungus gözlenmemiştir. Fakat diğer türde fungus gözlenmiştir.

c- Yaprak ve yaprak sapı sterilizasyonu

F. persica'nın tarlada bulunan soğanlarından çıkan ilk yaprakları %70'lik ethanolde 2 dakika beklettikten sonra %50'lik ticari çamaşır suyu ile 10 dakika magnetik balık kullanılmadan şişe içinde çalkalanıp sterilizasyon yapılmıştır. Durulama 3 kez 5'er dakika steril saf suyla yapılmıştır.

d- Çiçek ve çiçek organları sterilizasyonu

F. persica'nın çiçek ve çiçek organları çiçek açmadan tomurcuk halinde iken temin edilmiştir. Tomurcuklar %50'lik hidrojen peroksit ile 10 dakika'ya kadar magnetik balık kullanılmadan şişe içinde çalkalanıp 3 kez 5'er dakika steril saf suyla durulanıp sterilizasyon yapılmıştır.

3.2.4 Tohumların *in vitro*'da çimlendirilmesi

Fritillaria tohumları önce %70'lik etanol ve %50'lik ticari çamaşır suyunda 20 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra 3 kez 5'er dakika steril saf su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyonuna tabi tutulan tohumlar MS besin ortamı içeren magenta kaplarında 4, 16 ve 24 °C'de çimlendirmeye alınmıştır. 4 °C'deki tohumlar 1-3 ay ön üşütmeye tabi tutulmuş ve daha sonra çimlenme durumunu gözlemek amacıyla 1'er ay aralıklarla 3'er adet magenta alınarak 16 °C'ye çıkarılmıştır. Tohumların sıcaklık derecelerine göre çimlenme yüzdesi gözlemlenmeye çalışılmıştır.

3.2.5 Doku kültürü tekniğinin yapılışı

a- Olgunlaşmamış embriyoların kültürü

Olgunlaşmamış embriyoların kültürü için temel besin ortamı olarak, N₆ ve MS mineral tuz ve vitaminleri, %2–6 oranında sukroz ve %0.6'lık agar kullanılmıştır. Ayrıca, soğancık oluşumunu teşvik etmek için MS besin ortamına 2,4-D, L-proline, casein hydrolysate ve mannitol gibi kimyasallar da ilave edilmiştir. Olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumu 2 farklı protokolda yürütülmüştür.

Birinci protokolde yüzey sterilizasyona tabi tutulan meyvelerden olgunlaşmamış embriyolar izole edilerek farklı oranlardaki büyüme düzenleyici içeren MS ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Her petri kutusuna 10 adet zarar görmemiş zigotik embriyo (yaklaşık 1 mm çapında) kültüre alınmıştır.

Eksplantlar 4 haftada bir aynı ortamda alt kültüre alınarak gelişimleri gözlenmiştir. Eksplantlar 6 ay sonra 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına aktarılarak 4°C'de yaklaşık 5 ay dormansi için bekletilmiştir. Daha sonra buradan 16 °C'ye çıkarılarak soğancık gelişimleri gözlenmiştir. Olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumu için aşağıdaki verilen ortamlar kullanılmıştır.

- 1- MS mineralleri ve vitaminleri içeren 0.25, 0.5 ve 1 mg/l TDZ ile 0 ve 0,5 mg/l NAA
- 2- MS mineralleri ve vitaminleri içeren 1, 2 ve 4 mg/l BAP ile 0, 0.25 ve 0,5 mg/l NAA
- 3- MS mineralleri ve vitaminleri içeren 0.5, 1 ve 2 mg/l Kinetin ile 0 ve 0.5 mg/l NAA
- 4- MS mineralleri ve vitaminleri içeren 1, 2 ve 4 mg/l 2,4 D
- 5- N₆ mineralleri ve vitaminleri içeren 2 mg/l 2,4 D

İlk dört ortam 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta, beşinci ortam ise 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta ve 24 °C'de karanlıkta kültüre alınmıştır.

İkinci protokolde MS yerine N₆ içeren besin ortamında 4 ayrı aşamada aşağıdaki gibi yürütülmüştür (Arslan vd. 2003, Mirici vd. 2005).

a) Kallus teşvik ortamı (KTO): N₆ mineralleri ve vitaminleri, 2.3 g/l L-proline, 200 mg/l kazein hidrolizat, 20 g/l sukroz, 2 mg/l 2,4-D, 6 g/l agar

b) Soğancık oluşturma ortamı (SOO): Kallus teşvik ortamı (KTO)+ 30 g/l mannitol

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

d) Soğancık olgunlaştırma ortamı (SOGO): MS, 20 g/l sukroz, 6 g/l agar

Bu protokolde embriyolar ilk olarak KTO (kallus teşvik ortamı)'na yerleştirilmiştir. Ortamda zigotik embriyolar 25 ± 1 °C'de karanlıkta 2 hafta süreyle inkübe edildikten

sonra, gelişen kalluslar SOO (soğancık oluşturma ortamı) ortamına aktarılmıştır. Bu çalışmada 2 haftada bir alt kültür yapılmıştır. Daha sonra soğancıkları taşıyan kalluslar SGO (soğancık geliştirme ortamı) ortamına aktarılarak, yavaş yavaş ışıklı ortama alıştırmıştır. Son olarak kültürler SOGO (Soğancık olgunlaştırma ortamı) ortamına aktarılarak 2 ayda bir alt kültüre alınmıştır.

b- Etili soğan pul yaprakların kültürü

Etili soğan pul yaprakları için MS mineral tuz ve vitaminleri, 4 mg/l BAP ile 0,5 mg/l veya 1 mg/l NAA ve 6 g/l agar kullanılmıştır.

c- Olgunlaşmış tohumların in vitro'da çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültürü

Bu çalışmada *F. persica* tohumlarının çimlendirilmesiyle gelişen yaklaşık 0,5 cm çapındaki soğancıklar 2'ye kesilerek 0, 0,5, 1, 1.5 ve 2 mg/l TDZ içeren MS besin (MS mineral tuz ve vitaminleri ve %0.6 agar) ortamında 16 °C'de 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Ayda bir kez alt kültür yapılmış olup, daha sonra eksplantlar üzerinde soğan oluşumu ve gelişimini sağlamak amacıyla 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına aktarılmıştır.

d- In vitro'da gelişen soğancıkların yaprak ve yaprak saplarının kültürü

In vitro'da gelişen soğancıkların yaprak ve yaprak sapları 2, 4 ve 6 mg/l 2,4-D ile 0,2 mg/l Kinetin içeren MS besin (MS mineral tuz ve vitaminleri ve %0.6'lık agar) ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta 24 °C'de kültüre alınmıştır. Yapraklar boyuna ortadan kesilip, dış kısımları ve orta kısımdaki damarları uzaklaştırılarak kalan parçalar 0,5 cm çapında, yaprak sapları da 1 cm uzunluğunda kesilerek oksin ve sitokininleri içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır.

e- Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü

a- Yaprak ve yaprak sapı kültürü

Tarlada ilk çıkan *Fritillaria* türlerinin yaprak ve yaprak sapı sterilizasyon işleminden sonra yaprak boyuna ortadan kesilip daha sonra 0,5 cm'lik yaprak ve yaprak sapı eksplantları karanlıkta kültüre alınmıştır. Her iki eksplantlar için kullanılan ortamlar aşağıda verilmiştir.

i- SH besin ortamı

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

ii- MS besin ortamı

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

iii- N₆ besin ortamı

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

b- Çiçek ve çiçek organları kültürü

F. persica'nın çiçek organları yüzey sterilizasyonundan sonra ovaryum ve anterleri alınarak eksplant olarak kullanılmıştır. 5'er tane eksplant 1, 2, 4 ve 8 mg/l Zeatin ve 0, 0.5, 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında karanlıkta kültüre alınmıştır.

3.2.6 Köklendirme çalışmaları

Soğancıkların köklenmesinde herhangi bir sorun yaşanmamıştır. Bu nedenle ayrıca bir köklendirme çalışması yapılmamıştır.

3.2.7 *In vitro*'da üretilen soğancıkların olgunlaştırılması ve dış şartlara alıştırılması

In vitro'da üretilen *Fritillaria* soğancıklarının küçük ve bitki dokularının gevşek olması sebebiyle soğancıkların olgunlaştırılması ve bitki dokularının sıkılaştırmasını sağlamak amacıyla aşağıdaki denemeler yapılmıştır.

i- Agar - jelrit denemesi

In vitro'da gelişen soğancıklar değişik oranlarda agar ve jelrit katılaştırıcıları kullanılan MS besin ortamında kültüre alınmıştır.

ii- Tuz denemesi

In vitro'da gelişen soğancıklar 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına 10 ve 20 g/l oranlarında KCl, NaCl ve CaCl₂ ilave edilerek kültüre alınmıştır. Tüm kültürler 16 °C'de 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta gerçekleşmiştir. Soğancıklar 15 gün sonra MS besin ortamına aktarılmış, 1 ay sonrada kasalar içerisine dikilerek dış koşullara aktarılmıştır.

iii- Agar – jelrit – sıcaklık denemesi

In vitro'da gelişen soğancıklar değişik oranlarda agar ve jelrit katılaştırıcıları kullanılan MS besin ortamına alınarak 4, 16 ve 23 °C'de kültüre alınmıştır.

Soğancıkların olgunlaştırma çalışmalarından sonra dış koşullara aktarılmasından önce dormansinin kırılması için 4 °C'de 2 ay bekletilmiştir. Daha sonra steril edilmiş 2:1:1:1 oranında torf, vermikülit, kum ve perlit karışımına dikilip üzerlerine nem kaybını önlemek için poşet geçirilmiş ve 23 °C'deki iklim odasına alınmıştır.

3.2.8 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

Rejenerasyon denemeleri 4 tekerrürlü olarak Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre kurulmuş olup, her bir tekerrürde 10 ekplantın kültüre alındığı 100x10 mm'lik petri kutuları kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler bilgisayarda "SPSS for Windows" programı ile tesadüf parselleri deneme desenine göre analiz edilmiştir. Uygulama ortalamaları Duncan testi ile karşılaştırılmıştır. Yüzde değerleri istatistik analizi yapılmadan önce "arcsin transformasyon"una tabi tutulmuştur (Snedecor ve Cochran 1967).

4. BULGULAR

4.1 *F. imperialis* ve *F. persica* Tohumlarının *In Vitro* Çimlendirilmesi

4.1.1 *F. imperialis* tohumlarının *in vitro*'da çimlendirilmesi

F. imperialis'e ait tohumlar yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra çimlendirilmesi için MSO besin ortamına yerleştirilerek 4, 16 ve 24 °C'de kültüre alınmıştır. Soğanlı bitkilerdeki dormansi isteği göz önüne alınarak çimlenme durumlarına göre 4 °C'deki tohumlar 1-3 ay ön üşütmeye tabi tutulmuş ve daha sonra 16 °C'ye çıkarılmıştır. *F. imperialis*'in değişik sıcaklık ve sürelerin çimlenme oranına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı sıcaklık ve sürelerin *F. imperialis* tohumlarının çimlenmesine etkisine ait varyans analizi

V.K	Çimlenme oranı (%)		
	S.D	K.O	F
Sıcaklık	4	5560.00	166.80**
Hata	10	33.33	-
Genel	14	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.1 incelendiğinde, çimlenme oranına sıcaklığın etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı sıcaklık ve sürelerin *F. imperialis* tohumlarının çimlenmesine etkisi

Çimlenme derecesi (°C)	4 °C'de kalma süresi (ay)	Çimlenme oranı (%)
4	1	0.0 c
4	2	46.7 b
4	3	96.7 a
16	–	0.0 c
24	–	0.0 c

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.2 incelendiğinde, en yüksek çimlenme oranı %96.7 ile 4 °C'de 3 ay sonucunda elde edilmiştir. 24 °C'deki tohumlarda 1 hafta içerisinde kararma meydana gelmiş, çimlenme olmamıştır. 16 °C'de bulunan tohumlarda çimlenme ve kararma görülmemiştir. 4 °C'de 1 ay bekletilen tohumlar 16 °C'ye çıkarıldığında kararma ve çimlenme olmazken, burada 2-3 ay bekletilen tohumlarda çimlenme başlamıştır. 16 °C'ye çıkarıldığında ise 1 hafta içerisinde çimlenen tohumlarda yeşil sürgünler meydana gelmiştir. Bundan 1 hafta sonra da çimlenen tohumlar soğancık oluşturmaya başlamıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *F. imperialis* tohumlarının 2-3 ay içerisinde 4 °C'de çimlenmesi (solda) ve 16 °C'ye alınmış tohumların sürgün ve soğancık oluşturması (sağda)

4.1.2 Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi

Siverek kökenli *F. persica* tohumları yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra çimlendirilmesi için MSO besin ortamına yerleştirilerek 4, 16 ve 24 °C’de kültüre alınmıştır. Soğanlı bitkilerdeki dormansi isteği göz önüne alınarak çimlenme durumlarına göre 4 °C’deki tohumlar 1-3 ay ön üşütmeye tabi tutulmuş ve daha sonra 16 °C’ye çıkarılmıştır. Değişik sıcaklık ve sürelerin *F. persica* tohumlarının çimlenme oranına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı sıcaklık ve sürelerin Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının çimlenmesine etkisine ait varyans analizi

V.K	Çimlenme oranı (%)		
	S.D	K.O	F
Sıcaklık	4	7600.00	228.00**
Hata	10	33.33	-
Genel	14	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.3 incelendiğinde çimlenme oranına sıcaklığın etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.4’te verilmiştir.

Çizelge 4.4 Farklı sıcaklık ve sürelerin Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının çimlenmesine etkisi

Çimlenme derecesi (°C)	4 °C’de kalma süresi (ay)	Çimlenme oranı (%)
4	1	0.0 b
4	2	86.7 a
4	3	96.7 a
16	–	0.0 b
24	–	0.0 b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.4 incelendiğinde 24 °C’deki Siverek kökenli *F. persica* tohumlarında 1 hafta içerisinde kararmadan dolayı çimlenme olmamıştır. 16 °C’de bulunan tohumlarda çimlenme ve kararma görülmemiştir. 4 °C’de 1 ay bekletilen tohumlar 16 °C’ye çıkarıldığında kararma ve çimlenme olmazken, burada 2-3 ay bekletilen tohumlarda çimlenme başlamıştır ve en yüksek çimlenme oranı %96.66’dır. 16 °C’ye çıkarıldığında ise 1 hafta içerisinde çimlenen tohumlarda yeşil sürgünler meydana gelmiştir. Bundan 1 hafta sonra da çimlenen tohumlar soğancık oluşturmaya başlamıştır (Şekil 4.2).

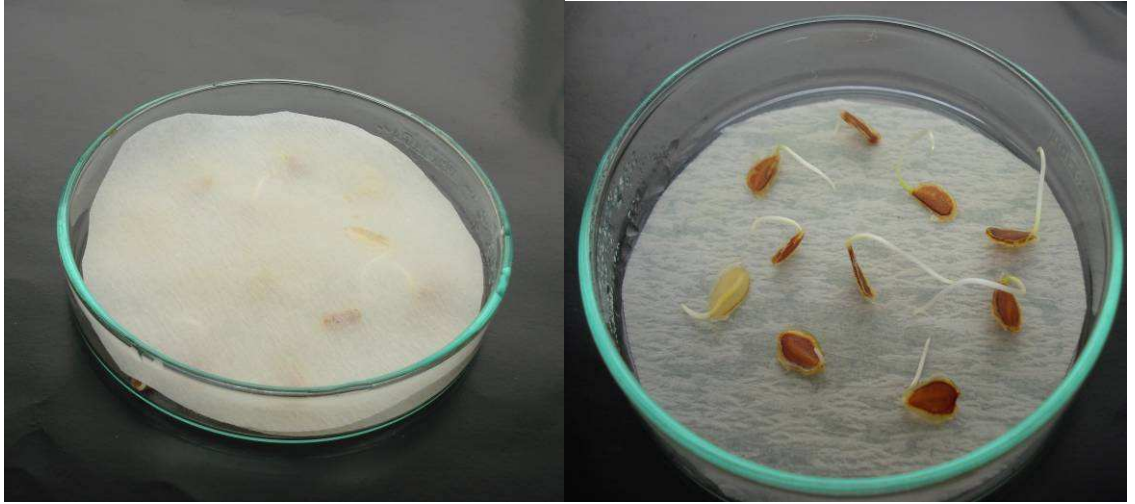


Şekil 4.2 *F. persica* (Siverek orijinli) tohumlarının 2-3 ay içerisinde 4°C’de çimlenmesi (solda) ve 16 °C’ye aktarılmış tohumların sürgün ve soğancık oluşturması (sağda)

4.1.3 Mersin kökenli *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi

Mersin kökenli *F. persica* tohumları yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra çimlendirilmesi için MSO besin ortamına yerleştirilerek 4, 16 ve 24 °C’de kültüre alınmıştır. Diğer türlerde de görüldüğü gibi 16 ve 24 °C’de çimlenme olmamış, 4 °C’de çimlenme olmuş fakat tohumlarında endogenik funguslardan dolayı bulaşık görülmüştür.

Bir başka çalışmada tohumlar filtre kağıdı arasında da çimlendirilmiştir (Şekil 4.3). Filtre kağıdı arasında çimlenme diğer besin ortamına göre daha çabuk ve %100’e yakın çimlenme olmuştur. Daha sonra sürgün ve soğancık oluşumu için MSO besin ortamına alınmıştır.



Şekil 4.3 *Fritillaria* tohumlarının filtre kağıdı arasında çimlenmesi

4.2 *Fritillaria imperialis*'te *In Vitro* Soğancık Elde Edilmesi

4.2.1 *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyolarının kültürü

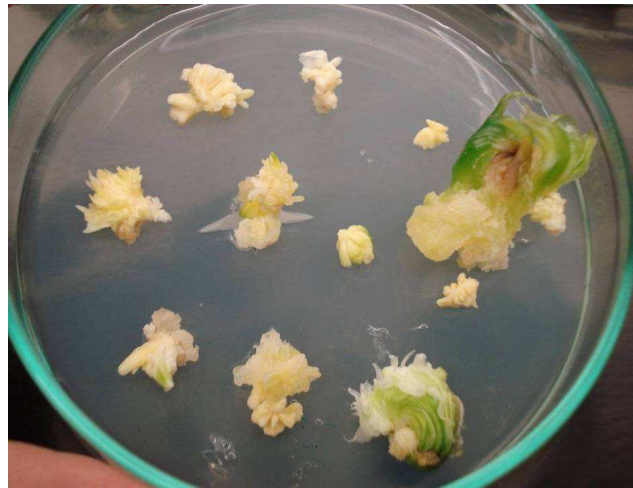
Birinci denemede doğal yetiştirme alanlarından toplanan *F. imperialis*'in olgunlaşmamış meyveleri yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra yaklaşık 1-2 mm büyüklüğündeki olgunlaşmamış tohumlardan embriyolar çıkartılarak birinci protokole

göre MS içeren besin ortamlarında 16 °C'de 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından yaklaşık 1 hafta sonra embriyoların hacimlerinde bir artış olup, 1 ay sonra da küçük ve sert kallus oluşumu başlamıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 1 ay sonra 0.25 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında kallus oluşumu

Kültürler ayda bir defa alt kültüre alınmıştır. Beş ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında çok sayıda sürgün gözlenmiştir (Şekil 4.5). Altı ay sonra olgunlaşmamış embriyolar üzerinde sürgün sayımı yapılmıştır.



Şekil 4.5 *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantları üzerinde 5 ay sonra 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün gelişimi

Kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı TDZ ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.5 Farklı TDZ ve NAA dozlarının *F. imperialis*’in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	656.66	3.42**	110.00	0.73	1.53	1.85*
Hata	18	191.66	-	150.00	-	0.82	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.5 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi 0.01 ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Farklı TDZ ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
TDZ	NAA			
0.25	0	32.5 ab ¹	72.5	3.23 b ²
0.25	0.5	45.0 a	75.0	4.40 ab
0.5	0	32.5 ab	67.5	3.90 ab
0.5	0.5	25.0 ab	77.5	5.06 a
1	0	15.0 b	77.5	3.77 ab
1	0.5	10.0 b	65.0	4.14 ab

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.6 incelendiğinde, *F. imperialis*'te kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %45.0 ile 0.25 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, en düşük değer ise %10.0 ile 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımından en fazla sürgün sayısı 5.06 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ve en az 3.23 adet sürgün sayısı 0.25 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Soğancık oluşumunu teşvik etmek amacıyla ilk 6 aylık sürgün rejenerasyonundan sonra eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 ay bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır (Şekil 4.6). Kültür başlangıcından 14 ay sonra soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.6 Kültür başlangıcından 14 ay sonra 0.25 mg/l TDZ içeren MS besin ortamında olgunlaşmamış *F. imperialis* embriyolarından soğancık oluşumu

Çizelge 4.7 Farklı TDZ ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	1996.66	31.25**	6.91	1.06*	0.53	1.20**
Hata	18	63.88	-	6.48	-	0.44	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.7 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı ve soğancık çapına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, eksplant başına soğancık sayısına ortamların etkisi ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4. 8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Farklı TDZ ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
TDZ	NAA			
0.25	0	47.5 b ¹	5.12 ab ²	4.02 a ¹
0.25	0.5	45.0 b	4.78 ab	3.37 ab
0.5	0	52.5 b	7.12 a	3.26 b
0.5	0.5	95.0 a	7.22 a	3.72 ab
1	0	85.0 a	3.95 b	3.95 ab
1	0.5	85.0 a	5.92 ab	4.15 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.8 incelendiğinde *F. imperialis*'te soğancık oluşturan eksplant oranı en fazla %95.0 ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ve en az (%45.0) 0.25 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı ise en fazla 7.22 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ve en az 3.95 ile 1 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir. Soğancık çapı en yüksek 4.15 mm ile 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük (3.26 mm) 0.5 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir.

F. imperialis'in kültür başlangıcından 14 ay sonra 0.5 mg/l TDZ içeren MS besin ortamında olgunlaşmamış embriyolardan soğancık ve yaprak oluşumu Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7 *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyolarından 14 ay sonra 0.5 mg/l TDZ içeren MS besin ortamında oluşan soğancıklar

İkinci denemede *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı BAP ve NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Denemede kallus oluşumu çok az olurken çok sayıda tek sürgün oluşumu gözlenmiştir. 6 ay sonra kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 Farklı BAP ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	68.75	3.53**	1188.19	6.48**	3.53	2.35**
Hata	18	19.44	-	183.33	-	1.42	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.9 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 Farklı BAP ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
BAP	NAA			
1	-	5.0 b	55.0 a	2.34 abc
1	0.25	2.5 b	45.0 ab	2.49 abc
1	0.5	12.5 a	35.0 abc	3.06 a
2	-	0.0 b	32.5 bc	1.66 abc
2	0.25	0.0 b	22.5 cd	2.79 ab
2	0.5	2.5 b	22.5 cd	2.77 ab
4	-	0.0 b	7.5 d	1.0 bc
4	0.25	0.0 b	7.5 d	1.0 bc
4	0.5	0.0 b	7.5 d	0.62 c

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.10 incelendiğinde, *F. imperialis*'te kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %12.5 ile 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük değer ise %2.5 ile 1 mg/l BAP ve 0.25 mg/l NAA veya 1 mg/l BAP ve 0.25 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Ayrıca ortamda BAP oranı artışı kallus oluşumuna olumsuz etkisi görülmüştür. 2 mg/l BAP ile 0.5 mg/l NAA içeren ortam dışında diğer ortamlarda kallus gözlenmemiştir. *F. imperialis*'te olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında BAP ve NAA içeren MS besin ortamında düşük oranda kallus ve sürgün oluşumu meydana gelmiştir (Şekil 4.8). Eksplantlardan tek sürgünler meydana gelmiş olup, istenilen oranda sürgün ve soğancık oluşmamıştır.

Sürgün oluşturan eksplant oranı %7.5-55.0 arasında gözlenirken en yüksek değer %55.0 1 mg/l BAP ve en düşük %7.5 sürgün oluşturan eksplant oranı 4 mg/l BAP ile 0, 0.25, ve 0.50 mg/l NAA içeren ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımından 0.62 ile 3.06 adet arasında kaydedilmiştir. En fazla sürgün sayısı 1 mg/l BAP ile 0.25 mg/l NAA ve en düşük 0.62 ise 4 mg/l BAP ile 0.50 mg/l NAA içeren ortamında kaydedilmiştir.



Şekil 4.8 Kültür başlangıcından 4 ay sonra 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında *F. imperialis* embriyolarından sürgün oluşumu

Soğancık oluşumunu teşvik etmek amacıyla ilk 6 aylık sürgün rejenerasyonundan sonra eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C’de 6 ay bekletilmiştir. 4 °C’de bekletilen kültürler 16 °C’ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Farklı BAP ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	3590.27	12.46**	23.08	5.59**	23.25	12.25**
Hata	18	287.96	-	4.13	-	1.89	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.11 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12 Farklı BAP ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
BAP	NAA			
1	-	72.5 a	4.81 ab	5.88 a
1	0.25	70.0 a	4.07 abc	5.46 ab
1	0.5	65.0 ab	7.16 a	6.06 a
2	-	67.5 ab	3.67 bcd	4.96 ab
2	0.25	17.5 cd	3.67 bcd	6.04 a
2	0.5	42.5 bc	5.82 ab	3.51 b
4	-	17.5 cd	0.79 de	1.46 c
4	0.25	5.0 d	1.12 cde	0.98 c
4	0.5	0.0 d	0.0 e	0.0 c

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.12 incelendiğinde *F. imperialis*'te kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında soğancık oluşturan eksplant oranı %0 ile 72.5 arasında kaydedilmiştir. Soğancık oluşturan eksplant oranı en fazla %72.5 ile 1 mg/l BAP ve en az ise %5.0 ile 4 mg/l BAP ve 0.25 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Ayrıca, 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından soğancık elde edilememiştir. Eksplant başına soğancık sayısı bakımından en yüksek değer 7.16 adet ile 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA ve en düşük değer ise 0.79 adet ile 4 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. 6.06 mm ile 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında en yüksek soğancık çapı oluşurken, 0.98 mm ile 4 mg/l BAP ve 0.25 mg/l NAA içeren besin ortamında en düşük soğancık çapı elde edilmiştir.

Üçüncü denemede *F. imperialis*'te kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı Kinetin ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	1406.66	4.96**	857.50	3.88**	2.96	2,62**
Hata	18	283.33	-	220.83	-	1.13	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.13 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
Kinetin	NAA			
0.5	-	40.0 ab	72.5 a	5.23 a
0.5	0.5	62.5 a	52.5 ab	3.55 ab
1	-	22.5 bc	50.0 abc	4.30 ab
1	0.5	42.5 ab	57.5 ab	3.76 ab
2	-	10.0 c	47.5 bc	3.81 ab
2	0.5	22.5 bc	27.5 c	2.62 b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.14 incelendiğinde *F. imperialis*'te kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %62.5 ile 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA ve en düşük değer ise %10 ile 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %72.5 ile 0.5 mg/l Kinetin ve en düşük değer ise %27.50 ile 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. 5.23 adet ile 0.5 mg/l Kinetin içeren besin ortamında en fazla sürgün oluşurken 2.62 adet ile 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında en az sürgün elde edilmiştir.

Soğancık oluşumunu teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 aya kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantları üzerinde soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	1504.16	6.81**	11.11	5.61**	5.86	7.38**
Hata	18	220.83	-	1.98	-	0.79	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.15 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı, sürgün, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının *F. imperialis*'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
Kinetin	NAA			
0.5	-	87.5 a	6.04 ab	6.18 a
0.5	0.5	87.5 a	5.2 abc	4.66 b
1	-	82.5 a	3.58 cd	5.07 ab
1	0.5	62.5 b	6.79 a	5.28 ab
2	-	57.5 c	4.25 bcd	4.35 b
2	0.5	40.0 c	2.25 d	2.57 c

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.16’da görüldüğü gibi olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında soğancık oluşturan eksplant oranı %40.0 ile 87.5 arasında kaydedilmiştir. En fazla soğancık oluşturan eksplant oranı (%87.50) 0.5 mg/l Kinetin ile 0, 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. En az soğancık oluşturan eksplant oranı (%40.0) ise 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğan sayısı 2.25-6.79 adet ve soğan çapı ise 2.57-6.18 mm arasında kaydedilmiştir. En fazla eksplant başına soğan sayısı 1 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA ve en az eksplant başına soğan sayısı ise 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. 6.18 mm ile 0.5 mg/l Kinetin içeren besin ortamında en yüksek soğan çapı oluşurken, 2.57 mm ile 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında en düşük soğan çapı elde edilmiştir.

Dördüncü denemede *F. imperialis*’te kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı 2,4-D dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17 Farklı 2,4-D dozlarının *F. imperialis*’in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	1158.33	13.90**	33.33	3.00**	1.33	3.00**
Hata	9	83.33	-	11.11	-	0.44	-
Genel	11	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.17 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18 Farklı 2,4-D dozlarının *F. imperialis*’in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
2,4-D			
1	0.0 b	1.0	5.0
2	32.5 a	0.0	0.0
4	7.5 b	0.0	0.0

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %32.5 ile 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise %7.5 ile 4 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. 1 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında kallus oluşumu olmamıştır. Eksplantlar üzerinde kallus oluşumu olduktan sonra, kalluslar üzerindeki kararmalar nedeniyle gelişme olmamış dolayısıyla sürgün oluşumu gözlenememiştir.

4.2.2 *F. imperialis*’in etli soğan pul yapraklarının kültürü

F. imperialis’in etli soğan pul yapraklarının yüzey sterilizasyonu için 3 farklı yöntem denenmiş ancak başarılı olmamış ve eksplantlar üzerinde bakteriyel ve fungus kökenli bulaşıklıklar giderilememiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 *F. imperialis*'in soğanlarının yüzey sterilizasyonundan 1 hafta sonra gözlenen bulaşıklık durumu

4.2.3 Yaprak ve yaprak sapı kültürü

F. imperialis'in tarladaki soğanlarından çıkan ilk yaprakları yüzey sterilizasyonu yaptıktan sonra 24 °C'de karanlıkta kültüre alınmıştır. Ancak, tüm eksplantlar üzerinde kararmalar olmuş ve gelişme gözlenmemiştir.

4.3 Siverek Kökenli *Fritillaria persica*'da *In Vitro* Soğancık Elde Edilmesi

4.3.1 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarının kültürü

İlk çalışmada doğal yetiştirme alanlarından toplanan Siverek kökenli *F. persica*'ya ait meyveler yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra yaklaşık 1-2 mm büyüklüğündeki olgunlaşmamış embriyolar tohumlardan çıkartılarak Protokol 1'deki gibi (TDZ ve NAA içeren) ortamlarda 16 °C'de 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından yaklaşık 1 hafta sonra embriyoların hacimlerinde bir artış ve meristematik sürgünler gözlenmiş olup, 1 ay sonra da kallus (küçük ve sert) oluşumu başlamıştır. Daha sonra, kültürler aylık kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 6 ay sonra sürgün sayımı yapılarak, eksplantlarda

soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla 4 °C’de 6 aya kadar bekletilmiştir. Daha sonra, 4 °C’de bekletilen kültürler 16 °C’ye alınarak 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı TDZ ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.19’da verilmiştir.

Çizelge 4.19 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*’nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	246.66	2.86**	64.16	0.48	0.26	0.58
Hata	18	86.11	-	131.94	-	0.44	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.19 incelendiğinde, ortamların kallus oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ancak, ortamların sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
TDZ	NAA			
0.25	-	15.0 ab	40.0	2.39
0.25	0.5	15.0 ab	32.5	2.22
0.5	-	2.5 b	32.5	1.64
0.5	0.5	25.0 a	37.5	1.99
1	-	15.0 ab	37.5	2.15
1	0.5	22.5 a	42.5	2.17

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.20 incelendiğinde, kültür başlangıcından 6 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı %2.5-25 arasında bulunmuştur. En fazla kallus oluşturan eksplant oranı 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ve en az ise 0.5 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla %32.50-42.50 ve 1.64-2.29 adet olarak kaydedilmiştir.

Soğancık oluşumunu teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 ay'a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından soğan oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğan sayısı ve soğan çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.21'de verilmiştir.

Çizelge 4.21 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	597.50	3.18**	18.17	2.09*	1.22	1.79*
Hata	18	187.50	-	8.6	-	0.68	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.21 incelendiğinde, ortamların soğancık oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına etkisi ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
TDZ	NAA			
0.25	0	52.5 abc ¹	6.66 ab ²	5.29 a ²
0.25	0.5	47.5 bc	10.19 a	5.03 ab
0.5	0	37.5 c	7.96 ab	5.22 ab
0.5	0.5	72.5 a	3.96 b	4.36 ab
1	0	50.0 bc	5.64 ab	3.90 b
1	0.5	62.5 ab	7.64 ab	5.02 ab

¹Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

²Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.22 incelendiğinde, kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında soğancık oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %72.5 ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise %37.5 ile 0.5 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı bakımından en yüksek değer %10.19 ile 0.25 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise % 3.96 ile 0.25 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Soğancık çapı en fazla 5.29 mm ile 0.25 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük 3.9 mm ile 1 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir.

İkinci denemede Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı BAP ve NAA içeren ortamlarında kültüre alınmıştır. Eksplantlarında kültür başlangıcından 1 ay sonra küçük ve sert kallus oluşumu meydana gelmiş olup, meristematik uçlar gözlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından kültür başlangıcından 1 ay sonra küçük-sert kallus ve meristematik uçların oluşumu

6 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında somatik embriyolardan sürgünler meydana gelmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kültür başlangıcından 6 ay sonra 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün oluşumu

Kültür başlangıcından 6 ay sonra farklı BAP ve NAA dozlarına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.23'te verilmiştir.

Çizelge 4.23 Farklı BAP ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	238.19	2.05**	584.02	4.32**	0.74	0.41
Hata	18	115.74	-	135.18	-	1.81	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.23 incelendiğinde, ortamlarının kallus oluşturan eksplant oranı ve sürgün oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ortamların eksplant başına sürgün sayısına etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.24'te verilmiştir.

Çizelge 4.24 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
BAP	NAA			
1	-	7.50 b	20.0 bc	2.04
1	0.25	17.5 ab	40.0 a	2.52
1	0.5	25.0 ab	40.0 a	1.95
2	-	20.0 ab	27.5 abc	2.6
2	0.25	30.0 a	40.0 a	2.45
2	0.5	15.0 ab	35.0 ab	2.57
4	-	7.5 b	10.0 c	1.87
4	0.25	10.0 b	20.0 bc	2.7
4	0.5	15.0 ab	12.5 c	3.25

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.24 incelendiğinde, kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer (%30.0) 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l NAA ve en düşük değer (%7.5) 1 mg/l BAP ve 4 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer (%40) 1 mg/l BAP ile 0.25 mg/l NAA, 1 mg/l BAP ile 0.5 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP ile 0.25 mg/l NAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. En düşük (%10.0) Sürgün oluşturan eksplant oranı 4 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1.80 ile 3.25 adet kaydedilmiştir.

Soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C’de 6 ay’a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C’de bekletilen kültürler 16 °C’ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.25’te verilmiştir.

Çizelge 4.25 Farklı BAP ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*’nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	3590.27	12.46**	11.49	0.39	1.26	0.62
Hata	18	287.96	-	29.03	-	2.01	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.25 incelendiğinde, ortamların soğancık oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ortamların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.26’da verilmiştir.

Çizelge 4.26 Farklı BAP ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
BAP	NAA			
1	-	20.0 cd	5.33	5.15
1	0.25	45.0 ab	10.03	4.58
1	0.5	37.5 abc	9.87	4.95
2	-	45.0 ab	10.9	5.18
2	0.25	52.5 a	8.09	5.38
2	0.5	25.0 bcd	7.12	3.74
4	-	10.0 d	9.12	4.05
4	0.25	27.5 bcd	7.99	4.28
4	0.5	25.0 bcd	7.99	4.85

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.26'da görüldüğü gibi, kültür başlangıcından 14 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında en fazla (%52.5) soğancık oluşturan eksplant oranı 2 mg/l BAP ve 0.25 mg/l NAA ve en az (%10) ise 4 mg/l BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı 5.33-10.90 adet ve soğancık çapı 3.74-5.18 mm arasında kaydedilmiştir.

Üçüncü denemede Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı Kinetin ve NAA içeren ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 6 ay sonra Kinetin ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.27'de verilmiştir.

Çizelge 4.27 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	696.66	4.73**	730.00	2.98**	0.52	0.17
Hata	18	147.22	-	244.44	-	2.94	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.27 incelendiğinde, ortamların kallus oluşturan eksplant oranı ve sürgün oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına sürgün sayısı ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.28'de verilmiştir.

Çizelge 4.28 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)
Kinetin	NAA			
0.5	-	15.0 bc	22.5 bc	4.68
0.5	0.5	35.0 a	50.0 a	4.35
1	-	0.0 c	25.0 abc	3.95
1	0.5	27.5 ab	47.5 ab	3.92
2	-	5.0 c	17.5 c	3.7
2	0.5	17.5 abc	32.5 abc	3.9

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.28 incelendiğinde, kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı 0.0-35.0 arasında kaydedilmiştir. En fazla (%35.0) kallus oluşturan eksplant oranı 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA ve en az (%5.0) ise 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en fazla (%50.0) ve en (%17.50) sırasıyla 0.5 mg/l Kinetin ile 0.5 mg/l NAA ve 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 3.70-4.68 adet kaydedilmiştir.

Soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 ay'a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı Kinetin ve NAA dozlarının soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.29 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	610.00	4.99**	20.00	1.00*	1.88	0.61
Hata	18	122.22	-	19.86	-	3.08	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.29 incelendiğinde, ortamların soğancık oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, eksplant başına soğancık sayısına etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Soğancık çapına ortamların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz

bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.30 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
Kinetin	NAA			
0.5	-	22.5 b ²	7.56 b ¹	5.96
0.5	0.5	50.0 a	8.05 ab	6.02
1	-	22.5 b	11.12 ab	6.57
1	0.5	32.5 b	11.75 ab	7.72
2	-	15.0 b	12.62 a	6.56
2	0.5	22.5 b	12.5 a	7.2

¹Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

²Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.30 incelendiğinde, 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında en fazla (%50) soğancık oluşturan eksplant oranı 0.5 mg/l Kinetin ile 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. En düşük değer ise %15 ile 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık oluşumu bakımından en yüksek değer 12.62 adet ile 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. En düşük değer ise 7.56 mm ile 0.5 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Soğancık çapı en yüksek 7.72 mm ile 1 mg/l Kinetin ile 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük 5.96 mm ile 0.5 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kültür başlangıcından 14 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancıklar oluşmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından kültür başlangıcından 14 ay sonra 2 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında soğancık oluşumu

Dördüncü denemede Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı 2,4-D dozları içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 6 ay sonra sonuçlara ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.31'de verilmiştir.

Çizelge 4.31 Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

VK	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	
	SD	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	758.33	5.80**	233.33	1.03*	4.66	1.96*
Hata	9	130.55	-	225.00	-	2.37	-
Genel	11	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.31 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, sürgün oluşturan eksplant oranına ve eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.32’de verilmiştir.

Çizelge 4.32 Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli *F. persica*’nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
2,4-D			
1	30.0 b ¹	22.5 b ²	2.33 b ²
2	32.5 b	32.5 ab	2.87 b
4	55.0 a	37.5 a	4.41 a

¹Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

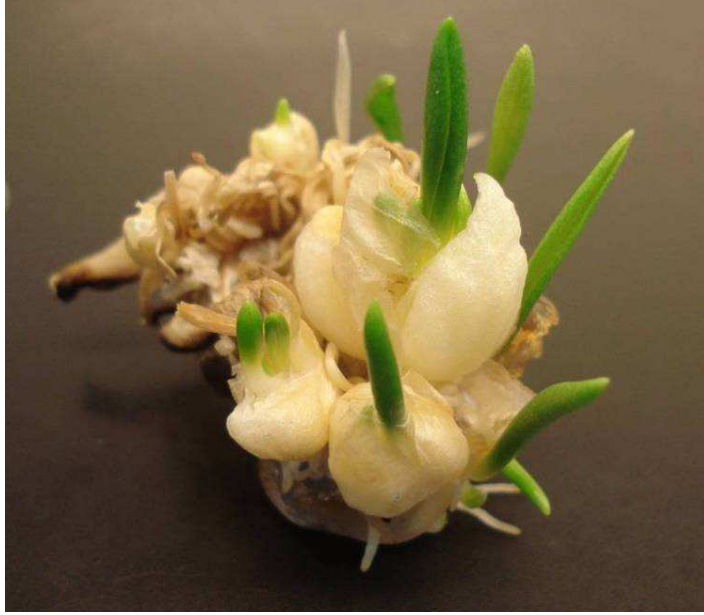
²Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.32 incelendiğinde, kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında en fazla kallus oluşturan eksplant oranı (%55), sürgün oluşturan eksplant oranı (%37.5) ve eksplant başına sürgün sayısı (4.41 adet) 4 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük kallus oluşturan eksplant oranı (%30.0), sürgün oluşturan eksplant oranı (%22.5) ve eksplant başına sürgün sayısı (2.33 adet) ise %30 ile 1 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Eksplantlarda soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C’de 6 ay’a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C’de bekletilen kültürler 16 °C’ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*’nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünler soğancığa dönüşmüştür (Şekil 4.13- 4.14).



Şekil 4.13 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarında 14 ay sonra 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında gelişen sürgünlerin soğancığa dönüşmesi



Şekil 4.14 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarından 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında gelişen soğancıklar ve yeni oluşan kökler

Kültür başlangıcından 14 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından farklı 2,4-D dozlarının soğan oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğan sayısı ve soğan çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.33'te verilmiştir.

Çizelge 4.33 Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	758.33	4.40**	7.58	0.64	0.43	0.22
Hata	9	172.22	-	11.76	-	1.94	-
Genel	11	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.33 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ortamların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.34'te verilmiştir.

Çizelge 4.34 Farklı 2,4-D dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
2,4-D			
1	27.5 b	10.72	5.52
2	52.5 a	9.29	5.25
4	30.0 b	7.97	4.87

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.34'te görüldüğü gibi kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında en fazla (%52.5) ve en az (%27.5) soğancık oluşturan eksplant oranı sırasıyla 2 mg/l ve 1 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant

başına soğancık sayısı ve soğancık çapı önemsiz bulunurken sırasıyla 7.97-10.72 adet ve 4.87-5.52 mm arasında kaydedilmiştir.

4.3.2 Siverek kökenli *F. persica*'nın etli soğan pul yapraklarının kültürü

Siverek kökenli *F. persica*'nın etli soğan pul yapraklarının yüzey sterilizasyonu için 3 farklı yöntem denenmiştir. Uygulanan iki yöntemde fungus ve bakteriyel kökenli bulaşıklık gözlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 Siverek kökenli *F. persica* soğanlarının yüzey sterilizasyonu sonucunda gözlenen fungus ve bakteriyel kökenli bulaşıklık

Üçüncü yüzey sterilizasyonu yönteminde bulaşıklık gözlenmediği için kültüre alınan eksplantlar üzerinde kültür başlangıcından 1 ay sonra soğancıklar oluşmaya başlamıştır (Şekil 4.16). Sadece iki adet soğan eksplantı üzerinde 12 adet soğancık oluştuğu için istatistik analiz yapılamamıştır.



Şekil 4.16 Siverek kökenli *F. persica*'nın soğan eksplantları üzerinde kültür başlangıcından 1 ay sonra 4 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu

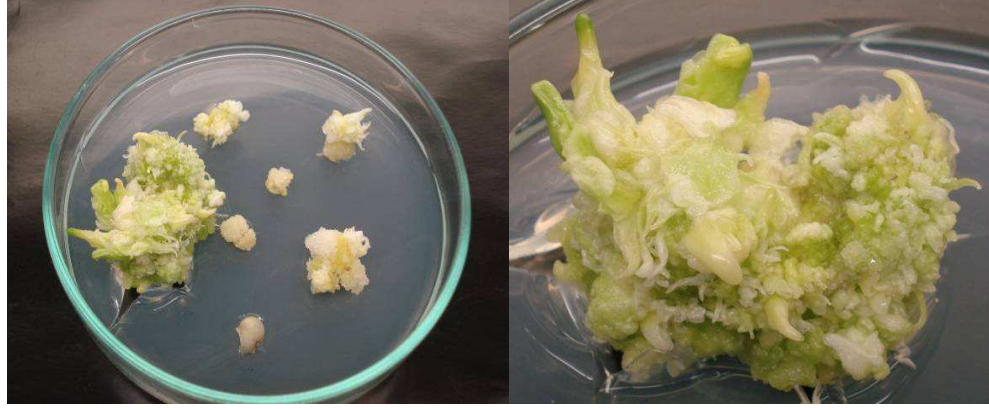
4.3.3 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgun tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültürü

In vitro'da Siverek kökenli *F. persica*'nın tohumlarının çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklar ikiye kesilerek 0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/l TDZ içeren jelrit veya agar ile katılaştırılan MS besin ortamında kültüre alınmıştır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklar ikiye kesilerek 0.5 mg/l TDZ içeren besin ortamında kültüre alınması

Kültür başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra kallus oluşumu ve kalluslar üzerinde sürgünler oluşmuştur (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 *F. Persica* 'nın soğancıkları üzerinde 3 hafta sonra gelişen kallus ve sürgünler

Kültürlerin ayda 1 defa alt kültürü yapılmış olup, 3 ay sonunda sürgün sayımı, 9 ay sonucunda da soğancık sayımı yapılmıştır. Eksplantlar üzerinde soğancık oluşumu ve gelişimini sağlamak amacıyla 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Daha sonra gelişen soğancıklarının iyice köklenmesi ve soğancıkların olgunlaşması amacı için 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına kültüre alınmıştır. 2 ay sonra adaptasyon sağlaması için soğancıklar dış koşullara aktarılmıştır.

Kültür başlangıcından 3 ay sonra *in vitro*'da Siverek kökenli *F. persica*'nın tohumlarının çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültüründe farklı TDZ dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı, eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.35'te verilmiştir.

Çizelge 4.35 Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 3 ay sonra sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	4	369.24	0.27	728.49	1.09*	7.16	0.29
Hata	10	1362.90	-	662.92	-	24.32	-
Genel	14	-	-	-	-	-	-

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.35 incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Kallus oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısı ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.36’da verilmiştir.

Çizelge 4.36 Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 3 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
TDZ			
0	38.88	16.66 c	1.83
0.5	42.22	36.66 b	5.55
1	24.44	13.33 c	3.5
1.5	33.33	16.66 c	3.66
2	54.44	48.88 a	5.44

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.36 incelendiğinde, kültür başlangıcından 3 ay sonra en fazla kallus oluşturan eksplant oranı (%54.44) ve sürgün oluşturan eksplant oranı (%48.88) 2 mg/l TDZ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Benzer şekilde en az kallus oluşturan eksplant oranı (%24.33) ve sürgün oluşturan eksplant oranı (%13.33) 1 mg/l TDZ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımından en fazla 5.55 adet, 0.5 mg/l TDZ içeren ve en az 1.83 adet ile TDZ içermeyen besin ortamında elde edilmiştir.

Eksplantlar soğancık oluşumu ve gelişimini sağlamak amacıyla 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına alındıktan sonra soğancıklar oluşmaya başlamış ve kültür başlangıcından 9 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 Siverek kökenli *F. persica*'nın çimlenen tohumlarından gelişen soğancıklardan 9 ay sonra 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında oluşan soğancıklar

Kültür başlangıcından 9 ay sonra *in vitro*'da Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültüründe farklı TDZ dozlarının soğan oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğancık sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.37'de verilmiştir.

Çizelge 4.37 Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 9 ay sonra soğancık oluşumuna ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Ortam	4	1106.66	1.48*	180.38	2.26*
Hata	10	746.66	-	79.59	-
Genel	14	-	-	-	-

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.37 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğancık sayısına ortamların etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.38’de verilmiştir.

Çizelge 4.38 Farklı TDZ dozlarının Siverek kökenli *F. persica* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle gelişen soğancıklarından 9 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

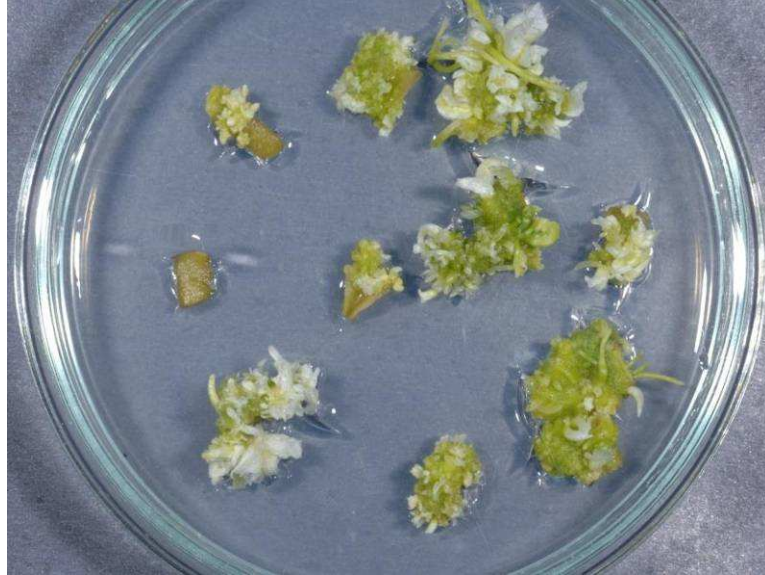
Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)
TDZ		
0	20.0 b	4.16 b
0.5	40.0 ab	10.88 ab
1	13.33 b	5.33 b
1.5	20.0 b	5.7 b
2	60.0 a	22.86 a

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.38 incelendiğinde, kültür başlangıcından 9 ay sonra en fazla (%60.0) soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğan sayısı (%22.86) 2 mg/l TDZ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. En az soğancık oluşturan eksplant oranı ise %13.33 ile 1 mg/l TDZ ve en düşük 4.16 adet eksplant başına soğancık sayısı TDZ içermeyen MS besin ortamında elde edilmiştir.

4.3.4 Siverek kökenli *F. persica*'nın *in vitro*'da gelişen soğancıklarının yaprak ve yaprak saplarının kültürü

In vitro'da gelişen Siverek kökenli *F. persica* soğancıklarının yaprak ve yaprak saplarının kültüründe %0.6'lık agar ile katılaştırılan temel besin ortamı olarak MS mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. Yaprak ve yaprak sapları (Yapraklar boyuna ortadan kesilip, dış kısımları ve orta kısımdaki damarları uzaklaştırılarak kalan parçalar 0,5 cm çapında ve yaprak sapları da 1 cm uzunluğunda) 2, 4 ve 6 mg/l 2,4-D ile 0,2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra yaprak eksplantları üzerinde kallus ve meristematik sürgün uçları oluşmuştur (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 Siverek kökenli *F. persica* soğancıklarından gelişen yaprak eksplantlarında 3 hafta sonra 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında kallus ve meristematik sürgün oluşumu

Kültür başlangıcından 3 ay sonra yaprak eksplantlarında somatik embriyolardan soğancıklar oluşmuştur. Soğancık oluşumu olurken çok sayıda kök oluşumu da gerçekleşmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21 Kültür başlangıcından 3 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın *in vitro*'da gelişen yaprak eksplantlarında 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında soğancık ve kök oluşumu

Kültür başlangıcından 6 ay sonra *in vitro*'dan alınan yaprak eksplantlarından farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi çizelge 4.39'da verilmiştir.

Çizelge 4.39 Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak eksplantlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	4300.00	6.78**	192.05	7.75**
Hata	6	633.33	-	24.75	-
Genel	8	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.39 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.40'ta verilmiştir.

Çizelge 4.40 Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak eksplantlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)
2,4-D	Kinetin		
2	0.2	73.33 a	14.44 a
4	0.2	63.33 a	16.93 a
6	0.2	3.33 b	2.00 b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.40 incelendiğinde, 6 ay sonra yaprak eksplantlarında en yüksek soğan oluşturan eksplant oranı (%73.33) 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren, en düşük (%3.33) ise 6 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğan sayısı bakımından en yüksek değer 16.93 adet ile 4 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük değer ise 2 adet ile 6 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Yaprak saplarının kültürü

Kültür başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra yaprak sapı eksplantları üzerinde embriyonik kalluslar ve meristematik sürgün uçları oluşmuştur (Şekil 4.22). 1 ay sonra yaprak sapı eksplantlarında somatik embriyoların oluşumu ve bunlardan soğancık oluşumu Şekil 4.23'te gösterilmiştir.



Şekil 4.22 Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak sapı eksplantlarında 3 hafta sonra 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında kallus ve meristematik sürgün oluşumu



Şekil 4.23 Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak sapı eksplantlarında somatik embriyo ve somatik embriyolardan soğancık oluşumu

Kültür başlangıcından 6 ay sonra yaprak sapı eksplantlarında somatik embriyolardan soğancık ve kök oluşumu Şekil 4.24'te gösterilmiştir.



Şekil 4.24 Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak sapı eksplantlarında 6 ay sonra somatik embriyolardan soğancık ve kök oluşumu

Kültür başlangıcından 6 ay sonra *in vitro*'da Siverek kökenli *F. persica*'nın soğancıklarından oluşan yaprak sapı eksplantlarından farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğancık sayısına etkisine ait varyans analizi çizelge 4.41'de verilmiştir.

Çizelge 4.41 Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak sapı eksplantlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna ait varyans analizi

V.K	Soğancık oluşturan eksplant oranı (%)			Eksplant başına soğancık sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	3900.00	29.25**	84.91	1.63*
Hata	6	133.33	-	51.91	-
Genel	8	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.41 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken eksplant başına soğancık sayısına ortamların etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.42'de verilmiştir.

Çizelge 4.42 Farklı 2,4-D ve Kinetin dozlarının Siverek kökenli *F. persica*'nın yaprak sapı eksplantlarında 6 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)
2,4-D	Kinetin		
2	0.2	100.0 a	10.6 b
4	0.2	50.0 b	13.85 b
6	0.2	30.0 b	21.0 a

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.42’de görüldüğü gibi, 6 ay sonra yaprak sapı eksplantlarında soğancık oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %100 ile 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise %30 ile 6 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı bakımından en yüksek değer 21 adet ile 6 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin ve içeren besin ortamından elde edilirken, en düşük değer 10.6 adet ile 2 mg/l 2,4-D ve 0.2 Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Siverek kökenli *F. persica*’nın yaprak sapı eksplantlarında soğancık oluştuktan sonra dış koşullara aktarılmadan önce soğancıklar bitki dokularının sıkılaşması için 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. 2 ay sonra soğancıkların bitki dokuları sıkılaşmış olup çok sayıda kök oluşmuştur (Şekil 4.25).



Şekil 4.25 Siverek kökenli *F. persica*’nın yaprak sapı eksplantlarından oluşan soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınması, soğancıklarda yeni kök ve yaprak oluşumu

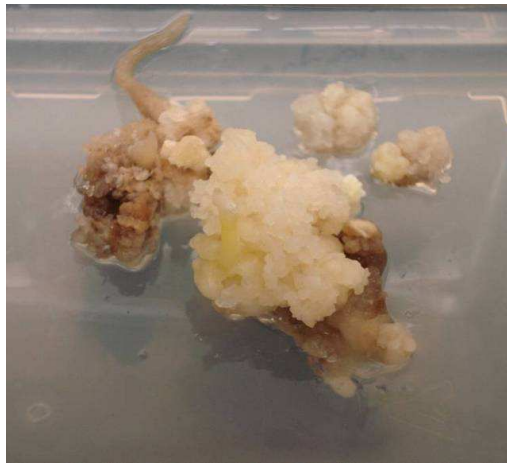
4.3.5 Siverek kökenli *F. persica*'nın Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü

Yaprak ve yaprak saplarının kültürü

Siverek kökenli *F. persica*'nın tarladan çıkan ilk yaprakların yüzey sterilizasyonundan sonra tüm eksplantlar 2 ve 4 mg/l 2,4-D ile 0.2 mg/l Kinetin içeren SH, 2 ve 4 mg/l 2,4-D ile 0.2 mg/l Kinetin içeren MS, 2 ve 4 mg/l 2,4-D ile 0.2 mg/l Kinetin içeren N₆ ve 5 g/l Prolin, 10g/l KCl, 30 g/l sukroz ilave edilen ve 6 g/l Agar ile katılaştırılan besin ortamlarında karanlıkta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 1 hafta sonra tüm eksplantlar üzerinde kararmalar olmuş ve gelişme gözlenmemiştir.

Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü

Siverek kökenli *F. persica*'nın mikrospor ve megaspor aşamasındaki açmamış çiçek tomurcukları alınarak ilk önce yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra tomurcukların anterleri ve ovaryumları alınarak 1, 2, 4, 8 mg/l Zeatin ve 0, 0.5, 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Anter ve ovaryum eksplantlarında 1 hafta içerisinde 4 mg/l Zeatin ve 1 mg/l Zeatin ile 0.5 mg/l IBA içeren MS besin ortamlarında ovaryum ve anter eksplantlarında kallus gözlenmiştir (Şekil 4.26) ve 3 hafta sonra sürgün oluşumu ve kararma görülmüştür (Şekil 4.27).



Şekil 4.26 *F. persica*'nın ovaryum eksplantlarından 1 ay sonra 4 mg/l Zeatin içeren MS besin ortamında kallus ile soğancık oluşumu ve kararma



Şekil 4.27 *F. persica*'ya ait anter eksplantlarında kültür başlangıcından yaklaşık 3 hafta sonra kallus ile soğancık oluşumu ve kararma

Kalluslar üzerinde 1'er adet soğancık oluşmuştur. Oluşan soğancıkların gelişmesi için 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına aktarılarak 16 °C'de kültüre alınmıştır. İstatistik analizi yapılacak oranda gelişme olmadığı için istatistik analizi yapılmamıştır.

4.4 Mersin kökenli *F. persica*'da *In Vitro* Soğancık Elde Edilmesi

4.4.1 Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarının kültürü

Mersin kökenli *F. persica*'ya ait meyveler yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra yaklaşık 1-2 mm büyüklüğündeki olgunlaşmamış embriyolar tohumlardan çıkartılarak Protokol 1'deki (MS) ortamlarda 16 °C'de 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından yaklaşık 1 hafta sonra embriyoların hacimlerinde bir artış ve meristematik sürgünler gözlenmiş olup, 1 ay sonra da küçük ve sert kallus oluşumu başlamıştır (Şekil 4.28).



Şekil 4.28 Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 1 hafta sonra 0.5 TDZ ve 0.5 NAA içeren MS besin ortamında embriyoların hacimlerindeki artış ve kallus oluşumu

Kültürler ayda 1 kere alt kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı TDZ ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.43'te verilmiştir.

Çizelge 4.43 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	20.00	0.15	214.16	0.68	12.26	3.24**
Hata	18	127.77	-	312.50	-	3.77	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.43 incelendiğinde, eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün oluşturan eksplant oranı ve kallus oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.44'te verilmiştir.

Çizelge 4.44 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)
TDZ	NAA			
0.25	0	32.5	35.0	2.69 b
0.25	0.5	35.0	52.5	6.2 a
0.5	0	37.5	42.5	4.75 ab
0.5	0.5	32.5	40.0	6.36 a
1	0	35.0	32.5	2.2 b
1	0.5	37.5	35.0	3.75 ab

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.44'te görüldüğü gibi, kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı bakımından en yüksek değer 6.36 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise 2.2 adet ile 1 mg/l TDZ içeren besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla %32.50-52.50 ve 2.20-6.36 adet olarak kaydedilmiştir.

Sürgün sayımı yapıldıktan 6 ay sonra eksplantlarda soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 ay bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alınarak 2 ay bekletildikten sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.45'te verilmiştir.

Çizelge 4.45 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	30.00	0.13	101.50	1.05*	0.32	0.76
Hata	18	225.00	-	96.28	-	0.42	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.45 incelendiğinde, ortamlarının eksplant başına soğancık sayısına etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Fakat soğancık oluşturan eksplant oranı ve soğancık çapı istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.46'da verilmiştir.

Çizelge 4.46 Farklı TDZ ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
TDZ	NAA			
0.25	0	45.0	20.23 b	5.3
0.25	0.5	47.5	28.93 a	4.83
0.5	0	45.0	22.18 b	5.12
0.5	0.5	40.0	30.85 a	4.59
1	0	47.5	20.2 b	5.29
1	0.5	45.0	19.02 b	4.88

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.46 incelendiğinde, en fazla (30.85 adet) eksplant başına soğancık sayısı 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ve en az (19.02 adet) ise 1.0 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamında elde edilmiştir. Ortamlarda %40.0-47.50 soğancık oluşturan eksplant oranı ve 4.59-5.30 mm soğancık çapı kaydedilmiştir.

İkinci denemede Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra farklı BAP ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.47'de verilmiştir.

Çizelge 4.47 Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	68.75	3.37**	142.36	1.89 *	9.46	1.56 *
Hata	18	20.37	-	75.00	-	6.04	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.47 incelendiğinde, ortamlarının kallus oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısı ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.48'de verilmiştir.

Çizelge 4.48 Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
BAP	NAA			
1	-	12.5 a ¹	17.50 a ²	3.9 a ²
1	0.25	2.5 b	7.5 ab	2.87 ab
1	0.5	0.0 b	0.0 b	0.0 b
2	-	0.0 b	2.5 b	2.0 b
2	0.25	0.0 b	0.0 b	0.0 b
2	0.5	0.0 b	0.0 b	0.0 b
4	-	0.0 b	0.0 b	0.0 b
4	0.25	0.0 b	0.0 b	0.0 b
4	0.5	0.0 b	0.0 b	0.0 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.48'de görüldüğü gibi, Mersin kökenli *F. persica*'da kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında en fazla kallus oluşturan eksplant oranı (%12.5), Sürgün oluşturan eksplant oranı (%17.5) ve Eksplant başına sürgün sayısı (3.9 adet) 1 mg/l BAP içeren MS ortamından elde edilmiştir. NAA olmayan veya 0.25-0.50 mg/l NAA ile 4 mg/l BAP içeren ortamlarında gelişme gözlenmemiştir.

Mersin kökenli *F. persica*'da soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 ay'a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.49'da verilmiştir.

Çizelge 4.49 Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	136.11	2.19**	66.15	2.97**	1.72	2.96**
Hata	18	62.03	-	22.24	-	0.58	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.49 incelendiğinde, ortamlarının soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.50'de verilmiştir.

Çizelge 4.50 Farklı BAP ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık çapı (mm)
BAP	NAA			
1	-	17.5 a	12.2 a	1.97 a
1	0.25	0.0 b	0.0 b	0.0 b
1	0.5	0.0 b	0.0 b	0.0 b
2	-	0.0 b	0.0 b	0.0 b
2	0.25	0.0 b	0.0 b	0.0 b
2	0.5	0.0 b	0.0 b	0.0 b
4	-	0.0 b	0.0 b	0.0 b
4	0.25	0.0 b	0.0 b	0.0 b
4	0.5	0.0 b	0.0 b	0.0 b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.50 incelendiğinde kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında sadece 1 mg/l BAP içeren besin ortamında soğancık oluşturan eksplant oranı %17.5, eksplant başına soğancık sayısı 12.2 adet ve soğancık çapı 1.97 mm gözlenmiştir. Diğer besin ortamlarında gelişme olmamıştır.

Üçüncü denemede Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı Kinetin ve NAA içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 4 ay sonra sürgün oluşmaya başlamış ve 6 ay sonra sürgün sayımı yapılmıştır (Şekil 4.29).



Şekil 4.29 Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün oluşumu

Mersin kökenli *F. persica*'nın kültür başlangıcından 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında farklı Kinetin ve NAA dozlarının kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.51'de verilmiştir.

Çizelge 4.51 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

VK	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	SD	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	610.00	3.48**	1704.16	9.66**	5.47	2.00*
Hata	18	175.00	-	176.38	-	2.37	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.51 incelendiğinde, ortamlarının kallus oluşturan eksplant oranı ve sürgün oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.52'de verilmiştir.

Çizelge 4.52 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
Kinetin	NAA			
0.5	-	15.0 bc ¹	22.5 c ¹	3.87 ab ²
0.5	0.5	37.5 a	72.5 a	5.06 ab
1	-	10.0 bc	27.5 c	4.52 ab
1	0.5	30.0 ab	47.5 b	6.15 a
2	-	5.0 c	20.0 c	2.68 b
2	0.5	22.5 abc	52.5 b	4.83 ab

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.52 incelendiğinde en fazla kallus oluşturan eksplant oranı (%37.5) ve sürgün oluşturan eksplant oranı (%72.5) 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamından elde edilmiştir. En az kallus oluşturan eksplant oranı (%5.0) ve sürgün oluşturan eksplant oranı (%20.0) 2 mg/l Kinetin içeren ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımından en yüksek değer 6.15 adet ile 1 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise 2.68 adet ile 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Mersin kökenli *F. persica*'nın eksplantlarda soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C'de 6 ay'a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de bekletilen kültürler 16 °C'ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 12 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancıklar oluşmuştur (Şekil 4.30).



Şekil 4.30 Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 12 ay sonra 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren MS besin ortamında soğancık oluşumu

Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından kültür başlangıcından 14 ay sonra 2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında çok sayıda soğancık ve yaprak oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.31).



Şekil 4.31 Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarından 14 ay sonra 2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında soğancık ve yaprak oluşumu

Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kültür başlangıcından 14 ay sonra farklı Kinetin ve NAA dozlarının soğan oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğan sayısı ve soğan çapına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.53'te verilmiştir.

Çizelge 4.53 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	5	1500.00	7.60**	56.55	0.90	2.07	1.72*
Hata	18	197.22	-	62.84	-	1.20	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.53 incelendiğinde, ortamlarının soğancık oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, soğancık çapına ortamların etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına soğancık sayısına ortamların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.54’te verilmiştir.

Çizelge 4.54 Farklı Kinetin ve NAA dozlarının Mersin kökenli *F. persica*’nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Soğan çapı (mm)
Kinetin	NAA			
0.5	-	30.0 bc ¹	11.41	4.69 ab ²
0.5	0.5	72.5 a	17.55	4.16 ab
1	-	30.0 bc	12.72	5.19 a
1	0.5	52.5 ab	19.72	3.94 ab
2	-	20.0 c	20.31	3.06 b
2	0.5	50.0 b	18.72	4.18 ab

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.54 incelendiğinde kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında soğancık oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %72.5 ile 0.5 mg/l Kinetin ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamlarından elde edilirken en düşük değer ise %20 ile 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Soğancık çapı bakımından en yüksek değer 5.19 adet ile 1 mg/l Kinetin içeren besin ortamlarından ve en düşük değer ise 3.06 adet ile 2 mg/l Kinetin içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı ise 11.41-20.31 adet olarak kaydedilmiştir.

Dördüncü denemede Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı 2,4-D içeren ortamlarına kültüre alınmıştır. 6 ay sonra dozlarının kallus oluşturan eksplant oranına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.55'te verilmiştir.

Çizelge 4.55 Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	608.33	2.14*	408.33	1.56*	3.66	3.55**
Hata	9	283.33	-	261.11	-	1.03	-
Genel	11	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.55 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranına ve sürgün oluşturan eksplant oranına ortamların etkisi 0.05 düzeyinde önemli iken, eksplant başına sürgün sayısına ortamların etkisi ise 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.56'da verilmiştir.

Çizelge 4.56 Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
2,4-D			
1	52.5 b ²	42.5 b ²	4.05 ab ¹
2	50.0 b	50.0 b	3.58 b
4	72.5 a	62.5 a	5.42 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.56’da görüldüğü gibi en fazla (%72.50) kallus oluşturan eksplant oranı, %62.50 sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısı (5.42 adet) 4 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir.

Mersin kökenli *F. persica*’da eksplantlarda soğancık gelişimini teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 4 °C’de 6 ay’a kadar bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C’de bekletilen kültürler 16 °C’ye alındıktan 2 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır. Kültür başlangıcından 14 ay sonra eksplantlar üzerinde soğancıklar oluşmuştur. Soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.57’de verilmiştir.

Çizelge 4.57 Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli *F. persica*’nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

VK	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Soğancık Çapı (mm)	
	SD	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Ortam	2	775.00	2.81*	62.07	1.07*	1.85	4.49**
Hata	9	275.00	-	57.87	-	0.41	-
Genel	11	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.57 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğancık sayısına ortamların etkisi 0.05 düzeyinde önemli iken, soğancık çapına ortamların etkisi ise 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.58’de verilmiştir.

Çizelge 4.58 Farklı 2,4-D dozlarının Mersin kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
2,4-D			
1	52.5 b ²	18.61 a ²	4.12 ab ¹
2	70.0 a	11.45 b	4.51 a
4	80.0 a	12.19 b	3.19 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.58'de görüldüğü gibi kültür başlangıcından 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında soğancık oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %80 ile 4 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilirken en düşük değer ise %52.5 ile 1 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına soğancık sayısı bakımından en yüksek değer 18.61 adet ile 1 mg/l 2,4-D içeren ve en düşük değer ise 11.45 adet ile 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. Soğancık çapı bakımından en yüksek değer 4.51 mm ile 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir. En düşük değer ise 3.19 mm ile 4 mg/l 2,4-D içeren besin ortamından elde edilmiştir.

4.4.2 Mersin kökenli *F. persica*'nın etli soğan pul yapraklarının kültürü

Mersin kökenli *F. persica* soğanlarının yüzey sterilizasyonunda da diğer türlerde olduğu gibi sorun yaşanmıştır. Soğanlarda fungus ve bakteriyel kökenli bulaşıklıklar gözlemlendiği için deneme kurulamamıştır. (Şekil 4.32).



Şekil 4.32 Mersin kökenli *F. persica*'da yüzey sterilizasyonundan 1 hafta sonra eksplantlarda gözlenen fungus ve bakteriyel kökenli bulaşıklık

4.5 *F. imperialis* ve *F. persica*'nın Olgunlaşmamış Embriolarından Dört Aşamalı 2. Protokol ile Soğancık Eldesi

Doğal yetiştirme alanlarından toplanan *F. imperialis*, Siverek ve Mersin kökenli *F. persica*'nın tohumları yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra yaklaşık 1-2 mm büyüklüğündeki olgunlaşmamış embrioları çıkartılarak 2 mg/l 2,4-D içeren 6 g/l agar ile katılaştırılan KTO (kallus teşvik ortamı) ortamlarında 16 °C'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta ve 24 °C'de karanlıkta kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 1 hafta sonra embrioların hacimlerinde bir artış gözlenmiş olup, 20-30 gün sonra da kallus oluşumu başlamıştır (Şekil 4.33 - 4.34).



Şekil 4.33 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 20 gün sonra 2 mg/l 2,4-D içeren N₆ besin ortamında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta küçük ve sert kallus oluşumu



Şekil 4.34 *F. imperialis*'te 20 gün sonra 2 mg/l 2,4-D içeren N₆ besin ortamında 24 °C'de karanlıkta olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında küçük ve sert kallus oluşumu

8 hafta süreyle inkübe edildikten sonra, gelişen kalluslar SOO (soğancık oluşturma ortamı) ortamına aktarılmıştır. Bu ortamda sürgün uçları da oluşmaya başlamış ve ayda bir alt kültür yapılmıştır. Daha sonra 24 °C'de karanlıkta gelişen sürgünler SGO (soğancık geliştirme ortamı) ortamına aktarılarak, yavaş yavaş ışıklı ortama

alıştırılmıştır. SGO ortamına aktarıldıktan 8 hafta sonra eksplantlarda yavaş yavaş sũrgũn oluşumu başlamış ve 6. ayda sũrgũn sayımı yapılmıştır Olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında çok sayıda sũrgũn ve kök oluşmuştur (Şekil 4.35).



Şekil 4.35 Siverek kökenli *F. persica*'da olgunlaşmamış embriyolarda 6 ay sonra 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta oluşan sũrgũnler ve kökler

Çalışmada 6. ayda sũrgũn sayımı yapıldıktan sonra soğan oluşumunu teşvik etmek amacıyla eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına alınarak soğuk uygulaması yapılmıştır. Kũltürler 4 ay sũreyle + 4 C'de bekletilmiştir. Daha sonra çıkarılan eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 16 C'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta kũltüre alınmıştır. + 4 C'den 16 C'ye çıkarılan kũltürlerde 2 ay sonunda soğancık oluşumu gözlenmiştir. Kũltür başlangıcından 9 ay sonra olgunlaşmamış embriyolardan oluşan sũrgũnler soğancığa dnũřmeye başlamıştır (Şekil 4.36). 14. ayda soğancık sayımı yapılmıştır. Soğancık sayımı yapıldıktan sonra soğancıklar soğancık olgunlaştırılması için 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına alınmıştır.



Şekil 4.36 Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarından 6 ay sonra 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta (aydınlık) gelişen sürgünlerin soğancığa dönüşmesi

Kültür başlangıcından 6 ay sonra kallus oluşturan eksplant oranı, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.59'da verilmiştir.

Çizelge 4.59 Aydınlık ve karanlık fotoperiyotlarının *F. imperialis* ve *F. persica* türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Fotoperiyot	1	4.16	0.053	37.50	0.26	3.33	0.72*
Tür	2	650.00	8.21**	4404.16	31.39**	112.55	24.48**
Fotoperiyot *tür	2	1266.66	16.00**	162.50	1.15*	11.58	2.52*
Hata	18	79.16	-	140.27	-	4.59	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.59 incelendiğinde, kallus oluşturan eksplant oranına aydınlık x tür interaksyon etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, sürgün oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına sürgün sayısına aydınlık x tür interaksyon etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.60'ta verilmiştir.

Çizelge 4.60 Aydınlık ve karanlık fotoperiyotlarının *F. imperialis* ve *F. persica* türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 6 ay sonra sürgün rejenerasyonuna etkisi

Fotoperiyot ve türler		Kallus Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
Aydınlık	Karanlık			
<i>F. imperialis</i>		97.5 a ¹	42.5 e ¹	2.73 d ²
<i>F. persica</i> (Siverek)		95.0 ab	95.0 a	11.2 a
<i>F. persica</i> (Mersin)		75.0 b	70.0 d	8.45 bc
	<i>F. imperialis</i>	100.0 a	47.5 e	2.79 d
	<i>F. persica</i> (Siverek)	67.5 c	87.5 b	7.74 c
	<i>F. persica</i> (Mersin)	97.5 a	80.0 c	9.61 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.60 incelendiğinde, 2 mg/l 2,4-D içeren N₆ besin ortamında 6 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında kallus oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %100 ile *F. imperialis* türünde karanlık ortamda, en düşük değer ise %75 ile Mersin kökenli *F. persica* türünde aydınlık ortamda elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en yüksek değer %95 ile Siverek kökenli *F. persica* türünde aydınlık ortamda elde edilirken, en düşük değer ise %42.5 ile *F. imperialis* türünde aydınlık ortamda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımından en yüksek

değer 11.20 adet ile Siverek kökenli *F. persica* türünde aydınlık ortamda elde edilirken, en düşük değer 2.73 adet ile *F. imperialis* türünde aydınlık ortamda elde edildiği gözlenmiştir.

F. imperialis, Siverek ve Mersin kökenli *F. persica* türlerinin kültür başlangıcından 14 ay sonra soğancık sayımı yapılmıştır (Şekil 4.37). Soğancık sayımı yapıldıktan sonra soğancıklar 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına alınmıştır. Eksplantlar üzerinde soğancıklar somatik embriyolardan geliştiği için her bir soğancığın köklerinin olması nedeniyle ayrıca bir köklendirme çalışması yapılmamıştır.



Şekil 4.37 Mersin kökenli *F. persica*'da kültür başlangıcından 14 ay sonra 25 ± 1 °C'de karanlıkta 2 mg/l 2,4-D içeren N₆ besin ortamında gelişen soğancıklar

Soğancık oluşturan eksplant oranı, eksplant başına soğancık sayısı ve soğancık çapına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.61'de verilmiştir.

Çizelge 4.61 Aydınlık ve karanlık fotoperiyotlarının *F. imperialis*, Siverek ve Mersin kökenli *F. persica* türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisine ait varyans analizi

V.K	Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)			Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)		Sağancık Çapı (mm)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Fotoperiyot	1	416.66	8.33**	2.68	0.12	0.07	0.24
Tür	2	937.50	18.75**	568.34	26.99**	6.82	21.66**
Fotoperiyot *tür	2	429.16	8.58**	104.54	4.96**	0.59	1.88*
Hata	18	50.00	-	21.05	-	0.31	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.61 incelendiğinde, soğancık oluşturan eksplant oranı ve eksplant başına soğancık sayısına fotoperiyot x tür interaksyon etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, soğancık çapına fotoperiyot x tür interaksyon etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Gözlenen farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.62’de verilmiştir.

Çizelge 4.62 Aydınlık ve karanlık fotoperiyotlarının *F. imperialis* ve Siverek ve Mersin kökenli *F. persica* türlerinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında 14 ay sonra soğancık oluşumuna etkisi

Fotoperiyot ve türler		Soğancık Oluşturan Eksplant Oranı (%)	Eksplant Başına Soğancık Sayısı (adet)	Soğancık Çapı (mm)
Aydınlık	Karanlık			
<i>F. imperialis</i>		62.5 c ¹	4.19 d ¹	3.47 c ²
<i>F. persica</i> (Siverek)		95.0 a	18.81 b	5.31 a
<i>F. persica</i> (Mersin)		92.5 ab	17.15 b	3.68 c
	<i>F. imperialis</i>	87.5 b	3.54 d	3.28 c
	<i>F. persica</i> (Siverek)	92.5 ab	10.9 c	5.09 a
	<i>F. persica</i> (Mersin)	95.0 a	23.7 a	4.42 b

¹ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.01 düzeyinde önemlidir.

² Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.62’de görüldüğü gibi 14 ay sonra olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında en fazla soğancık oluşturan eksplant oranı (%95) ile Siverek kökenli *F. persica* türünde aydınlık ve Mersin kökenli *F. persica* türünde karanlık ortamında elde edilirken, en düşük değer ise %62.5 ile *F. imperialis* türünde aydınlık ortamda elde edilmiştir. Eksplant başına soğan sayısı bakımından en yüksek değer 23.75 adet ile Mersin kökenli *F. persica* türünde aydınlık ortamda elde edilirken, en düşük değer 3.54 adet ile *F. imperialis* türünde karanlık ortamda elde edildiği gözlenmiştir. Soğan çapı bakımından en yüksek değer 5.31 mm ve 5.09 mm ile Siverek kökenli *F. persica* türünün aydınlık ve karanlık ortamlarında elde edilirken, en düşük değer 3.28 mm ile *F. imperialis* türünün karanlık ortamında elde edilmiştir.

4.6 Siverek Kökenli *F. persica*'nın *In vitro*'da Üretilen Soğancıkların olgunlaştırılması ve Dış Koşullara Alıştırılması

In vitro'da gelişen soğancıkların dış koşullara aktarılmasında çok fazla sorun yaşanmıştır. Genellikle aktarılan soğancıklar 1 hafta içerisinde su kaybetmekte ve canlılıklarını yitirmektedirler. Ayrıca dış koşullara aktarılacak olgunlukta olmamalarıdır. Bu nedenle *in vitro*'da gelişen soğancıkları dış koşullara aktarmak için değişik çalışmalar yapılmıştır.

4.6.1 Agar ve jelrite (jelrit)'in etkisi

20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına agar-jelrit katılaştırıcıları katılarak Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıklar bu ortamlarda kültüre alınmasıyla bitki dokularının sıkışması, gelişmesi ve yeni yaprak oluşumları gözlenmiştir (Şekil 4.38).



Şekil 4.38 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların 1.5 g/l agar ve 1.6 g/l jelrit ile katılaştırılan 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında bitki dokularının sıkışması ve yeni yaprak oluşumu

Deneme sonucunda ilk soğancık çapı, son soğancık çapı, fark, gelişen soğancık oranı, ikincil soğancık sayısı, kök uzunluğu ve kök sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.63'te verilmiştir.

Çizelge 4.63 Farklı agar ve jelrit dozlarının 4 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarından gelişen soğancıkların olgunlaşması üzerine farklı agar ve jelrit dozlarının etkisine ait varyans analizi

V.K	İlk soğancık çapı (cm)			Son soğancık çapı (cm)		Fark (cm)		Gelişen Soğancık Oranı (%)		İkincil Soğancık Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)		Kök Sayısı (adet)	
	SD	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Agar-jelrit	7	0.006	6.913**	0.04	2.24**	0.04	2.33**	119.048	1.52*	10.70	2.67**	2.73	3.45**	9.61	0.89
Hata	16	0.001	-	0.02	-	0.01	-	78.12	-	4.00	-	0.79	-	10.75	-
Genel	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.63 incelendiğinde, ilk soğancık çapı, son soğancık çapı, fark, ikincil soğancık sayısı, kök uzunluğuna agar-jelrit'in etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, gelişen soğan oranı ise 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Kök sayısına agar-jelrit'in etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.64'te verilmiştir.

Çizelge 4.64 Farklı agar ve jelrit dozlarının 4 ay sonra Siverek kökenli *F. persica*'nın olgunlaşmamış embriyolarından gelişen soğancıkların olgunlaşması üzerine farklı agar ve jelrit dozlarının etkisi

Katılaştırıcılar (g/l)		İlk soğancık çapı (cm)	Son soğancık çapı (cm)	Fark (cm)	Gelişen Soğancık Oranı (%)	İkincil Soğancık Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)	Kök Sayısı (adet)
Agar	Jelrit							
6.5	0	0.42 a	1.26 ab	0.84 abc	100	2.33 b	3.33 ab	14.0
5.5	0.3	0.36 b	0.98 c	0.62 c	83.33	4.0 ab	2.66 abc	11.33
4.5	0.84	0.36 b	1.11 abc	0.75 abc	100	2.66 ab	2.33 bc	13.33
3.5	0.96	0.36 b	1.13 abc	0.77 abc	100	0.66 b	2.66 abc	11.66
2.5	1.28	0.32 bc	1.05 abc	0.73 bc	91.66	3.0 ab	2.66 abc	13.66
1.5	1.6	0.31 bc	1.3 a	1.0 a	100	2.33 b	4.0 ab	16.0
0.5	1.92	0.34 b	1.25 ab	0.91 ab	91.66	0.33 b	4.33 a	12.33
0	2.25	0.27 c	1.02 bc	0.75 abc	100	6.33 a	1.33 c	10.33
Önem düzeyi		0.01	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01	Önemsiz

Çizelge 4.64 incelendiğinde, farklı oranlardaki katılaştırıcıların son soğancık çapına etkisi bakımından en yüksek değer 1.30 cm ile 1.5 g/l agar ve 1.6 g/l jelrit, en düşük değer ise 0.98 cm ile 5.5 g/l agar ve 0.3 g/l jelrit katılaştırıcılarını içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. İlk soğancık çapı ve son soğancık çapı arasındaki farka etkisi incelendiğinde en yüksek değer 1 cm ile 1.5 g/l agar ve 1.6 g/l jelrit, en düşük değer ise 0.62 cm ile 5.5 g/l agar ve 0.3 g/l jelrit katılaştırıcılarını içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Köklendirmeye alınan soğanların dip kısımlarında ikincil soğancıklar oluşmuştur (Şekil 4.39).



Şekil 4.39 Köklendirmeye alınan soğanların dip kısımlarında oluşan ikincil soğancıklar

İkincil soğancıklar bakımından incelendiğinde en yüksek değer 6.33 adet ile 2.25 g/l jelrit, en düşük değer ise 0.33 adet ile 0.5 g/l agar ve 1.92 g/l jelrit içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Kök uzunluğu bakımından en yüksek değer 4.33 cm ile 0.5 g/l agar ve 1.92 g/l jelrit, en düşük değer ise 1.33 cm ile 2.25 g/l jelrit içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Kök sayısı bakımından en yüksek değer 16 adet ile 1.5 g/l agar ve 1.6 g/l jelrit, en düşük değer ise 10.33 adet ile 2.25 g/l jelrit içeren MS besin ortamından elde edilmiştir.

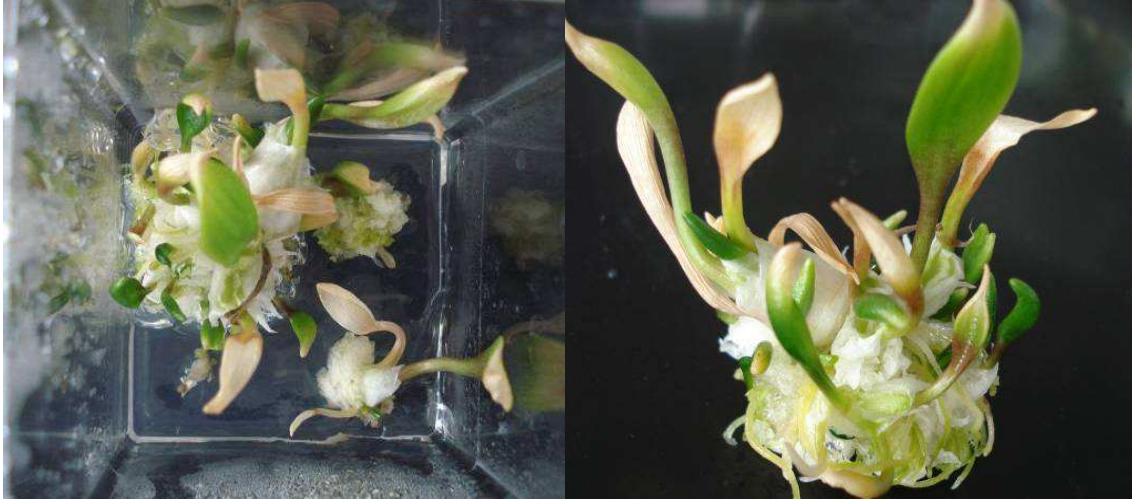
In vitro'dan elde edilen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların agar-jelrit ile muamelesi sonucunda bitki dokularının sıkılaştığı, yeni yaprak ve kök oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.40). Ayrıca soğana ait kökler üzerinde küçük soğancıkların geliştiği gözlenmiştir (Şekil 4.41). Bu duruma benzer bir sonuçta bitki dokularının sıkılaşması ve kök yapısının kuvvetlendirilmesi için yapılan çalışmada soğancıklar besin ortamına alındıktan sonra tekrar soğancıklar meydana getirmesidir (Şekil 4.42).



Şekil 4.40 *In vitro*'dan elde edilen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların agar-jelrit ile muamelesi sonucunda bitki dokularının sıkılaşması, yeni yaprak ve kök oluşumu



Şekil 4.41 Siverek kökenli *F. persica*'da kökler üzerinde ikincil soğancık oluşumu



Şekil 4.42 Köklendirmeye alınan Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıklarda kallus ve soğancıkların dip kısımlarında ikincil soğancık oluşumu

4.6.2 Farklı tuzların ve oranlarının etkisi

In vitro'da gelişen soğancıkların bitki dokularını sıkılaştıracağı düşünülen tuzlar dış koşullara aktarılmadan önce uygulanmıştır. Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıklar 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına 10 ve 20 g/l oranlarında KCl, NaCl ve CaCl₂ ilave edilerek kültüre alınmıştır. Bu ortamda soğancıklar 15 gün kültüre alındıktan sonra MS besin ortamına aktarılmış olup (Şekil 4.43), 1 ay sonrada kasalar içerisine dikilerek dış koşullara aktarılmıştır.



Şekil 4.43 10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların 1 ay sonra bitki dokularının sıkılaşması ve yaprak oluşumu

KCl, NaCl ve CaCl₂ içeren MS besin ortamında soğancıklarda bitki dokuları sıkılaşmış ve daha fazla yaprak oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.44). Çok sayıda kök oluşumu da gerçekleşmiştir.



Şekil 4.44 Siverek kökenli *F. persica*'da 10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen soğancıkların 1 ay sonra bitki dokularının sıkılaşması, yaprak oluşumu ve kök gelişimi

Siverek kökenli *F. persica*'nın *in vitro*'da gelişen soğancıklarında KCl, NaCl ve CaCl₂ uygulamalarından sonra soğan yapısında bitki dokularında sıkılaşma, mevcut köklerde gelişmeler ve ikincil soğancık oluşumu meydana gelmiştir (Şekil 4.45). Soğancıklar üzerinde soğan gövdesinden yaprak oluşumu da gözlenmiştir (Şekil 4.46).



Şekil 4.45 10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen soğancıkların bitki dokularının sıkılaşması, yan soğancık ve köklerinin oluşması



Şekil 4.46 10 g/l NaCl içeren MS besin ortamında gelişen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıklar üzerinde soğan gövdesinden yaprak oluşumu

Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların dış koşullara aktarılmadan önce NaCl, KCl ve CaCl₂ tuzları ile muamelesinden 15 gün sonra tuzların kök oluşum yüzdesi, kök uzunluğu, yaprak yüzdesi, yaprak sayısı, yan soğan yüzdesi ve yan soğan sayısına ait varyans analizi sonuçları çizelge 4.65'te verilmiştir.

Çizelge 4.65 Siverek kökenli *F. persica*'da KCl, NaCl ve CaCl₂ tuzlarının kök oluşum yüzdesi, kök uzunluğu, kök sayısı yaprak oluşum oranı, yaprak sayısı, ikincil soğancık oranı ve ikincil soğancık sayısına ait varyans analizi

V.K	Kök oluşum oranı (%)			Kök uzunluğu (cm)		Kök sayısı (adet)		Yaprak oluşum oranı (%)		Yaprak sayısı (adet)		İkincil soğancık oluşum oranı (%)		İkincil soğancık sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Tuz	4	883.33	6.66**	2.92	5.06**	43.81	6.00**	62.50	0.50	7.01	1.30*	979.16	2.35*	14.59	2.80*
Hata	10	125.00	-	0.57	-	7.29	-	125.00	-	5.38	-	416.66	-	5.21	-
Genel	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.65 incelendiğinde, kök oluşum oranı, kök uzunluğu, kök sayısı ve ikincil soğancık sayısına tuzların etkisi 0.01 düzeyinde önemli iken, yaprak sayısı ve ikincil soğancık yüzdesine 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Yaprak yüzdesine tuzların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.66'da verilmiştir.

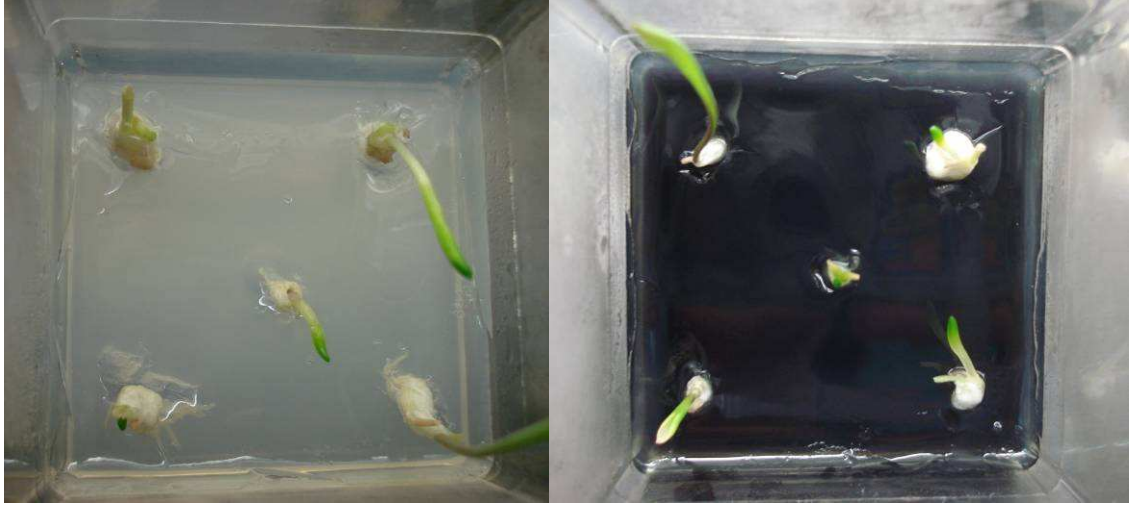
Çizelge 4.66 Siverek kökenli *F. persica*'da KCl, NaCl ve CaCl₂ tuzlarının kök oluşum yüzdesi, kök uzunluğu, kök sayısı yaprak oluşum oranı, yaprak sayısı, ikincil soğancık oranı ve ikincil soğancık sayısına etkisi

NaCl, KCl ve CaCl ₂ tuzları (g/l)			Kök oluşum oranı (%)	Kök uzunluğu (cm)	Kök sayısı (adet)	Yaprak oluşum oranı (%)	Yaprak sayısı (adet)	İkincil soğancık oluşum oranı (%)	İkincil soğancık sayısı (adet)
KCl	NaCl	CaCl ₂							
10			91.66 ab	3.44 a	14.97 a	91.66	5.61 b	41.66 a	3.22 ab
20			58.33 c	1.83 b	8.00 b	100.00	6.60 ab	0.00 b	0.00 b
	10		100.00 a	3.66 a	14.58 a	100.00	8.00 a	25.00 ab	5.00 a
	20		75.00 bc	1.38 b	8.77 b	91.66	5.97 b	25.00 ab	3.16 ab
		10	91.66 ab	2.50 ab	6.94 b	91.66	3.80 b	0.00 b	0.00 b
Önem düzeyi			0.01	0.01	0.01	Önemsiz	0.05	0.05	0.01

Çizelge 4.66 incelendiğinde NaCl, KCl ve CaCl₂ tuzlarının kök oluşumuna etkisi bakımından en yüksek değer %100 ile 10 g/l NaCl içeren besin ortamında, en düşük değer ise %58.33 ile 20 g/l KCl içeren besin ortamında elde edilmiştir. Kök uzunluğu bakımından en yüksek değer 3.66 cm ile 10 g/l NaCl içeren besin ortamında, en düşük değer ise 1.38 cm ile 20 g/l NaCl içeren besin ortamından elde edilmiştir. Kök sayısına tuzların etkisi incelendiğinde en yüksek değer 14.97 adet 10 g/l KCl içeren besin ortamında, en düşük değer ise 6.94 adet ile 10 g/l CaCl₂ içeren besin ortamında elde edilmiştir. Yaprak sayısı ve yan soğan yüzdesine tuzların etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Yaprak sayısı bakımından en yüksek değer 8 adet ile 10 g/l NaCl içeren besin ortamında, en düşük değer ise 3.8 adet ile 10 g/l CaCl₂ içeren besin ortamında elde edilmiştir. Yan soğan yüzdesi bakımından en yüksek değer % 41.66 ile 10 g/l KCl içeren besin ortamında elde edilirken, 20 g/l KCl ve 10 g/l CaCl₂ içeren besin ortamında yan soğancık oluşmamıştır. Yan soğan sayısı bakımından en yüksek değer 5 adet ile 10 g/l NaCl içeren besin ortamında elde edilirken, 20 g/l KCl ve 10 g/l CaCl₂ içeren besin ortamında yan soğancık oluşmamıştır.

4.6.3 Farklı sıcaklıklarda agar, jelrit ve aktif kömür uygulamasının etkisi

Siverek kökenli *F. persica*'da soğancıkları olgunlaştırmak ve dış koşullara aktarmak için farklı sıcaklıklarda agar, jelrit ve aktif kömür denemesi yapılmıştır. Soğanlı bitkilerin dormansiye ihtiyacı olduğu için değişik sıcaklık uygulamalarının dış koşullara aktarılmasında etkisi araştırılmıştır. *In vitro*'da gelişen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıklar farklı katılaştırıcılar ve aktif kömür kullanılarak 4, 16 ve 23 °C'de 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır (Şekil 4.47).



Şekil 4.47 *In vitro*'da üretilen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların farklı katılaştırıcılar ve aktif kömür kullanılarak 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınması

Kültür başlangıcından 9 ay sonra soğancıkların bitki dokularının sıkılaştığı gözlenmiştir. Ayrıca yan soğancık ve kök gelişimi gözlenmiştir. Agar ve jelrit kullanılarak katılaştırılan MS besin ortamında 16 °C'de kültüre alınan soğancıkların olgunlaştığı, bitki dokularının sıkılaştığı gözlenmiş olup, ikincil soğancıklar da oluşmuştur (Şekil 4.48 - 4.49).



Şekil 4.48 Agar içeren MS besin ortamında 16 °C'de kültüre alınması sonucunda soğancıkların olgunlaşması, kök ve ikincil soğancık oluşumu



Şekil 4.49 Jelrit içeren MS besin ortamında 16 °C'de kültüre alınması sonucunda soğancıkların olgunlaşması, çok sayıda kök ve ikincil soğancık oluşumu

Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların dış koşullara aktarılmadan önce agar (6 g/l), jelrit (2.5 g/l), aktif kömür (5 g/l) ve sıcaklık uygulaması sonucunda soğancıklarda kök oluşum oranı, kök uzunluğu, kök sayısı, ikincil soğancık oluşum oranı ve ikincil soğancık sayısına ait varyans analizi çizelge 4.67'de verilmiştir.

Çizelge 4.67 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların agar, jelrit, aktif kömür ve sıcaklık uygulaması sonucunda soğancıklarda kök oluşum oranı, kök uzunluğu, kök sayısı, ikincil soğancık oluşum oranı ve ikincil soğancık sayısına ait varyans analizi

V.K	Kök oluşum oranı (%)			Kök Uzunluğu (cm)		Kök Sayısı (adet)		İkincil soğancık oluşum oranı (%)		İkincil soğancık sayısı (adet)	
	S.D	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Jeller	3	224.07	1.02*	47.73	30.68**	7.78	2.94**	156.25	0.75	0.96	1.92*
Sıcaklık	2	167.36	0.76*	2.69	1.73*	22.20	8.38**	1302.08	6.25**	4.11	8.22**
Jeller* sıcaklık	6	46.99	0.21	2.62	1.68*	3.51	1.32*	399.30	1.91*	1.63	3.25**
Hata	24	219.44	-	1.55	-	2.64	-	208.33	-	0.50	-
Genel	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

*0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.67 incelendiğinde, farklı sıcaklık ve farklı katılaştırıcıların uygulanmasının kök uzunluğu, kök sayısı ve ikincil soğancık oluşum oranına etkisi 0.05 düzeyinde önemli iken, ikincil soğancık sayısına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Kök oluşum oranına farklı sıcaklık ve farklı katılaştırıcıların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.68’de verilmiştir.

Çizelge 4.68 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların agar, jelrit, aktif kömür ve sıcaklık uygulaması sonucunda soğancıklarda kök oluşum oranı, kök uzunluğu, kök sayısı, ikincil soğancık oluşum oranı ve ikincil soğancık sayısına etkisi

Sıcaklıklara göre katılaştırıcılar			Kök oluşum oranı (%)	Kök uzunluğu (cm)	Kök sayısı (adet)	İkincil soğancık oluşum oranı (%)	İkincil soğancık sayısı (adet)
4 °C	16 °C	23 °C					
Agar			100	1.66 c	4.66	8.88 b	0.0 b
	Agar		100	2.33 cd	6.66	16.66 ab	1.0 ab
		Agar	91.66	1.33 c	4.66	25 b	1.33 ab
Agar + A.kömür			91.66	5.33 abc	5.33	1.77 c	0.0 b
	Agar + A.kömür		100	7.0 a	7.75	16.66 ab	0.66 b
		Agar + A.kömür	91.66	7.66 a	8.83	8.33 b	0.33 b
Jelrit			93.33	2.0 cd	4.66	5.32 bc	0.0 b
	Jelrit		83.33	2.0 cd	9.33	41.66 a	2.66 a
		Jelrit	83.33	2.33 cd	7.66	1.77 c	0.0 b
Jelrit + A.kömür			100	4.66 abcd	6.33	1.77 c	0.0 b
	Jelrit + A.kömür		100	6.06 ab	8.0	8.33 b	0.33 b
		Jelrit + A.kömür	91.66	3.33 bcd	6.66	8.33 b	0.33 b
Önem düzeyi			Önemsiz	0.05	0.05	0.05	0.01

Çizelge 4.68 incelendiğinde, *F. persica*'ya ait soğancıkların dış koşullara aktarılmadan önce agar, jelrit, aktif kömür ve sıcaklık uygulamasının kök uzunluğu bakımından en yüksek değer 7.66 cm ile agar ve aktif kömür içeren besin ortamında 23 °C'de, en düşük değer ise 1.33 cm ile agar ile katılaştırılan besin ortamında 23 °C'de elde edilmiştir. Kök sayısı bakımından en yüksek değer 9.33 adet ile jelrit ile katılaştırılan besin ortamında 16 °C'de, en düşük değer ise 4.66 adet ile agar ile katılaştırılan besin ortamında 4 ve 23 °C sıcaklıklarda elde edilmiştir. Soğancıkların dip kısımlarında oluşan ikincil soğancıkların oluşum oranı bakımından en yüksek değer %41.66 ile jelrit ve 16 °C'de, en düşük değer ise %1.77 ile jelrit ve 23 °C'de, jelrit ve aktif kömür ile 4 °C'de, agar ve aktif kömür ile 4 °C'de elde edilmiştir. Yan soğancık sayısı bakımından incelendiğinde en yüksek değer 2.66 adet ile jelrit ile katılaştırılan besin ortamında 16 °C'de elde edilmiştir.

4.6.4 Siverek kökenli *F.persica*'ya ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması

In vitro'da üretilen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların küçük ve bitki dokularının gevşek olması sebebiyle toprağa aktarıldıktan sonra su kaybederek canlılığını yitirmesine nedenden dolayı soğancık olgunlaştırmak ve bitki dokularının sıkılaşmasını sağlamak amacıyla çeşitli denemeler yapılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda agar-jelrit, agar-jelrit-sıcaklık denemelerinde soğancıkların bitki dokuları sıkılaşmış olup, soğancıklar olgunlaşmıştır. Aynı zamanda kök yapıları kuvvetlenmiştir. Soğancıkların olgunlaşması ve kök yapılarının iyi olmalarına rağmen dış koşullara aktarmada problemler yaşanmıştır.

Soğanların dış koşullara aktarılmasında steril edilmiş 2:1:1:1 oranında torf, vermikülit, kum ve perlit karışımı kullanılmıştır. Saksıların üzerlerine nem kaybını önlemek için poşet geçirilmiş ve saksıya dikilen soğanlar 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta 23 °C'deki iklim dolabına alınmıştır. Soğancık olgunlaştırma çalışması yapılmayan soğanlar sadece 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında 2 ay +4 °C'de bekletildikten sonra dış koşullara aktarılmıştır. Dikimden 1 ay sonra soğan yapraklarında gelişme olmuştur (Şekil 4.50). Aynı zamanda yeni kök yapısının oluşup oluşmadığına bakılmış ve yeni köklerin oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.51).



Şekil 4.50 Soğancıkların saksıya aktarılmasından 1 ay sonra yapraklarındaki gelişmeler



Şekil 4.51 Soğancıkların saksıya aktarılmasından 1 ay sonra yeni köklerin oluşması

İklim dolabındaki soğanların gelişmesi gözlemlendiğinde soğan yapraklarının 2 ay içerisinde solarak yeni yaprakların çıktığı görülmüştür (Şekil 4.52).



Şekil 4.52 Dış koşullara aktarılan soğan yapraklarının 1 ay içerisinde solması ve yeni yaprakların oluşumu

Yeni çıkan yapraklar 4 ay sonra tekrar aynı şekilde solarak yeniden yaprak oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.53).



Şekil 4.53 Yeni çıkan yaprakların 4 ay içerisinde solması ve tekrar yaprağın çıkması

Bu şekilde soğan yapraklarının solarak yeniden çıkması 3 kez tekrarlanmıştır. Çok sayıda kök oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.54). Daha sonra saksı değişimi nedeniyle soğanlar ölmüştür.



Şekil 4.54 Dış koşullara aktarılan soğandan yeni yaprak ve kök oluşumu

In vitro'da üretilen Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların tuz ve katılaştırıcılarla yapılan denemelerinde çok sayıda kök ve yaprak oluşmuştur. Tuz denemelerinde ise dış koşullara aktarımda olumlu sonuçlar alınmıştır. 10-20 g/l KCl, NaCl ve CaCl₂ içeren MS besin ortamında 15 gün kültüre alındıktan sonra 1 ay da MS besin ortamında +4 °C'de soğuk uygulaması için bekletilmiştir. Daha sonra soğanlar dış koşullara aktarılmıştır. Soğanların dış koşullara aktarılmasında steril edilmiş 2:1:1:1 oranında torf, vermikülit, kum ve perlit karışımı kullanılmıştır. Saksıların üzerlerine nem kaybını önlemek için poşet geçirilmiş ve 23 °C'deki iklim odasına alınmıştır. Ayrıca nemlendirme yapılmıştır. İklim odasında kasalar içerisine dikilen soğanlarda 1 hafta sonra yeni yaprak oluşumları gözlenmiştir (Şekil 4.55).



Şekil 4.55 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanların dış koşullara aktarılmasından 1 hafta sonra soğanların canlı kalması ve çok sayıda yeni yaprakların oluşması

İklim odasında kasalar içerisinde bulunan Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanlar 2 hafta sonra seraya alınmıştır. Seraya alındıktan 1 hafta sonra soğanlardan çıkan yaprakların büyüdüğü gözlenmiştir (Şekil 4.56 - 4.57). Kasalar içerisinde bulunan soğanların seraya alınmasından sonra bazı soğanlarda fungus gözlenmiş olup ölüm gözlenmiştir.



Şekil 4.56 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanların iklim odasından 2 hafta sonra seraya alınması



Şekil 4.57 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanların iklim odasından seraya alınması ve yeni çıkan yaprakların büyümesi

Soğanların ilk olarak dış koşullara aktarımı mart ayında gerçekleşmiştir. Bir süre kontrolsüz serada kaldıktan sonra soğanların bulunduğu kasalar sera dışına çıkarılmıştır. Yazı dışarıda geçirdikten sonra tekrar kontrolsüz seraya alınmıştır. Ocak ayına kadar bu serada kaldıktan sonra soğanların çok küçük olmasından dolayı don tehlikesi düşünülerek sıcaklık kontrolü olan seraya alınmıştır. Bu sürede dormansi isteğini karşılamıştır. Bu seraya alınmasından yaklaşık 20 gün sonra yeni çıkış gözlenmiştir (Şekil 4.58). Soğanların yaşama oranı yaklaşık %20 olarak tahmin edilmiştir.



Şekil 4.58 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanların dış koşullara aktarımından 10 ay sonra sıcak kontrollü serada yeni çıkan yapraklar

Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanların sıcak kontrollü serada yapraklarının çıkmasından 2 ay sonra soğancık başına 1-6 adet yaprak oluşturarak bitkinin geliştiği gözlenmiştir (Şekil 4.59).



Şekil 4.59 Siverek kökenli *F. persica*'ya ait soğanların sıcak kontrollü serada yaprakların çıkmasından 2 ay sonra yaprak oluşumu ve bitki gelişimi

Yaprak oluşumu ve bitki gelişiminden sonra bitkiler normal seraya aktarılarak gelişmesi beklenmiş fakat fazla bir gelişme olmamıştır. Daha sonra yaz aylarının gelmesinden dolayı gelişmesi durmuş olup yazı dışarıda kasalar içerisinde geçirmiştir. Fakat soğanların çaplarında bir gelişme olmadığı gibi kurumuştur. Denemede soğanlar tarlaya aktarılamadan canlılığını kaybetmiştir.

4.6.5 Mersin kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması

Mersin kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında + 4 °C'de 7 ay ön üşütmeye tabi tutulduktan sonra soğancık yapıları gelişerek, fazla sayıda kök oluşmuştur. Aynı zamanda +4 °C'de yaprakları oluşarak uzamış ve renksiz iken 16 °C'ye alındığında yapraklar yeşil rengine dönmüştür (Şekil 4.60). Daha sonra soğancıklar dış koşullara aktarılmıştır (Şekil 4.61).



Şekil 4.60 Mersin kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında + 4 °C'de 7 ay sonra soğancık gelişimi, kök ve yaprak oluşumu



Şekil 4.61 Mersin kökenli *F. persica*'ya ait soğancıkların dış koşullara aktarılması

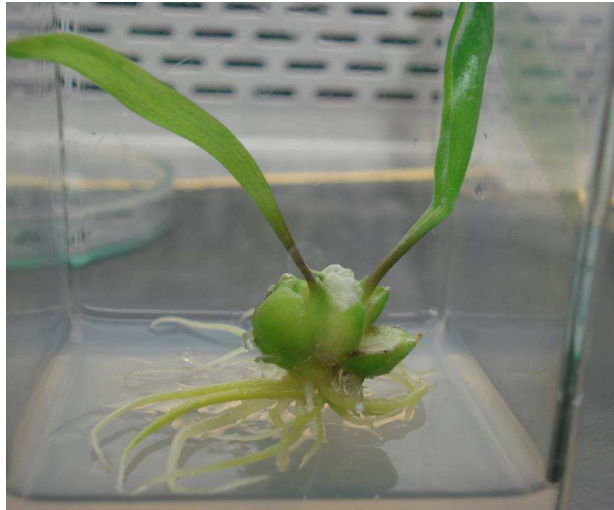
Dış koşullara aktarılan soğanlarda yine 1 hafta içerisinde bitki dokusu su kaybederek canlılığını kaybetmiştir.

4.6.6 *F. imperialis*'e ait soğancıkların dış koşullara alıştırılması

F. imperialis'e ait soğancıklar 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında +16 °C'de kültüre alındıktan sonra dış koşullara aktarılmıştır. Soğanların çok iyi geliştiği gözlenmiştir (Şekil 4.62). Aynı zamanda yaprak ve kök gelişimide oldukça iyi olmuştur (Şekil 4.63). Besin ortamında yeni köklerin oluşumundan sonra dış koşullara aktarılmıştır (Şekil 4.64).



Şekil 4.62 *F. imperialis*'e ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında +16 °C'de gelişimi



Şekil 4.63 *F. imperialis*'e ait soğancıkların 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamında +16 °C'de kök ve yaprak oluşumu



Şekil 4.64 *F. imperialis*'e ait soğancıkların dış koşullara aktarılması

Dış koşullara aktarılan *F. imperialis*'e ait soğanları da yine 1 hafta içerisinde bitki dokusunun su kaybederek canlılığını kaybettiği gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ülkemizde doğadan toplanarak ihracatı yapılan tür sayısı yaklaşık 347 adettir. Bu tür zenginliği içinde yer alan ve ihraç edilen, her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahip olan türlerin yer aldığı yumru ve soğanlı bitkiler (geofitler)'in yeri büyüktür. *Fritillaria* da bu gruba giren önemli cinslerdendir. *Fritillaria*'lar farmasötik endüstride ve süs bitkisi olarak önemli bir yere sahip tıbbi bitkilerdir (Wang vd. 2005). Geofitlerin çoğunun tohumdan çiçek açabilecek bir soğan boyutuna ulaşabilmesi için 4–5 yıla, hatta daha uzun yıllara gereksinimleri vardır. Bazı geofitler ise tohum oluşturmamaktadır. Bu nedenlerle geofitler genellikle vejetatif olarak çoğaltılmaktadır. Ancak vejetatif üretimlerinde (yılda 2-3 adet) düşük olması sebebiyle bu bitkiler için alternatif hızlı çoğaltım tekniklerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır.

Bu amaçla *Fritillaria imperialis*, *F. persica* (Siverek ve Mersin kökenli)'ya ait olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı oranlarda BAP, NAA, TDZ, Kinetin ve 2,4-D içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Etili soğan pul yapraklarının kültüründe en büyük problem yüzey sterilizasyonu olmuştur. *Fritillaria* soğanlarının etli ve kabuksuz olmasından dolayı soğanlarda yüzey sterilizasyonu sonucunda fungus ve bakteriyel kökenli bulaşlıklar gözlenmiştir. Bu sorunun aşılamaı nedeniyle etli soğan pul yaprakları ile deneme kurulamamıştır.

5.1 *Fritillaria* Tohumlarının *In Vitro*'da Çimlendirilmesi

Soğanlı bitkilerde soğancık oluşumu ve çimlenme için mutlaka soğuk uygulaması gerekmektedir. Boročov vd. (1997)'de belirttiği gibi geofitlerin yaşam döngüsünün çok önemli bir parçasını dormansi oluşturmaktadır. Dormansinin kırılmasında da soğuk uygulama özellikle geofitler için büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle tohumlar 4, 16 ve 24 °C'de MS besin ortamında çimlendirmeye alınmıştır. 4 °C'deki tohumlar 1-3 ay ön üşütmeye tabi tutulmuş ve daha sonra çimlenme durumunu gözlemek amacıyla 1'er ay aralıklarla 3'er adet magenta alınarak 16 °C'ye çıkarılmıştır. Tohumların sıcaklık derecelerine göre çimlenme yüzdesi gözlemlenmeye çalışılmıştır. 24 °C'de çimlendirilen *Fritillaria* tohumlarının üç türünde de çimlenme gözlenmediği gibi

kararmalar meydana gelmiştir. *F. imperialis* ve Siverek kökenli *F. persica*'da 16 °C'de bulunan tohumlarda çimlenme ve kararma görülmemiştir. 4 °C'de 1 ay bekletilen tohumlar 16 °C'ye çıkarıldığında kararma ve çimlenme olmamıştır. En yüksek çimlenme oranı %96.66 ile 4 °C'de 3 ay bekletilen tohumlarda olmuştur.

Bu denemede diğer soğuk uygulamalardaki başarılarla olduğu gibi *Fritillaria*'da yüksek oranda dormansi olduğunu göstermektedir. Çimlenme için mutlaka soğuk uygulama gerekmektedir. Borochoy vd. (1997)'de belirttiği gibi geofitlerin yaşam döngüsünün çok önemli bir parçasını dormansi oluşturmaktadır. Dormansinin kırılmasında da soğuk uygulama özellikle geofitler için büyük önem taşımaktadır.

5.2 Olgunlaşmamış Embriyolardan Soğancık Oluşumu

Fritillaria imperialis, *F. persica* (Siverek ve Mersin kökenli)'ya ait olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumu 2 farklı protokolde yürütülmüştür.

Birinci protokolde yüzey sterilizasyona tabi tutulan meyvelerden olgunlaşmamış embriyolar izole edilerek 0.25, 0.5 ve 1 mg/l TDZ ile 0 ve 0,5 mg/l NAA - 1, 2 ve 4 mg/l BAP ile 0, 0.25 ve 0,5 mg/l NAA - 0.5, 1 ve 2 mg/l Kinetin ile 0 ve 0.5 mg/l NAA - 1, 2 ve 4 mg/l 2,4 D'yi içeren MS besin ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta 16 °C'de kültüre alınmıştır. 2 mg/l 2,4 D içeren N₆ besin ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta ve 24 °C'de karanlıkta kültüre alınmıştır. Eksplantlar 4 haftada bir aynı ortamda alt kültüre alınarak gelişimleri gözlenmiştir.

İkinci protokolde ise olgunlaşmamış embriyolar tohumlardan çıkartılarak 2 mg/l 2,4-D içeren 6 g/l agar ile katılaştırılan KTO (kallus teşvik ortamı) ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 1 hafta sonra embriyoların hacimlerinde bir artış gözlenmiş olup, 20-30 gün sonra da kallus (küçük ve sert) oluşumu başlamıştır. Bu ortamda zigotik embriyolar 24 °C'de karanlıkta 2 hafta süreyle inkübe edildikten sonra, gelişen kalluslar SOO (soğancık oluşturma ortamı) ortamına aktarılmıştır. Bu ortamda 2 haftada bir alt kültür yapılmıştır. Daha sonra soğancıkları taşıyan kalluslar SGO (soğancık geliştirme ortamı) ortamına aktarılarak, yavaş yavaş ışıklı ortama

alıştırılmıştır. Son olarak kültürler SOGO (Soğancık olgunlaştırma ortamı) ortamına aktarılarak 2 ayda bir bu ortamda alt kültüre alınmıştır. SGO ortamına aktarıldıktan 8 hafta sonra eksplantlarda yavaş yavaş sürgün oluşumu başlamıştır. Çalışmada 6. ayda sürgün sayımı yapıldıktan sonra soğan oluşumunu teşvik etmek amacıyla soğancık sayısına olumlu etki ettiği bilinen soğuk uygulaması yapılmıştır. Eksplantlar 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamına alınarak soğuk uygulaması yapılmıştır. Kültürler 4 ay süreyle + 4 °C’de bekletilmiştir. Daha sonra çıkarılan eksplantlar 16 °C’de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta 60 g/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. + 4 °C’den 16 °C’ye çıkarılan kültürlerde 2 ay sonunda soğancık oluşumu gözlenmiş olup, 14. ayda soğancık sayımı yapılmıştır. Soğancık sayımı yapıldıktan sonra soğancıklar 20 g/l sukroz içeren MS besin ortamına alınmıştır. Soğancıklar üzerinde köklenmede olduğu için ayrıca bir köklendirme çalışması yapılmamıştır. Liliaceae familyasında dormansi varlığı bilinmektedir. Ayabe ve Sumi (1998), sarımsakta yaptıkları yaklaşık 8 hafta 4 °C’de ön muamele yapılmasının hem sürgün oluşumunu hem de soğan oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir. Slabbert ve Niederwieser (1999), *Lachenalia* cinsine ait üç varyetede *in vitro* soğan oluşumu ve oluşan soğanların toprağa aktarılmasında etkili bir metod geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, yaprak eksplantından elde ettikleri sürgünleri düşük ısıda (4-15 °C) bıraktıktan 2 hafta sonra soğan oluşumunun başladığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Birinci ve ikinci protokolde 16 °C’de kültüre alınan *F. imperialis*, Siverek kökenli *F. persica* türlerinde 4 °C’de soğuk uygulamasından sonra soğancık oluşumu gözlenmiştir.

Daha önceki çalışmalarda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından yüksek oranda bitki rejenerasyonu buğday (Vasil vd. 1993), bezelye (Özcan vd. 1993), Korunga (Özcan vd. 1996), macar fiği (Sancak vd. 2000) ve mısır (Özcan, 2002) gibi bitkilerde elde edilmiştir. Geofitlerde ise *in vitro* kültürde daha çok soğan pul yaprakları ve gövde eksplantları kullanılmıştır. Ayrıca, Seles vd. (1999) *Narcissus confusus*’un olgun tohumlarını pikloram ve 2,4-D içeren MS besin ortamında kültüre aldıklarında embriyogenik kallus ve sonuçta soğancık elde ettiklerini bildirmektedirler. Ancak bu çalışmada soğan pul yaprakları ve gövde eksplantlarından başarı sağlanamamıştır.

Geofitlerde olgunlaşmamış embriyoların kullanımı ilk defa A.Ü Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü laboratuvarlarımızda *Sternbergia candida* ve *S. fisheriana* (Arslan vd. 2003, Mirici vd. 2005) türlerinde gerçekleşmiştir. Olgunlaşmış embriyolar kullanılarak her iki türde yüksek oranlarda soğancık üretimi gerçekleştirilmiştir. Türkiye'de endemik olarak bulunan *Tulipa sintenisii* ve *Tulipa armena* (Doğan-Kalyoncu 2007) türlerinde olgunlaşmamış embriyolarından ilk kez *in vitro* soğancık üretimi yapılmıştır. Karaoğlu (2008), *Sternbergia* cinsine ait *Sternbergia candida*, *S. fisheriana*, *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. Benzer sonuçlar bu çalışmada sonucunda Mersin kökenli *F. persica* türünde elde edilmiş olup, 1. protokolde olgunlaşmamış embriyo başına ortalama 30.85 adet soğancık elde edilmiştir. 2. protokolde ise 23.70 adet soğancık ile Mersin kökenli *F. persica* türünde karanlık ortamda elde edilmiştir. *F. imperialis*'te olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumunda kallus ve sürgün oluşturan eksplant oranı çok düşük olduğundan soğancık oluşturan eksplant oranı 7.22 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Daha sonra üretilen soğancıkların dış koşullara aktarım çalışmaları yapılmıştır.

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

5.3 *F. imperialis*, *F. persica*'nın Soğan Pul Yapraklarının Kültürü

Soğan sterilizasyonu soğanlı bitkiler için büyük problem teşkil etmektedir. *Fritillaria* soğanlarının dış kabuğunun olmamasından dolayı bu türlerde yüzey sterilizasyonu çok zordur. Aynı şekilde Çakırlar vd. (1994) farklı yüzey sterilizasyon yöntemleri

uygulamalarına karşın, *Galanthus elwesii*'de enfeksiyon oranını %29, *G. ikariae*'de ise %50'nin altına düşürememişlerdir. Yine, Girmen (1986) enfeksiyon oranının *Galanthus*, *Leucojum* ve *Tulipa* kültürlerinde %40-50 olduğunu bildirmiştir. Enfeksiyon oranını en fazla etkileyen faktörün ise materyalin yetiştiği yer ve iklim koşulları olduğu belirtilmektedir (Koch, 1974). Yüzey sterilizasyonunda değişik yöntemler uygulanmış olup bir yöntemde Siverek kökenli *F. persica*'da başarı sağlanmıştır. Fakat yüzey sterilizasyonu yöntemleri uygulanırken fazla soğan kullanıldığı için deneme kurulamamıştır. Sadece tek bir soğan parçasında enfeksiyon gözlenmediği için kültüre alınmış ve eksplantlar üzerinde soğancıklar elde edilmiştir.

5.4 Olgunlaşmış Tohumların *In Vitro*'da Çimlendirilmesiyle Gelişen Soğancıkların Kültürü

F. persica tohumlarının *in vitro*'da çimlendirilmesiyle gelişen soğancıkların kültüründe temel besin ortamı olarak MS mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. %0.6'lık agar ile katı hale getirilmiştir. Soğancıklar 2'ye kesilerek 0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/l TDZ içeren MS besin ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Eksplant başına en fazla soğancık sayısı 22.86 adet ile 2 mg/l TDZ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir.

5.5 *In vitro*'da Gelişen Soğancıkların Yaprak ve Yaprak Saplarının Kültürü

In vitro'da gelişen Siverek orijinli *F. persica* soğancıklarının yaprak ve yaprak saplarının kültüründe temel besin ortamı olarak MS mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. %0.6'lık agar ile katı hale getirilmiştir. Yaprak ve yaprak sapları 2, 4 ve 6 mg/l 2,4-D ile 0,2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır. Kültür sonucunda eksplantlar üzerinde somatik embriyolar gözlenmiştir. Somatik embriyoların gelişmesi sonucunda soğancıklar elde edilmiştir. Somatik embriyolardan soğancıkların gelişmesinden dolayı soğancık ve kökler aynı anda oluşmuştur. Elde edilen soğancıklarda köklendirme çalışması yapılmamıştır. En fazla soğancık yaprak sapından elde edilmiştir. Yaprak eksplantında en fazla soğancık 4 mg/l 2,4-D ile 0,2 mg/l Kinetin içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Yaprak sapı eksplantında ise en fazla soğancık 6 mg/l 2,4-D ile 0,2 mg/l

Kinetin içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Elde edilen soğancıklar değişik yöntemler uygulanarak dış koşullara aktarılmıştır.

5.6 Yaprak, Yaprak Sapı, Çiçek ve Çiçek Organlarının Kültürü

Bu çalışmada sterilizasyondan sonra eksplantlarda kararma görülmüştür. Bu nedenle yaprak, yaprak sapı ve çiçek eksplantlarından sonuç alınamamıştır. Bizim çalışmamızın aksine Dilik (2006) gövde segmenti (çiçek sapı) eksplantlarında olumlu sonuçlar almıştır. Yine aynı şekilde Slabbert vd (1994), Ziv ve Lilien-Kip (2000) ve Chang vd (2000) yaptıkları çalışmalarda bizim çalışmamızın aksine çiçek eksplantların daha başarılı sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Ovaryum ve anter kültüründe ise kallus gelişimi gözlenmiş olup, kültürlerin karanlıktan aydınlığa alıştırma aşamasında eksplantlarda kararma meydana gelmiştir. Ayrıca eksplantlar karanlıkta 24 °C’de kültüre alındığı için soğanlı bitkilerin yüksek sıcaklıkta zarar görebileceği düşünülmüştür.

5.7 *In Vitro*’da Üretilen Soğancıkların Olgunlaştırılması ve Dış Koşullara Alıştırılması

In vitro’da üretilen soğancıkların dış koşullara aktarılmadan önce bitki dokularının sıkılaşmasını sağlamak amacıyla değişik uygulamalar yapılmıştır. *Fritillaria* türlerinde bitki dokularının gevşek olması ve su kaybederek canlılığını kaybetmesinden dolayı dış koşullara aktarımda çok fazla sorun yaşanmaktadır. Siverek kökenli *F. persica*’da tuzlarla yapılan denemede soğanların yaklaşık 1,5 sene canlılıklarını koruduğu görülmüştür. Sıcaktan etiklendiği için soğanların kuruduğu düşünülmektedir. Yapılan diğer denemelerde dış koşullara aktarımda başarı sağlanamamıştır. Dış koşullara aktarma çalışmalarından tuzlarla yapılan denemelere ağırlık verilerek ve başka yöntemlerin kullanılması önem taşımaktadır. Soğanlar sera aşamasında kalmış olup, tarlaya aktarılması başarılıdır.

Stabbert ve Niederwieser (1999) tarafından *Lachenalia* cinsine ait üç varyetede *in vitro* soğan oluşumu ve oluşan soğanların toprağa aktarılmasında etkili bir metod geliştirildiği bildirilmiştir. Yaprak eksplantından elde edilen sürgünlerin düşük ısıda (4-15 °C) bırakıldıktan 2 hafta sonra soğan oluşumunun başladığı bildirilmiştir. Yapılan

çalışmalar bu tez çalışmasını destekler nitelikte bulunmuştur. Nayak vd. (1997), orkide (*Acampe praemorsa* Roxb.) ile yaptıkları çalışmada elde edilen sürgünleri 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirmişlerdir. *Eucomis zambesiaca*, *E. comasa*, *E. autumnalis*'de üç türden de elde edilen sürgünler 0, 2.7, 5.4, ve 10.8 µM NAA içeren ortamda köklendirmeye alınmıştır ve sırasıyla % 95, % 98, % 100 köklenme başarısı 83 bildirilmiştir Ault ve James (1995).

S. candida'nın olgunlaşmamış embriyolarından ve ikili soğan pul yapraklarından *in vitro* koşullarda elde edilen soğancıklardan gelişimlerini ilk 6 aydan sonra + 15 °C'de sürdüren, soğan çapı 1 cm ve üzeri, köklü veya kökleri koparılmış olarak torf, perlit ve vermikülit (1:1:1) içeren saksılara aktarılan, +15 °C ve %80 nem içeren iklim dolabında gelişimlerine devam eden ve burada dormansiye girip hasat edilerek toprağa aktarılanların en yüksek adaptasyonu sağladıkları tespit etmiştir Karaoğlu (2008).

Doğal florada çoğaltım hızları düşük olan *Fritillaria* türlerinde *in vitro* soğancık üretimine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Farklı büyüme düzenleyicileri ve kültür uygulamaları sonucunda *in vitro* koşullarda *F. imperialis* ve Siverek ve Mersin kökenli *F. persica*'ya ait çok sayıda soğancık elde edilmiştir. Elde edilen soğancıklar üzerinde aynı anda kök oluşumu da gerçekleşmiştir. Bu nedenle soğancıkların köklenmesinde herhangi bir problem yaşanmamıştır. *In vitro*'da üretilen soğancıkların dış koşullara alıştırılması için yapılan değişik uygulamalar sonucunda soğancıklar toprağa aktarılmıştır. Ancak, tarla şartlarında canlılıklarını devam ettirememektedir.

Bu tez çalışmasında da gözleendiği gibi diğer birçok geofit türünde olduğu gibi *Fritillaria* türlerinde de en önemli problem *in vitro* şartlarda elde edilen soğancıkların toprağa aktarıldıktan sonra gelişmemeleri olmuştur. Bunun en önemli nedeni ise *in vitro*'da gelişen soğancıkların yeterince olgunlaşmaması ve toprağa aktarılacak büyüklüğe ulaşmamları olmuştur. Olgunlaşma için farklı yöntemler denenmiştir. Toprağa aktarılan soğancıklar 2 yıl canlılıklarını devam ettirseler de daha sonra gelişmemişlerdir. Sonuç olarak *Fritillaria* türlerinin *in vitro* kültürleriyle hızlı çoğaltılması sonucunda elde edilen soğancıkların dış koşullara aktarılmasına yönelik araştırmaların yapılmasında fayda olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akhtar, M.N., Atta-ur-Rahman, Choudhary, M.I., Sener, B., Erdoğan, I. and 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. and Tsuda, Y. 2002. New class of steroidal alkaloids from *Fritillaria imperialis*. *Phytochemistry*. Vol. 63: pp. 115-122.
- Anonymous. 2006. Web sitesi: www.giftpflanzen.com, Erişim tarihi: 12.05.2006
- Arslan, N. 1999. Güneydoğu tarımına kazandırılabilir iki bitki Adıyaman lalesi ve ağlayan gelin. GAP 1. Tarım Kongresi, 26-28 Mayıs 1999, 629-634, Şanlıurfa.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Özcan, S., Mirici, S., Gümüşçü, 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. and 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 Rep.* 17; 773–779.
- Bailey, L.H. 1996. *Manual of cultivated plants*. Mac Millan Company. New York, pp. 218-219.
- Borochoy, A., Spiegelstein, H. and Weiss, D. 1997. ISHS Acta Horticulturae 430: VII International Symposium On Flowerbulbs. Dormancy and Storage of Geophytes 1 Aralık 1997.
- Chang, C., Chen, C-T., Tsai Y-C. and 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. and 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., Tıpırdamaz, R. ve Ellialtıoğlu, Ş. 1994. Türkiye’de Ticari Değeri Olan *Galanthus* (*G. elwesii* Hooker Fil. ve *G. ikariae* Baker.) Türlerinin Doku Kültürü Yoluyla Üretimi. TÜBİTAK projesi. Proje no; TBGAG–19/A, Ankara.
- 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.
- Famelaer L., Ennik E, Creemers-Molenaar J., Eikelboom W., and 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.
- 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. and 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. and Hsu, H.Y. 1988. New steroidal alkaloids from the chinese herb drug 'bei-mu'. Chem. Pharm. Bull. Vol:36, pp. 4700-4705.
- 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. and 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. and 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.
- Liu, Y., Wang, W. and Li, Z. 1996. Experiment on the rapid reproduction of *Fritillaria taipaiensis* P.Y. Li. PubMed - indexed for Medline. Jan;21(1):15-7, 63.
- Mirici, S., Parmaksız, İ., Özcan, S., Sancak, C., Uranbey, S., Sarıhan, E. O., Gümüşcü, A., Gürbüz, B. and 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. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant.15: 473–497.
- Naik, P.K. and Nayak, S. 2005. Different modes of plant regeneration and factors affecting *in vitro* bulblet production in *Ornithogalum virens*. Science Asia 31;409-414.
- Ohkawa, W. and Kitajima, J. 1998. Studies on the propagation of *Fritillaria camtschaticensis* 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. and Draper, J. 1993. Efficient adventitious shoot regeneration and somatic embryogenesis in pea. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 34; 271-277.
- Özcan, S., Sevimay, C.S., Yıldız, M., Sancak, C. and Özgen, M. 1996. Prolific shoot regeneration from immature embryo explants of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Plant Cell Rep. 16; 200–203.
- Özhatay, N., Byfield, A. and 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. and Sase, S. 1996. several factors affecting bulblet regeneration from the culture of scale segment and node-bud in fritillary 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. and Murthy, H.N. 2002. High frequency of bulbet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 68: 3, 247-252.
- Paek, K.Y. and Murthy, H.N. 2002. High frequency of bulbet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 68: 3, 247-252.
- Perry, L.M. 1980. *Medicinal Plant of East and South East Asia*. MIT Pres, Cambridge, MA, pp. 236-237.
- Rix, M. and Phillips, R. 1981. The bulb book. Londra.
- Ronsted, N., Law, S., Thornton H., Fay, M.F. and Chase, M.W. 2005. Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *Fritillaria* and *Lilium* (Liliaceae; Liliales) and the infrageneric classification of *Fritillaria*. Molecular Phylogenetics and Evolution. 35: 509-527.
- Sancak, C., Mirici, S. and 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.
- Schacht, N. 1955. Blumenzwiebeln für Garten und Heim. Ulmer, Stuttgart, 171p.
- Schenk, R.U. and Hildebrandt, 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. and 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.
- Seon, J.H., Paek, K.Y., Gao, W.Y., Park, C.H., Sung, N.S., Giberti, G., Craker, L., Lorenz, M., Mathe, A. and Giulietti, A. 1999. Factors affecting micropropagation of pathogen-free stocks in *Fritillaria thunbergii*. Proceedings of the Second World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare., Wocmap-2. Agricultural production, post-harvest techniques and biotechnology, Mendoza, Argentina. Acta-Horticulturae, 333-337.
- Shibli, R.A. and Ajlouni, M.M. 2000. Somatic embriyogenesis in the endemic black iris: Plant Cell, Tiss .Org. Cult. 61; 15-21.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. 1967. Statistical Methods. The State University Press, Iowa, USA.

- Stabbert, M.M. and Niederwieser, J. G. 1999. *In vitro* bulblet production of *Lachenalia*. Plant Cell Reports Volume 18, Numbers 7-8.
- Taeb, A.G. and Alderson, P.G. 1990. Shoot production and bulbing of tulip *in vitro* related to ethylene, J. Hort. Sci. 65: 199–204.
- Tan, F.P. and 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. and 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. (*Lilliaceae*) 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.) Bulblets Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(2), 121-126.
- 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.
- Vasil, V., Srivastava, V., Castillo, A.M., Fromm, M.E. and Vasil I.K. 1993. Rapid production of transgenic wheat plants by direct bombardment of cultured immature embryos. Biotechnology;1553–1558.
- Wang, S.Y., Gao, W., Chen, H. and Xiao, P. 2005. New starches from *Fritillaria* species medicinal plants Carbohydrate Polymers, xx (In Press), 1-4.
- Wawrosch, C., Malla, P.R. and 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. and Lukaszewska, A. 1998. Effect of sterilization method on infection level and regeneration *in vitro* of explants of *Fritillaria imperialis* L. Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa Kwiaciarnictwa Skierniewicach, 5: 121-130.

- Yamagishi, M. 1991. *In vitro* propagation of triploid *Fritillaria camtschaticensis* (L.) Ker-Gawler. Bulletin of Research Institute of Agricultural Resources, Ishikawa Agricultural College, 2, 19-26.
- Zaidi, N., Khan, N.H., Zafar, F. and Zafar, S.I. 2000. Bulbous and Cormous monocotyledonous ornamental plants in vitro Science vision. 6 (1): 58-73.
- Zhang, H., Chen, Z. and 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. and Lilien-Kipnis, H. 2000. Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. Plant Cell Rep.19: 845–850.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Derya GÜRLEK
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 05.01.1979
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Ankara Kurtuluş Lisesi (1993-1996)
Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü (1998-2002)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı (2003-2006)

Çalıştığı Kurum ve Yıl

- Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Alanya İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Zir.Yük.Müh. (2010-)

Yayımlar

Makaleler (SCI)

Başalma, D., Uranbey, S., **Gürlek, D.**, Özcan, S. 2008. TDZ-induced plant regeneration in *Astragalus cicer* L. African Journal of Biotechnology, 7 (8), 955-959.

Poster Sunumları

İpek, A., Çöçü, S., Uranbey, S., Kaya, M., **Gürlek, D.**, Akdoğan, G., Hakyemez, H., Sancak, S., Özcan S. 2006. *In Vitro* Bulblet Proliferation in *Ornithogalum platyphyllum*. Agro-Environment: Agricultural constraints in the soil-plant-atmosphere continuum. 4-7 September 2006, Ghent, Belgium.

Özcan, S., **Gürlek, D.**, Çöçü, S., Uranbey, S., İpek, A., Sancak, C., Gürbüz, B., Arslan N. 2008. *In vitro* micro-propagation of ornamental and medicinal plants *Fritillaria imperialis* and *F. persica*. 4th World Congress On Medicinal And Aromatic Plants. 9-14 November 2008, Cape Town, South Africa.

Gürlek D, Ozcan S, Khawar KM, Aasim M, 2010. Micropropagation of endemic *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Iestwaart. Biology of Rare and Endemic Plant Species, May 26-29, 2010 Muğla, Turkey.

Aasim M, **Gürlek D**, Khawar KM, Ozcan S, 2010. *In vitro* bulblet regeneration of endemic Tunceli garlic (*Allium tuncelianum*). Biology of Rare and Endemic Plant Species, May 26-29, 2010 Muğla, Turkey.

Gurlek, D, Aasim M, Özcan S (2011). *In vitro* rooting without exogenous auxins and acclimatization of *Fritillaria* species of Turkey. European Biotechnology Congress 2011, Sep 28-Oct1, 2011, Istanbul, Turkey (Published in Current Opinion in Piotechnology 22 (2S) .

Sözlü Sunumlar

Gürlek, D., Çöçü, S., İpek, A., Sancak, C., Arslan, N., Özcan, S., 2009. *Fritillaria imperialis* ve *F. persica* Türlerinin Olgunlaşmamış Zigotik Embriyolarından *In Vitro* Soğancık Üretimi. VIII. Tarla Bitkileri Kongresi 19-22 Ekim. Antakya/Hatay.

Parmaksız, İ., Mirici, S., Çöçü, S., Karaoğlu, C., Sancak, C., Uranbey, S., **Gürlek, D.**, Gürbüz, B., İpek, A., Doğan-Kalyoncu, D., Sarıhan, E.O., Arslan, N., Kaya, M.D., Khawar, K.M. ve Özcan, S. 2007. Endemik ve Tehlike Altındaki Geofitlerin *In vitro* Hızlı Çoğaltımı. XV. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi 28-31 Ekim. Antalya.

Çöçü S., Erişen S., Duran A., Hamzaoğlu E., **Gürlek D.**, Parmaksız İ. ve Mirici S., 2005. 'Lokal Endemik *Astragalus duranii* (Fabaceae) türünün *in vitro* Koşullarda Hızlı Çoğaltımı', 14. Biyoteknoloji Kongresi, 31 Ağustos 2 Eylül, Eskişehir.