

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

SOĞAN (*Allium cepa* L.) VE TUNCELİ SARIMSAĞI (*Allium tuncelianum*
(Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'NDA OVARYUM VE ÇİÇEK
TOMURCUĞU KÜLTÜRÜ YOLUYLA HAPLOİD BİTKİ ELDE ETME
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Faika YARALI

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2014

Her hakkı saklıdır

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

16/05/2014

Faika YARALI

ÖZET

Doktora Tezi

SOĞAN (*Allium cepa* L.) VE TUNCELİ SARIMSAĞI (*Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'NDA OVARYUM VE ÇİÇEK TOMURCUĞU KÜLTÜRÜ YOLUYLA HAPLOİD BİTKİ ELDE ETME OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Faika YARALI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ

Bu çalışmada, soğan (*Allium cepa* L.) ve ülkemizin endemik bitkileri arasında yer alan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etme olanakları araştırılmıştır.

Ön kültür ortamındaki eksplantların gelişimi üzerine kültür yöntemi, şeker dozu, tomurcuk iriliği, dikim zamanı ve ortam bileşiminin etkileri 3 soğan çeşidinde (Bayram 1, Yakut, 301-OH-SXN-1) ve *Allium tuncelianum*'da değerlendirilmiştir. 2 yıl süre ile yürütülen araştırmanın ilk yılında 45.000 yumurtalık ve çiçek tomurcuğu, 2. yılında ise 26.375 çiçek tomurcuğu ön kültür ortamında kültüre alınmıştır.

Araştırma sonucunda ön kültür ortamındaki eksplantlarda kallus gelişimi açısından tomurcuk kültürü yumurtalık kültürüne göre daha başarılı bulunmuştur. Tomurcuk gelişimi yönünden dikim zamanı etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir. Ana bitkilerin geç dikildiği dönemlerde istenen irilikte çiçek tomurcuğu bulmak zorlaşmıştır. Şeker dozlarına gösterilen tepkide de genotipin etkisi önemli bulunmuştur. %5'lik şeker dozu kallus gelişimi üzerinde daha başarılı olmuştur. Ön kültür ortamına ilave edilen oksin (2,4-D) ve sitokin (BAP) kombinasyonları da eksplantlarda kallus gelişimi üzerinde etkili olmuş ve en yüksek oranlar; 2+1 mg/l 2,4-D+BAP ve 2+2 mg/l 2,4-D+BAP kombinasyonlarından elde edilmiştir. 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde 2+1 mg/l 2,4-D+BAP oksin-sitokin kombinasyonunun kullanıldığı ortamdan haploid bitki elde edilmiştir.

Allium tuncelianum'da ise ön kültür ortamında çiçek tomurcuklarının %55,28'i kallus oluşturmuş ancak bitkiye dönüşüm sağlanamamıştır.

Mayıs 2014, 122 sayfa

Anahtar kelimeler: Soğan, *Allium tuncelianum*, Gynogenezis

ABSTRACT

Ph.D Thesis

POSSIBILITIES OF HAPLOID PLANT PRODUCTION BY *IN VITRO* OVARY AND FLOWER BUD CULTURE IN ONION (*Allium cepa* L.) AND *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)

Faika YARALI

Ankara University
Graduate School of Naturel and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ

In this study, it was investigated the possibilities of obtaining haploid plants via *in vitro* ovary and flower bud culture in onion (*Allium cepa* L.) and *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) which is one of the endemic plant of Turkey.

The effects of culture method, sucrose doze, flower bud size, sowing dates of onion bulbs and auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) combination on growth of ovaries and flower buds in induction medium were evaluated in 3 different onion cultivar (var. Bayram 1, Yakut and 301-OH-SXN-1) and *Allium tuncelianum*. In the first year of the study 45.000 ovaries and flower buds and in the second year 26.375 flower buds were cultured in induction medium.

At the end of the study, flower bud culture was more successful than the ovary culture. Sowing dates of onion bulbs were effective on flower bud development. It was difficult to find desired size of flower bud especially from late sowing dates. Although sucrose dose and genotype effects were found statistically important, 5% sucrose dose was found more effective on callus formation. Combination of auxin (2,4-D) and cytokinin (BAP) were effective on callus formation of ovaries and flower buds in the induction medium. The best callus development was obtained from 2+1 mg/l 2,4-D+BAP and 2+2 mg/l 2,4-D+BAP combinations. Only one haploid plant was obtained from 301-OH-SXN-1 from the induction medium added 2+1 mg/l 2,4-D+BAP.

Callus had formed from flower buds of *Allium tuncelianum* in induction medium (55,28%) but emerged callus could not be transformed to plant.

May 2014, 122 pages

Key Words: Onion, *Allium tuncelianum*, Gynogenesis

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında katkılarıyla yolumu ve ufkumu aydınlatan danışman hocam sayın Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ'a (Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı), tez çalışmam boyunca yaptıkları katkılardan dolayı Tez İzleme Komitesi Üyeleri değerli hocalarım Prof. Dr. Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU (Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı) ve Doç. Dr. Ali Ramazan ALAN'a (Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Anabilim dalı), tezimin yürütülmesinde maddi kaynak sağlayan Kilis 7 Aralık Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, istatistiki analizlerin yapılması sırasında yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Bekir Bülent ARPACI'ya (Kilis 7 Aralık Üniversitesi), laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Meryem ÖNEY'e, doktora eğitimim süresince aralarında bulunmaktan mutluluk duyduğum Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda görevli tüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve idari personeline, çalışmalarımı yürütmem için gerekli izinleri sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Nazım ŞEKEROĞLU'na (Kilis 7 Aralık Üniversitesi MYO Müdürü), destekleriyle yanımda olan Doç. Dr. Birol ERKAN, Yrd. Doç. Dr. Demet DEMİROĞLU, Öğr. Gör. Bengü HIRLAK, Öğr. Gör. Tuğba DEMİROĞLU, Öğr. Gör. Saliha TAŞÇIOĞLU'na, iş yükümü hafifleterek çalışmalarım için zaman kazandıran mesai arkadaşım Arş. Gör. Mehmet KOÇ'a ve tüm bu süreçte kendilerine ayıramadığım zamanları hoşgörü ile karşılayan, maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan aileme teşekkürü borç bilirim.

Doktora tez çalışması 2011/1/MAP05 no'lu proje ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Faika YARALI
Ankara, Mayıs 2014

İÇİNDEKİLER

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1 Tür ve Genotip.....	6
2.2 Kültür Ortamının Bileşimi.....	10
2.3 Tomurcuk İriliği.....	19
2.4 Ana Bitkinin Yetiştirildiği Koşullar.....	20
2.5 Tomurcuklara Yapılan Ön Uygulamalar.....	21
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	23
3.1 Materyal.....	23
3.1.1 Soğan materyali.....	23
3.1.2 Tunceli Sarımsağı.....	24
3.2 Yöntem.....	25
3.2.1 Soğan çalışmaları	25
3.2.1.1 Dikim zamanının gynogenik embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi...25	
3.2.1.2 Tomurcuk iriliğinin haploid embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi...30	
3.2.1.3 Besin ortamının hazırlanması ve ortam bileşiminin haploid bitki elde edilmesine etkisi.....	32
3.2.1.4 Kültür yönteminin haploid bitki oluşumuna etkisinin belirlenmesi.....	37
3.2.2 Eksplantların alt kültür ortamına (B ₁) transfer edilmesi.....	42
3.2.3 Gelişen bitkiciklerin büyüme ortamına (EM) transfer edilmesi.....	43
3.2.4 Yapılan ölçüm ve değerlendirmeler.....	44
3.2.3.1 Eksplant gelişim aşamalarının belirlenmesi	44
3.2.3.2 Camsılaşan ve enfeksiyonlu eksplant sayısının belirlenmesi.....	47

3.2.3.3 Ploidi seviyesinin belirlenmesi.....	47
3.2.3.4 Haploid bitkilerde kromozom sayısının katlanması (dihaploidleştirme)....	51
3.2.3.5 Bitkilerin dış ortam koşullarına alıştırılması	52
3.2.2 <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) çalışmaları.....	53
3.2.2.1 Ana bitkilerin yetiştirilmesi.....	53
3.2.2.2 Tomurcuk iriliğinin haploid embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi....	57
3.2.2.3 Besin ortamının hazırlanması ve ortam bileşiminin haploid bitki elde edilmesine etkisi	57
3.2.2.4 Kültür yönteminin haploid embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi.....	58
3.2.3 Eksplantların alt kültür ortamına (B ₁) transfer edilmesi.....	59
3.2.4 Yapılan ölçüm ve değerlendirmeler.....	60
3.2.4.1 Eksplant gelişim aşamalarının belirlenmesi.....	60
3.2.4.2 Camsılaşan ve enfeksiyonlu eksplant sayısının belirlenmesi.....	61
3.2.5 İstatistiksel değerlendirme.....	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	64
4.1 Birinci Yıl Sonuçları.....	64
4.1.1 Kültür yöntemi ve genotipin eksplant gelişimine etkisi.....	64
4.1.2 Tomurcuk iriliği ve genotipin eksplant gelişimine etkisi.....	67
4.1.3 Şeker dozu ve genotipin eksplant gelişimine etkisi.....	69
4.1.4 Ortam bileşiminin ve genotipin eksplant gelişimine etkisi.....	71
4.2 İkinci Yıl Sonuçları.....	77
4.2.1 Bayram 1 ve Yakut çeşitleri.....	77
4.2.1.1 Dikim zamanı ve genotipin eksplant gelişimine etkisi.....	77
4.2.1.2 Tomurcuk iriliği ve genotipin eksplant gelişimine etkisi.....	79
4.2.1.3 Ortam bileşimi ve genotipin eksplant gelişimine etkisi	81
4.2.2 301-OH-SXN-1 çeşidi.....	85
4.2.2.1 Ortam bileşiminin eksplant gelişimine etkisi.....	86
4.2.3 <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) çalışmaları.....	91
4.2.3.1 Şeker dozunun eksplant gelişimine etkisi.....	91
4.2.3.2 Ortam bileşiminin eksplant gelişimine etkisi.....	92
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	95
KAYNAKLAR.....	101

EKLER.....	108
EK 1 2011 ve 2012 yıllarında araştırma yerine ait sıcaklık değişimi.....	109
EK 2. Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (I.Dikim: 3 Mayıs 2011).....	110
EK 3 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (II.Dikim: 17 Mayıs 2011).....	111
EK 4 Yakut soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011).....	112
EK 5 Yakut soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (II. Dikim: 17 Mayıs 2011).....	113
EK 6 Bayram 1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011).....	114
EK 7 Bayram 1 soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011).....	115
EK 8 Bayram 1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü.....	116
EK 9 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü.....	117
EK 10 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü.....	118
EK 11 <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da tomurcuk kültürü.....	119
ÖZGEÇMİŞ.....	120

SİMGELER DİZİNİ

BA	Benziladenin
BAP	Benzilaminopurine
B5	Gamborg besin ortamı
BDS	Dunstan ve Short besin ortamı
cm	Santimetre
°C	Santigrat derece
CaCl ₂ .2H ₂ O	Kalsiyum klorür dihidrat
CoCl ₂ .6H ₂ O	Kobalt klorür heptahidrat
CuSO ₄ .5H ₂ O	Bakır sülfat pentahidrat
EM	Büyüme ortamı
FeSO ₄ .7H ₂ O	Demir sülfat heptahidrat
g	Gram
g/da	Gram/dekar
g/l	Gram/litre
GA ₃	Giberellik asit
IBA	İndol bütirik asit
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
KI	Potasyum iyodur
KNO ₃	Potasyum nitrat
l	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mg/l	Miligram/litre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MS	Murashige ve Skoog besin ortamı
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum sülfat heptahidrat
MnSO ₄ .5H ₂ O	Mangan sülfat pentahidrat
NAA	Naftelen asetik asit

$\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Disodyum EDTA dihidrat
$\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$	Sodyum dihidrojen fosfat
$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sodyum molibdat dihidrat
NH_2PO_4	Amonyum fosfat
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	Amonyum dihidrojen fosfat
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Amonyum sülfat
NH_4NO_3	Amonyum nitrat
PAA	Phenylasetic asit
TDZ	Thidiazuron
$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Çinko sülfat hegzahidrat
μl	Mikrolitre
μM	Mikromolar
2,4- D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
2iP	2 Isopentenyladenine
%	Yüzde

Kısaltmalar

TÜİK Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Deneme kullanılan soğan çeşitleri.....	24
Şekil 3.2 <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar.....	25
Şekil 3.3 Birinci deneme yılında I. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 46 gün sonraki gelişme durumları.....	26
Şekil 3.4 Birinci deneme yılında II. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 32 gün sonraki gelişme durumları.....	26
Şekil 3.5 301-OH-SXN-1 soğan çeşidine ait bitkilerin arazideki görünümü.....	27
Şekil 3.6 İkinci deneme yılında I. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 76 gün sonraki gelişme durumları.....	28
Şekil 3.7 İkinci deneme yılında II. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 49 gün sonraki gelişme durumları.....	29
Şekil 3.8 İkinci deneme yılında III. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 29 gün sonraki gelişme durumu.....	29
Şekil 3.9 <i>In vitro</i> dikim aşamasına gelmiş çiçek topları ve çiçek tomurcukları.....	30
Şekil 3.10 Denemenin birinci yılında kullanılan soğan çeşitlerine ait farklı irilikteki çiçek tomurcukları.....	31
Şekil 3.11 Denemenin ikinci yılında kullanılan soğan çeşitlerine ait farklı irilikteki çiçek tomurcukları.....	31
Şekil 3.12 301-OH-SXN-1'e ait orta boy çiçek tomurcukları.....	32
Şekil 3.13 Suda bekletilen çiçek topları ve bu çiçek toplarından alınarak kültürde kullanılan çiçek tomurcukları.....	37
Şekil 3.14 Soğanlarda çiçek tomurcuklarının sterilizasyon aşamaları	38
Şekil 3.15 Çiçek tomurcuklarının tomurcuk yöntemi ile ön kültür ortamına ikilmesi.....	39
Şekil 3.16 Yumurtalık kültürünün	41
Şekil 3.17 Bayram 1 soğan çeşidinde ön kültür ortamına dikimi yapılan.....	42
Şekil 3.18 a. Ön kültür ortamına dikimi yapılmış 301-OH-SXN-1 çeşidine ait tomurcuklar.....	43

Şekil 3.19 a. Büyüme ortamına aktarılan <i>in vitro</i> bitkicikler, b. Büyüme ortamında gelişmesini sürdüren bitkiler (98. Gün).....	44
Şekil 3.20 Kültür ortamındaki farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar.....	46
Şekil 3.21 Yumurtalık ve tomurcuklarda camsılaşma ve mantari, bakteriyel ve tripslerden kaynaklanan enfeksiyonlar.....	47
Şekil 3.22 a. Örneklerin alınması ve örnekler izolasyon çözeltisinin eklenmesi, b. İzolasyon çözeltisi damlatılan örneklerin kesilmesi ve süzülmesi.....	49
Şekil 3.23 c. Örneklerin santifürüjlenmesi ve santifürüjlenen örnekler izolasyon çözeltisinin eklenmesi, d. İzolasyon çözeltisi eklenen örneklerin vortekslenmesi ve flow sitometri ile ploidi seviyesinin belirlenmesi.....	50
Şekil 3.24 Haploid bitkilerde kromozom katlama işlemi aşamaları.....	51
Şekil 3.25 Rejenerasyon ortamında gelişen eksplantların bitkiye dönüşümü.....	52
Şekil 3.26 Rejenerasyon ortamında (M4) gelişen ve dış ortam koşullarına alıştırılmak üzere hazırlanan bitkiler.....	53
Şekil 3.27 Birinci deneme yılında dikimi yapılan <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar.....	54
Şekil 3.28 İkinci deneme yılında dikimleri yapılan <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar.....	55
Şekil 3.29 İkinci deneme yılında <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) bitkilerinin çiçeklenme dönemindeki görünümü.....	56
Şekil 3.30 <i>Allium tuncelianum</i> (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait küçük boy çiçek tomurcukları.....	57
Şekil 3.31 a. <i>Allium tuncelianum</i> 'da ön kültür ortamına dikilmiş çiçek tomurcukları, b.Çiçek tomurcuklarının dikiminden sonra iklim odasına alınan petripler.....	59
Şekil 3.32 B ₁ ortamında gelişmekte olan <i>Allium tuncelianum</i> 'a ait çiçek omurcukları.....	60
Şekil 3.33 Kültür ortamındaki farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar.....	61
Şekil 3.34 <i>Allium tuncelianum</i> 'a ait tomurcuklarda meydana gelen camsılaşma ve enfeksiyonlar.....	62

Şekil 4.1 Yakut soğan çeşidinde alt kültür ortamında a. Yumurtalık ve b. Tomurcuk kültüründe kallus gelişiminin ardından kök ve sürgün gelişimi.....	67
Şekil 4.2 Alt kültür ortamında kallus oluşturmuş a. Küçük boy tomurcuklar b. Orta boy tomurcuklar.....	68
Şekil 4.3 Dikimden 85 gün sonra.....	74
Şekil 4.4 Denemenin 1. yılında büyüme ortamında gelişmesini sürdüren bitkicikler.....	75
Şekil 4.5 Denemenin 1. Yılında dış ortam koşullarına alıştırılmak üzere saksılara dikilen bitkiler.....	76
Şekil 4.6 Kültürün 61. gününde alt kültür ortamında gelişmesini sürdüren farklı irilikteki çiçek tomurcukları.....	80
Şekil 4.7 Kültürün 1. ve 5. gününde tomurcuklarda meydana gelen şişmeler.....	83
Şekil 4.8 Yakut soğan çeşidinde kallus, sürgün ve kök oluşturmuş tomurcuklar.....	84
Şekil 4.9 Yakut soğan çeşidinde büyüme ortamında gelişen <i>in vitro</i> bitkicik.....	85
Şekil 4.10 301-OH-SXN-1 soğan çeşidine ait tomurcukların ön kültür ortamındaki.....	87
Şekil 4.11 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde tomurcuklardan direkt sürgün gelişimi.....	88
Şekil 4.12 301-OH-SXN-1 çeşidinde büyüme ortamında (EM) gelişen <i>in vitro</i> bitki.....	90
Şekil 4.13 301-OH-SXN-1soğan çeşidinden elde edilen haploid (solda) ve diploid (sağda) bitkiler.....	91
Şekil 4.7 <i>Allium tuncelianum</i> 'da kallus oluşturmuş tomurcuklar.....	93

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Denemenin ikinci yılında kullanılan soğan başlarının dikim zamanları ve dikilen baş sayıları.....	28
Çizelge 3.2 Tomurcuk ve yumurtalık kültüründe kullanılan BDS ortamının bileşimi.....	33
Çizelge 3.3 B ₁ ortamının bileşimi.....	34
Çizelge 3.4 Büyüme ortamının (EM) bileşimi.....	35
Çizelge 3.5 Kromozom katlaması ve kromozom katlaması yapılmış eksplantlarda sürgün ve kök gelişimini sağlamak için kullanılan rejenerasyon ortamının (M4) bileşimi.....	36
Çizelge 3.6 Çekirdek izolasyon tamponu (NIB)*	48
Çizelge 4.1 İki soğan çeşidinde yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürünün ön kültür ortamındaki eksplantlarda kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri).....	65
Çizelge 4.2 İki soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kültür yönteminin ön kültürlerde eksplantlarda şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	56
Çizelge 4.3 Kültür yönteminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında eksplantlarda sürgün ve kök gelişimi üzerine etkisi.....	66
Çizelge 4.4 Tomurcuk iriliğinin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında yumurtalık ve çiçek tomurcuklarında kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri).....	67
Çizelge 4.5 İki soğan çeşidinde tomurcuk iriliğinin 1. dikim zamanında şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	68
Çizelge 4.6 Tomurcuk iriliğinin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi.....	69
Çizelge 4.7 Şeker dozunun 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında eksplantlardaki kallus gelişimi üzerine etkisi (adet/petri).....	70
Çizelge 4.8 Şeker dozunun 1. dikim zamanında eksplantlarda şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	70

Çizelge 4.9 Şeker dozunun 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi.....	71
Çizelge 4.10 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında eksplantlardaki kallus gelişimi üzerine etkisi (adet/petri).....	72
Çizelge 4.11 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	73
Çizelge 4.12 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi.....	74
Çizelge 4.13 Dikim zamanının 2 soğan çeşidinde çiçek tomurcuğu gelişimi üzerine etkisi (adet/petri).....	77
Çizelge 4.14 2 soğan çeşidinde dikim zamanının ön kültür ortamındaki eksplantlarda şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	78
Çizelge 4.15 2 soğan çeşidinde dikim zamanının sürgün ve kök gelişimi üzerine etkisi.....	78
Çizelge 4.16 Tomurcuk iriliğinin Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri).....	79
Çizelge 4.17 Tomurcuk iriliğinin 2 soğan çeşidinde tomurcuklarda şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	80
Çizelge 4.18 Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde tomurcuk iriliğinin kök ve sürgün gelişimine etkisi.....	81
Çizelge 4.19 Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde tomurcuklarda kallus oluşumu üzerine ortam bileşiminin etkisi (adet/petri).....	81
Çizelge 4.20 Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde ortam bileşiminin şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	82
Çizelge 4.21 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi.....	84
Çizelge 4.22 Ortam bileşiminin 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde kallus gelişimi üzerine etkisi (adet/petri).....	86
Çizelge 4.23 Ortam bileşiminin 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde şişme, direkt sürgün oluşumu, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	89

Çizelge 4.24 Ortam bileşiminin 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi.....	89
Çizelge 4.25 <i>In vitro</i> 'da 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinden elde edilen bitkilerde yapılan ploidi analizi sonuçları.....	90
Çizelge 4.26 Şeker dozunun tomurcuk gelişimine etkisi (adet/petri).....	92
Çizelge 4.27 Şeker dozunun şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	92
Çizelge 4.28 Ortam bileşiminin tomurcuk gelişimi üzerine etkisi.....	93
Çizelge 4.29 Ortam bileşiminin şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi.....	94

1. GİRİŞ

Allium cinsi *Amaryllidaceae* familyasına mensup olup, ekonomik ve yabani değeri olan yaklaşık 700 türü kapsamaktadır. Bu türler arasında soğan (*Allium cepa*), pırasa (*Allium porrum*), sarımsak (*Allium sativum*) ve Çin soğanı (*A. tuberosum*) ticari olarak önem taşımaktadır (Song vd. 2007). Toplam 1.090.425.004 ton olan dünya sebze üretiminin 116.511.971 ton ile %10,7'sini soğan, pırasa ve sarımsağı içine alan *Allium* türleri oluşturmaktadır (Anonymous 2013).

TÜİK 2012 yılı verilerine göre Türkiye'nin toplam sebze üretimi 27.820.207 ton olup; kuru soğan üretimi 1.735.857 ton, taze soğan üretimi ise 150.928 ton' dur. Soğan üretiminin toplam sebze üretimi içindeki payı %6,78'dir. Bu durumda özellikle soğan sebze türleri içinde üretim değeri bakımından domates ve karpuzun ardından 3. sırada yer almaktadır (Anonim 2013a).

Soğan yetiştiriciliğinde açıkta tozlanan çeşitlerin sayısı, hibrit çeşitlerin devreye girmesi ile giderek azalmaktadır. Bununla birlikte üreticilerin önemli bir bölümü de hala açıkta tozlanan soğan çeşitlerini tercih edebilmektedir. Ülkemizde kamu kurumlarında yapılan ıslah çalışmaları sonucunda 6 adet açıkta tozlanan soğan çeşidi (Akgün 12, İmralı Kırmacı 15, Kantartopu 3, Valenciana, Tunçay ve Beşirli 77) geliştirilmiş ve tescil edilmiştir. Üretim izinli çeşit listesinde ise; 4 tanesi hibrit olmak üzere toplam 99 soğan çeşidi bulunmaktadır (Anonim 2013b).

Ülkemize özgü endemik bir tür olan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci, özellikle Munzur dağı eteklerinde yer alan Tunceli ilinin Ovacık ve Pülümür ilçelerinde yaygın olarak bulunmaktadır (Yanmaz ve Ermiş 2005, Yanmaz vd. 2010). Çiçeklenebilme ve tohum verebilme özelliğine sahiptir. Bu türde bazı çoğaltma çalışmaları yapılmışsa da henüz çeşit aşamasına getirilmiş bir ıslah materyali bulunmamaktadır.

Günümüzde biyoteknolojik yöntemler, ıslah çalışmalarının süresinin kısaltılmasında, çeşit adaylarının ve özellikle hibrit ıslahında kullanılan ebeveynlerin saf hatlarının kısa sürede elde edilmesinde büyük yarar sağlamaktadır. *Amaryllidaceae* familyasına mensup türlerden olan soğanda (*Allium cepa* L.) tohum elde etmek için 2-3 yıla gerek duyulmaktadır. Bu nedenle soğanda yapılan ıslah çalışmalarında 2-3 senede bir generasyon ilerlenebilmekte, dolayısıyla klasik ıslah yöntemleri kullanıldığında homozigot saf hatların elde edilmesi çok uzun zaman almaktadır. Islah çalışmalarında ıslah süresini kısaltmak, çeşit adaylarını ve özellikle hibrit ıslahında kullanılan ebeveynlerin saf hatlarını kısa sürede elde etmek büyük önem kazanmaktadır.

Bir bitki türünün somatik hücrelerindeki kromozom sayısı, gamet hücrelerinde bulunan kromozom sayısı kadar ise bu bitkilere haploid bitki adı verilmektedir. Haploidler, her bir lokustaki allelerden sadece bir seriyi içermekte ve bu özellikleri ile ıslah çalışmalarında önemli yer tutmaktadır. Haploid bitkilerin kromozom sayılarının katlanması ile %100 homozigot saf hatlar elde edilebilmektedir. Böylece uzun yıllara gereksinim duyan saflaştırma işlemi, birkaç ay gibi kısa bir sürede yapılabilen; kombinasyon ıslahı ve hibrit çeşit ıslahı programlarında zaman yönünden önemli düzeyde kazanç sağlanabilmektedir (Campion ve Alloni 1990, Keller 1990a, Campion vd. 1995, Bohanec ve Jakse 1999, Ellialtıoğlu vd. 2001, Alan vd. 2003-2004, Grzebelus ve Adamus 2004, Tuncer ve Yanmaz 2007, Chen vd. 2011).

Haploid bitkiler, normal bitkilerde bulunan tüm organlara sahip oldukları halde, diploidlere oranla hücreleri ile yaprak ve çiçekleri daha küçük, kısa boyludur (Keller 1990a, Sulistyaningsih vd. 1997). Haploid bitkilerin bitki ıslah programlarında kullanılabilmesi için verimli olan diploid bitkilere dönüştürülmesi gerekmektedir. Haploid bir bitkinin kromozomlarının bazı kimyasal maddeler yardımıyla veya spontan olarak katlanması sonucunda kromozom sayısı diploid hale getirilebilir (Dihaploidleştirme= dihaploidizasyon). Bu işlem yoluyla elde edilen bitkilere de “katlanmış haploid” adı verilmektedir.

Dihaploidizasyon tekniği kullanılarak, arpa, buğday, mısır, eltik, biber, patlıcan, kavun, karpuz, lahana grubu sebzeler, soğan, sarımsak, pırasada katlanmış haploidler elde edilebilmiştir (Galmarini 1994, Keller ve Korzun 1996, Ellialtıoğlu vd. 2001, Michalic 2001, Alan vd. 2003, Musial vd. 2005, Palmer ve Keller 2005, Reed 2005, Forster vd. 2007, Murovec ve Bohanec 2012).

In vitro haploid embriyo ve bitki elde etmede kullanılan yöntemleri temel olarak androgenik ve gynogenik yöntemler olmak üzere iki grup altında toplamak mümkündür. Bu yöntemlerden ilkinde başlangıç materyali olarak erkek gamet kullanılmaktadır (anter ve mikrospor kültürü). İkinci yöntemde ise başlangıç materyali dişi gamete ait olan yumurta (ovul), yumurtalık (ovaryum) ve iek tomurcuğudur.

Her bitki türünde katlanmış haploidleri elde etmek mümkün olmamaktadır. Ayrıca, her tür, farklı dihaploidizasyon tekniğinin kullanılmasını isteyebilmektedir (Forster vd. 2007, Tuncer 2010). Bugüne kadar yapılan çalışmalar sonucunda *Allium* türlerinin androgenesise tepki vermedikleri ortaya konulmuştur (Campion ve Alloni 1990, Keller 1990b, Javornik vd. 1998, Bohanec ve Jakse 1999, Geoffriau vd. 2006, Sulistyaningsih vd. 2006). Buna karşılık *Allium* türleri gynogenezis yoluyla haploid bitkiler oluşturabilmektedir (Keller 1990a, Atanassov vd. 1995, Jakse vd. 1996, Keller ve Korzun 1996, Mukhambetzhano 1997, Bohanec ve Jakse 1999; Puddephat vd. 1999, Hassandokht vd. 2000, Jakse vd. 2002, Szulc vd. 2002, Alan vd. 2003-2004, Musial vd. 2005, Geoffriau vd. 2006, Sulistyaningsih vd. 2006, Forodi vd. 2009).

Allium türlerinde gynogenezis yoluyla haploid bitki üretimi ile ilgili ilk çalışmalar soğanda 1989 yılında Muren ve 1990 yılında da Campion ve Aloni ile Keller tarafından yapılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Bohanec ve Jakse 1999, Puddephat vd. 1999, Bohanec vd. 2001, Musial vd. 2001- 2005). Daha sonra pırasa, sarımsakta da bazı çalışmalar yapılmıştır (Keller ve Korzun 1996).

Ülkemizde gynogenezis yoluyla soğanlarda haploid bitki elde etme çalışmaları Alan vd. (2003) tarafından başlatılmıştır. Bu çalışma yurt dışında yabancı soğan çeşitleri ile yürütülmüş ve 85 haploid bitki elde edilebilmiştir. Araştırmalar ülkemiz koşullarına adapte edilmeye çalışılmışsa da henüz sistemin ıslah çalışmaları içinde yer alması için yeterli olmamıştır. *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci’de ise bu tür bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada, ülkemiz sebze tarımında ekonomik önemi olan *Allium* türlerinden soğanda ve ülkemizin endemik bitkileri arasında yer alan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci’de ovaryum ve çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etmek hedeflenmiştir. Tekniğin kendi laboratuvar koşullarımıza optimizasyonunu sağlayabilmek için, daha önce yapılan çalışmalarda başarılı olduğu belirtilen teknikler kabuk rengi farklı 2 soğan çeşidi ile *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci’de denenmiştir. Yurt dışında yapılan araştırmalarda gynogenezise tepki verdiği belirlenmiş olan bir soğan çeşidi de referans çeşit olarak denemelere katılmıştır. Böylece hem yöntemin çalışıp çalışmadığı, hem de bizim tür ve çeşitlerimizin gynogenezise göstermiş oldukları tepki ortaya konulmuştur. Araştırmanın sonuçları ülkemizde soğan ıslahında çalışacaklara yol gösterici olacak, yöntemin ıslah çalışmalarına entegre edilmesiyle de soğan gibi ıslah süresi uzun olan bir türde ıslah süresinin kısaltılmasına katkıda bulunulmuş olacaktır.

Bu araştırmada ilk kez ülkemize ait endemik bir sarımsak türü de gynogenezise yatkınlık açısından denemeye alınmıştır. Tekniğin optimizasyonu sağlandığında bu türde de ıslah süresini kısaltmak söz konusu olabilecektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Döllenmemiş dişi gamet yoluyla haploid bitki elde etme yöntemi olarak açıklanan gynogenezis, özellikle androgenezise tepki vermeyen türlerde haploid bitki üretimi için kullanılan alternatif bir yöntemdir. Gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etmede dişi gametin gelişme yönü *in vitro*'da uygun kültür şartlarında tetiklenerek sporofitik gelişme yönüne kaydırılmaktadır. Ancak gametofitik gelişme yönünü sporofitik gelişme yönüne çeviren mekanizmanın hücresel düzeyde nasıl meydana geldiği tam olarak bilinmemektedir (Palmer ve Keller 2005, Bohanec 2009, Chen vd. 2011). Dişi gametten haploid embriyo ve bitki elde etmeye yönelik çalışmalarda türlere göre yumurta (ovul), yumurtalık (ovaryum) veya çiçek tomurcuğu kültürleri kullanılmaktadır (Keller ve Korzun 1996, Mukhambetzhonov 1997, Alan vd. 2003, Forster vd. 2007, Bohanec 2009, Murovec ve Bohanec 2012).

Dişi gamet orijinli olduğu bildirilen ilk spontan haploid bitkiler 1922 yılında Blakeslee vd. tarafından *Datura stramonium* bitkisinde tanımlanmıştır. *In vitro*'da ise gynogenezis yoluyla ilk haploid bitkiler 1976 yılında San Neoum tarafından arpada yumurtalık kültürü yoluyla elde edilmiştir (Kurtar 1999, Chen vd. 2011). *Allium* türlerinde ise 1989 yılında Muren ve 1990 yılında da Champion ve Aloni ile Keller tarafından gynogenezis yoluyla haploid bitki üretimi ile ilgili ilk çalışmalara soğanda başlanmış, ardından pırasa ve sarımsakta çalışmalar yapılmıştır (Keller ve Korzun 1996, Judkevieine vd. 2005).

Haploid bitki elde etmek amacıyla gynogenezis teknikleri, günümüzde zirai açıdan ekonomik önemi yüksek olan soğan (*Allium cepa* L.) ve şekerpancarı (*Beta vulgaris* L.) başta olmak üzere, arpa (*Hordeum vulgare* L.), buğday (*Triticum aestivum* L.), çeltik (*Oryza sativa* L.), tütün (*Nicotiana tabacum* L.), kavun (*Cucumis melo* L.), kabak (*Cucurbita pepo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.), mısır (*Zea mays*) ve ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (Alan vd. 2003, Palmer ve Keller 2005, Reed 2005, Bohanec 2009, Chen vd. 2011, Murovec ve Bohanec 2012).

Dişi gametten haploid embriyo elde etmeye yönelik çalışmalarda başarıyı etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörleri başta genotip ve ana bitkinin yetiştirildiği koşullar olmak üzere, kültür ortamının bileşimi, tomurcuk büyüklüğü ve eksplantlara yapılan ön uygulamalar şeklinde sıralamak mümkündür (Yaralı ve Yanmaz 2013).

2.1 Tür ve Genotip

Yumurta, yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla elde edilen gynogenik haploid embriyo oranı, embriyo kalitesi ve embriyodan bitki rejenerasyonu tür ve çeşitlere göre farklılık göstermektedir. Dolayısıyla haploid bitki üretiminde genotip seçimi başarı sınırlarını belirlemektedir (Jakse ve Bohanec 1994, Bohanec vd. 1995, Jakse vd. 1996, Keller ve Korzun 1996, Geoffriau vd. 1997, Mukhambetzhanoğlu 1997, Javornik vd. 1998, Bohanec ve Jakse 1999, Michalik vd. 2003, Alan vd. 2004, Judkeviciene vd. 2005, Palmer ve Keller 2005, Reed, 2005, Cho vd. 2006, Kim vd. 2007, Chen vd. 2011, Murovec ve Bohanec 2012).

Soğanda ilk haploid bitkinin elde edildiği çalışmada, farklı *Allium* türlerinden (*Allium schoenoprasum* L., *Allium porrum*, *A. altaicum*, *A. fistulosum*) ve farklı soğan çeşitlerinden (*Allium cepa* L. Stuttgarter Riesen, Carmen, Zerti, Stuttgarter Gigant, Downing Yellow ve bazı ıslah hatları) alınan yumurta, yumurtalık ve çiçek tomurcukları BDS ortamında kültüre alınmıştır. Yumurta ve çiçek tomurcuğu kültürlerinde tür ve çeşitlere göre değişen oranlarda kallus gelişimi sağlanmıştır. Ancak sadece soğanda kullanılan tüm kültür şekillerinde yumurtadan bitki rejenerasyonunun meydana geldiği bildirilmiştir. Soğanda kültüre alınan yumurtalıklardan genotiplere göre %0,08- 0,58 arasında değişen oranlarda doğrudan embriyo gelişimi ile bitkicikler elde edilmiştir. Kromozom sayımlarıyla bu bitkilerin tamamının haploid olduğu ve morfolojik olarak da diploidlerden daha küçük oldukları tespit edilmiştir (Keller 1990a).

Geoffriau vd. (1997), 22 soğan çeşidinin kullandığı çalışmada, çeşitler genetik orijinlerine (Kuzey Avrupa, Doğu Avrupa, Güney Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri) ve genetik yapılarına göre (açık tozlanan, kendilenmiş, sentetik klon) ayrılmıştır. Araştırmada embriyo oranı, regenerasyon oranı, canlılık oranı, embriyo kalitesi ve meydana gelen bitkilerin ploidi seviyeleri belirlenmiştir. Toplam 50.380

tomurcuğun kullanıldığı denemede 1.265 embriyo (%2,5) elde edilmiştir. Gynogenik embriyo oluşumunda genotip ve çeşit etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir. Kültüre alınan çiçek tomurcuklarında embriyo verimi ve bitki rejenerasyonunun %0-17 ve %0-11 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bitki rejenerasyonunun yanı sıra en yüksek embriyo veriminin kendilenmiş ve sentetik hatlardan elde edildiği ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen bitkilerin %80'ninin haploid, %13'ünün ise diploid olduğu tespit edilmiştir.

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

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

Jakse vd. (2002), soğanda haploid bitki üretiminde çiçek tomurcuklarının *in vitro*'da kültüre alınmasının etkili bir uygulama olduğunu, ancak birçok soğan populasyonunun düşük gynogenik kapasiteye sahip olması ve kromozom katlamadaki başarısızlık nedeniyle katlanmış haploid üretiminin sınırlandığını bildirmiştir. Gynogenezise tepki veren ve vermeyen hatların melez bireylerin, gynogenik haploid meydana getirme frekanslarını ve ebeveyn bitkiler ile kendilenmiş bitkilerden elde edilen haploid rejenerantlar arasındaki fenotipik korelasyonları belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada; gynogenezise tepki veren ve vermeyen kendilenmiş soğan hatları arasındaki melezlemelerden elde edilen hibritlerin, gynogenezise tepki vermeyen ebeveyn hatlardan daha fazla gynogenik kabiliyet gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

Sulistyaningsih vd. (2002), sitoplazmik erkek kısır (CMS) *Allium galanthum* ve *Allium cepa* L. arasındaki hibritlerden çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etme olanaklarını araştırmıştır. Araştırmada 535 çiçek tomurcuğu B5 ortamında kültüre alınmış ve partenogenetik embriyolardan elde edilen 25 bitkiden 13'ünün bitkiye dönüşümü sağlanmıştır. Elde edilen 11 bitkinin haploid, diğer iki bitkinin ise diploid olduğu belirlenmiştir. Haploid ve diploid bitkilerin *Allium galanthum* ve *Allium cepa* L.'dan farklı gen kombinasyonları sergiledikleri ortaya çıkarılmıştır. Diploid bitkilerle diğer *Allium galanthum* ırkları, normal soğan çeşitleri ve akraba türler arasındaki melezlerin soğan yetiştiriciliği için F₁ hibritlerin elde edilmesinde başarılı olabileceği bildirilmiştir.

Alan vd. (2003), iki farklı *A. cepa* hattı (Norstar ve NY53-E21B) ile *A. cepa* x *A. roylei* melezlerinden elde edilen; "F₁: NY53-E21B x *A. Roylei* (3 hat), YIX x *A. Roylei* (4 hat), *A. Roylei* x Norstar (2 hat); F₂: *A. Roylei* x Norstar (2 hat), (NY53-E21B x *A. Roylei*) F₂ (2 hat), (YIX x *A. Roylei*) F₂ (2 hat); BC₁F₁: [NY53-E21A x (NY53-E21B x *A. Roylei*)] F₂ (10 hat), BC₁F₂: [NY53-E21A x (NY53-E21B x *A. Roylei*)] F₂ (15 hat)" olmak üzere toplam 40 melez generasyonu deneme materyali olarak kullanmış, çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla gynogenik bitki elde etme olanaklarını araştırmıştır. Araştırmada kullanılan genotipler gynogenezis meydana getirme kabiliyeti bakımından farklılık göstermiştir. *Allium cepa* L. hatlarından 218, *A. roylei* melezlerinden ise toplam 59 bitkicik elde edilmiştir. *A. roylei*'den elde edilen bitkiciklerin büyük bir çoğunluğu geriye melez generasyonlardan elde edilmiştir. F₁ ve F₂ generasyonundan elde edilen bitkilerin gynogenezise ya hiç ya da çok az tepki verdiği bildirilmiştir. Elde edilen bitkiciklerin yaklaşık yarısı bitkiye dönüşmüş, flow sitometriyle yapılan ploidi analizi ile *A. cepa*'dan elde edilen gynogenik bitkilerinin %9'unun spontan diploid, %86'sının haploid olduğu tespit edilmiştir. *A. roylei*'den elde edilen gynogenik bitkilerin ise %77'sinin spontan diploid olduğu ve sadece BC₁F₁ ve BC₁F₂ generasyonlarından birer adet haploid bitki elde edildiği bildirilmiştir.

Bohanec vd. (2003), haploid bitki üretiminde genotip etkisini belirlemek amacıyla Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilmiş 22 soğan hattını kullanmıştır. Gynogenezis çalışmalarında B0223B ve B2923B genotiplerinin haploidi meydana getirme frekansının diğer genotiplerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. B1717A-1 x

B2923B-3 melezlerinin haploidi meydana getirme oranının haploidi frekansı düşük B1717A-1 ebeveyninden daha yüksek ancak haploidi meydana getirme kabiliyeti yüksek olan B2923B-3 ebeveynden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada ayrıca kendilemenin soğanda gynogenezis meydana getirme frekansına etkisi de değerlendirilmiştir. B2923B genotipinin kendilenmesiyle meydana gelen hatlarda haploidi frekansının arttığı, B2923B-6 genotipinde en yüksek ortalama haploidi meydana getirme oranının %53,6 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kendileme yoluyla elde edilen sadece tek bir bitkide haploidi meydana gelme frekansının %82,8'e kadar yükseldiği tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda kendilemenin haploid soğan üretiminde etkili bir yöntem olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

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

Cho vd. (2006), *in vitro* gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etmek amacıyla ticari olarak üretimi yapılan açık tozlanan 10 farklı uzun gün soğan çeşidi (Top-one, Hwanggeumal, Higuma, Chunsim, Sprit, Brahma, Candy, Tamara, Wolf, Getsurin) ile 4 farklı F₁ hibrit çeşidi kullanmıştır. Araştırma sonucunda, gynogenezise tepkinin çeşitler arasında farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Buna göre en yüksek gynogenik tepkiyi Getsurin çeşidi vermiş (%2,77), Candy çeşidinde ise %2,03 olduğu belirlenmiştir. Bitkiciklerde ploidi analizi flow sitometri ile belirlenmiş ve bitkiciklerin %24,5'inin haploid, %44,9'unun mixoploid ve %16,3'ünün diploid olduğunu tespit edilmiştir.

Sulistyaningsih vd. (2006), çiçek tomurcuğu kültürü yöntemiyle Endonezya orijinli Dili-white, Yogya ve Dili-red soğan çeşitlerinin gynogenezise tepkilerini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada ana bitkileri sera şartlarında yetiştirmiştir. Araştırmada toplam 6.812 çiçek tomurcuğu kullanılmış ve 89 bitki elde edilmiştir. Bu bitkilerin 2 tanesinin haploid olduğu, gynogenezise tepki bakımından ana bitkiler arasında önemli farkların bulunduğu ve Dili-white soğan çeşidinden 87, Dili-red ve Yogya'dan ise birer bitki elde edildiği bildirilmiştir. Yapılan analizler elde edilen bitkiciklerden sadece iki tanesinin haploid (Dili-white) olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Souri vd. (2007), 9 farklı İran soğan çeşidini kullandıkları çalışmada gynogenik bitki elde etmek amacıyla tomurcuk kültürünü kullanmıştır. Gynogenezise tepkinin genotipler arasında değişim gösterdiği, en yüksek embriyo gelişiminin Sefid- e- Naishabur (%5,06) ve Eghlid- e- Fars (%4,51) çeşitlerinden elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmada en düşük bitki rejenrasyonu Tarom- e- Zanjaan (%0,19) çeşidinde gözlenirken, en yüksek bitki rejenerasyonu ise Eghlid- e- Fars (%2,19) çeşidinden elde edilmiştir.

2.2 Kültür Ortamının Bileşimi

Kültür ortamı ve bileşimi *in vitro* haploid embriyo ve bitki gelişimini kontrol eden ana faktördür (Reed 2005, Chen vd. 2011). *Allium* türlerinde gynogenik haploid bitki elde etmede tür ve çeşitlerin ortam bileşimi istekleri birbirinden farklıdır (Mukhambetzhano 1997, Murovec ve Bohanec 2012). Genel olarak yumurta, yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürlerinde B5, BDS, MS besin ortamları ile bu ortamların modifiye edilmiş biçimleri kullanılmaktadır (Campion vd. 1992, Jakse ve Bohanec 1994, Jakse vd. 1996, Keller ve Korzun 1996, Martinez vd. 1997, Hasandokht vd. 2000, Sulistyaningsih vd. 2002, Michalik vd. 2003, Alan vd. 2004, Judkevieiene vd. 2005, Reed 2005, Ponce vd. 2006, Chen vd. 2011). Ayrıca, kullanılan kültür ortamlarına ilave edilen vitaminler, şeker ve büyümeyi düzenleyici maddeler de gynogenezis üzerinde önemli etkide bulunmaktadır (Mukhambetzhano 1997, Bohanec 2009, Murovec ve Bohanec 2012). Bu nedenle gynogenik haploid embriyoların elde edilmesinde ortamın oksin-sitokinin dengesi önemlidir. Oksin olarak 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) ve NAA (naftalinasetik asit)'in 1-2 mg/l'lik dozları daha iyi sonuç vermektedir.

Sitokinin olarak ise 6-BA (6-benzylaminopurine) ve 2iP (2-izopentiladenin)'in 1-2 mg/l dozlarının kullanımı yaygındır (Campion vd. 1992, Geoffriau vd. 1997, Martinez vd. 1997, Alan vd. 2003-2004, Bekheet 2004, Musial vd. 2005, Reed 2005, Sulistyaningsih vd. 2006, Bohanec 2009, Forodi vd. 2009, Chen vd. 2011). Soğanda yapılan çalışmalarda besin ortamı bileşeni olarak polyaminlerin de oksin ve sitokininler yerine kullanılabilmesi bildirilmiştir (Martinez vd. 2000, Geoffriau vd. 2006, Bohanec 2009). Ancak kültür ortamında kullanılacak büyümeyi düzenleyici maddelerin standart konsantrasyonu henüz kesin olarak belirlenememiştir (Keller ve Korzun 1996, Chen vd. 2011, Murovec ve Bohanec 2012).

Keller (1990b), 1984 ve 1987 yılları arasında yaptığı çalışmada altı pırasa çeşidi, frenk soğanı, *Allium fistulosum*, *Allium altaicum* ile soğan ve *Allium fistulosum*'un bazı hibritlerini kullanmıştır. Araştırmada haploid bitki elde etmek amacıyla anter ve ovaryum kültürleri kullanılmıştır. Araştırmacı, kullanılan *Allium* türlerinin androgenesise tepki vermediğini, sadece yumurta kültürü yoluyla haploid bitki elde edildiğini bildirmiştir. Kültür ortamına ilave edilen 2,4-D ve BA'nın 10^{-6} mol/litre'lik dozlarının kallus gelişimini artırdığı, aktif kömür uygulamalarının ise kallus oluşumunu baskıladığı tespit edilmiştir. Kullanılan tür ve çeşitlerde kallus oluşum oranları farklılık göstermiş, en yüksek kallus oluşum oranlarının *A. altaicum*, *A. fistulosum* ve *A. porrum*'da meydana geldiğini bildirmiştir.

Campion vd. (1992), soğanda (*Allium cepa* L.) yaptığı çalışmada; hem ön kültür hem de alt kültür ortamına 100 g/l sakkaroz ve ön kültür ortamına 2 mg/l 2,4-D ve 6-BA eklenmesiyle yumurta kültürü yoluyla elde edilen gynogenik embriyo veriminin önemli derecede arttığını bildirmiştir. Yumurtalık kültürü yoluyla elde edilen embriyo veriminin ise BDS ortamına 100 g/l sakkaroz, 1 mg/l NAA ve 2 mg/l 6-BA eklenmesiyle artış gösterdiği; 100 g/l sakkaroz, 2 mg/l 2,4-D ve 6-BA eklenen BDS ortamı kullanıldığında ise direkt çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla elde edilen embriyo verimi yüzdesinde artış olduğu ortaya konulmuştur. Araştırma sonucunda, elde edilen gynogenik embriyo verimi açısından yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürleriyle ortamdaki oksin çeşidi arasında yakın bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. 2,4-D'nin hem yumurtalık hem de çiçek tomurcuğu kültürlerinde, NAA'nın ise yumurtalık kültüründe daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Araştırmada elde edilen embriyoların %36'sından

bitki meydana gelmiş ve meydana gelen bitkilerin %88,3'ünün haploid olduğu ortaya konulmuştur.

Özzambak (1992,) üç farklı besin ortamı (MS, B5, Nitsch), %6 ve %12 olmak üzere iki farklı sakkaroz dozu ve 2iP'in farklı iki dozunun (4 ve 8 mg/l) Carino ve Farinto pırasa çeşitlerinde haploidi uyartımına etkilerini araştırmıştır. Kültürde kullanılan yumurtalıklar antesisten 3-5 gün önce çiçek tomurcuklarından izole edilmiş ve besin ortamlarına ekilmiştir. Ovaryumlarda en iyi gelişme %6 sakkaroz ve 4- 8 mg/l 2iP eklenen MS ortamından sağlanmış, ancak bitkilerin yumurta hücrelerinden değil ovaryum duvarından veya plasenta dokusundan meydana geldikleri için diploid oldukları belirtilmiştir.

Jakse ve Bohanec (1994), yaptıkları çalışmada, farklı ortam bileşimlerinin dört farklı soğan çeşidinden alınan yumurtalıklarda iki aşamalı kültür uygulaması yöntemiyle gynogenezis meydana getirme düzeyleri üzerine etkisini araştırmıştır. Araştırmanın ilk aşamasında, indüksiyon ortamında, yaygın olarak kullanılan 2,4-D, PAA (phenylasetic asit) ile karşılaştırılmış; rejenerasyon ortamında ise TDZ (thidiazuron)'nin farklı iki dozu (2 mg/l ve 0,2 mg/l) denenmiştir. Araştırmanın ikinci aşamasında jel ajanları ve agarın etkisi incelenirken, üçüncü aşamada ise rejenerasyon ortamına ilave edilen gümüş nitratın etkileri araştırılmıştır. Analiz sonuçları gynogenezis oluşumu üzerinde genotipler arasında önemli farklılıklar olduğunu ve 2,4-D'nin kullanıldığı indüksiyon ortamının, PAA'nın kullanıldığı ortama göre daha başarılı olduğunu bildirilmiştir.

Bohanec vd. (1995), üç hibrit (Daytona F₁, XPH 739 F₁ ve XPH 3371 F₁) ve bir açık tozlanan (Belokranjka) olmak üzere dört farklı soğan çeşidinde gynogenezis meydana gelme frekansını araştırmıştır. Araştırmada indüksiyon ortamı olarak, B5 ortamı kullanılmış ve ortama 2 mg/l 2,4-D ve 2 mg/l BA katılmıştır. Rejenerasyon ortamı olarak R₁: BDS+ 2 mg/l 2iP+ 1 mg/l NAA ile R₂: BDS+ 2 mg/l TDZ (Thidiazuron) olmak üzere iki farklı ortam kullanılmıştır. Yumurtalık kültüründe en iyi embriyo rejenerasyonu XPH 3371 çeşidinde gözlenmiştir. R₁ ortamında %7,6; R₂ ortamında ise %5,6 oranında embriyo rejenerasyonu sağlanmıştır. Yumurta kültüründe ise en yüksek rejenerasyon değeri R₁ ortamında ve Belokranjka çeşidinde %0,6 olarak belirlenmiştir. Buna ilaveten tüm çeşitler için yumurtalık kültüründe rejenerasyon oranının ortalama

%2,32 yumurta kültüründe ise %0,15 olduğu gözlenmiştir. Bu bilgiler kültür ortamına ilave edilen 2 mg/l thidiazuronun (TDZ) rejenerasyon ve *in vitro* bitki gelişmesinde pozitif etkide bulunduğunu ortaya çıkarmıştır. Embriyo oluşum frekansı üzerine 2 mg/l 2iP ve 1 mg/l NAA içeren R₁ ortamı ile 2 mg/l thidiazuron içeren R₂ ortamı arasında fazla fark olmadığı; ancak dış ortam koşullarına alışma evresindeki bitki yüzdesinin R₂ ortamında dört kat daha fazla olduğunu tespit edilmiştir. Kök uçlarında yapılan kromozom sayımları ile sadece XPH 3371 çeşidinden 27 haploid bitki elde edilmiştir.

Gemesne ve Martinovich (1995), soğanda ovaryum kültürünün gynogenezise en hızlı cevap veren yöntem olduğunu ve en yüksek gynogenik embriyonun 1 mg/l NAA ve 2 mg/l BA eklenen BDS ortamından elde edildiğini bildirmiştir. Direkt sürgün oluşumu indüksiyondan üç ay sonra 0,5 mg/l NAA ve 3 mg/l BA içeren BDS ortamında gözlenmiştir. Çiçek tomurcuğu kültüründe ise sadece bir genotipte 2 mg/l 2,4-D ve 2 mg/l BA içeren BDS ortamında embriyo elde edilebilmiştir. Çiçek tomurcukları ½ MS ortamına transfer edildiğinde indüksiyondan üç ay sonra çok sayıda embriyo meydana geldiği tespit edilmiştir. Araştırma sonucu elde edilen bitkilerin 80 tanesinin haploid 20 tanesinin ise diploid olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Jakse vd. (1996), farklı kültür ortamlarının dört soğan çeşidinde gynogenik rejenerasyon üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla, B5 ve BDS ortamlarına farklı dozlarda ilave edilen büyüme düzenleyicilerin etkisi denenmiştir. Araştırmada 2,4-D'nin 2 mg/l; PAA'nın 100 mg/l; BA'nın 2 mg/l; TDZ'nin ise 0,2 ve 2 mg/l'lik dozları kullanılmıştır. Buna göre indüksiyon ortamı olarak; I₁: B5+ 2 mg/l 2,4-D+ 2 mg/l BA+ 6 g/l agar, I₂: B5+100 mg/l PAA+ 2 mg/l BA+ 6 g/l agar ve I₁G: B5+ 2 mg/l 2,4-D+ 2 mg/l BA+ 2 g/l gellan-gum olmak üzere üç farklı ortam kullanılmıştır. Rejenerasyon ortamı olarak ise; R₁: BDS+ 2mg/l TDZ+ 6 g/l agar, R₂: BDS+ 0,2 mg/l TDZ+ 6 g/l agar, R₁G: BDS+ 2 mg/l TDZ+ 2 g/l gellan-gum içeriğine sahip üç farklı ortam kullanılmıştır. Araştırma sonucunda ovaryumlardan en yüksek embriyo oranının (%6,04) I₁-R₁ ortamlarından elde edildiği tespit edilmiştir. Rejenerasyon ortamında kullanılan thidiazuron (TDZ)'ün 2 mg/l'lik dozu 0.2 mg/l'lik dozuna göre daha iyi sonuç vermiştir. Ayrıca indüksiyon ortamına eklenen 2,4-D'nin, phenylacetic asitten (PAA) daha yüksek oranda rejenerasyon sağladığı da tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda kültüre alınan 10.140 ovaryumdan toplam 120 bitki elde edilmiştir. Yapılan ploidi analizleri bu bitkilerin

17'sinin (%14,2) miksoploid, 24'ünün (%20,0) diploid, 2 tanesinin (%1,7) triploid, 77 tanesinin (%64,2) ise haploid olduğu belirlenmiştir.

Martinez vd. (1997), yumurta ve yumurtalık kültürü yoluyla Val 14 INTA ve Torrentina soğan çeşitlerinde *in vitro* gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etme olanaklarını araştırmıştır. İndüksiyon ortamı olarak: MS ve B5 ortamları kullanılmış ve bu ortamlara 2 mg/l BA ve 2 mg/l 2,4-D katılmıştır. Ortamların tümüne %10 sakkaroz ve %0,75 agar ilave edilmiştir. Dört hafta sonra eksplantlar hormonsuz B5 ve B5+ 3,5 mg/l GA₃+ 0.12 mg/l BA+ 2 mg/l IBA) ile B5+ 2 mg/l BA+ 2 mg/l 2,4-D içeren ortamlara transfer edilmişlerdir. Burada gelişen eksplantlar 90 gün sonra 2 mg/l BA ve 2 mg/l 2,4-D içeren B5 ortamına transfer edilmiştir. Daha sonra ovul ve ovaryumlardan gelişen embriyolar 0,225 mg/l BA ve %2 sakkaroz içeren ½ MS ortamına transfer edilmiştir. Burada gelişen bitkicikler 0,1 mg/l IBA ve %3 sakkaroz içeren B5 ortamına alınmıştır. Araştırma sonucunda 2 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D içeren ortamlarda gelişen ovaryumların %2,83'ünün bitkiye dönüştüğü, bunların %0,65'inin haploid olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, büyümeyi düzenleyici maddelerin gynogenezisin başlangıç aşamasında büyük önem taşıdığını; gynogenik embriyo veriminin kullanılan çeşitlere göre farklılık gösterdiğini, Val 14 INTA çeşidinin ovaryum gelişiminin Torrentine çeşidinden daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmada kültüre alınan toplam 2.640 yumurtalıktan 5 haploid bitki elde edildiği bildirilmiştir.

Hassandokht vd. (2000), 6 İran (Ghermez-e-Azarshahr, Sefid-e-Kashan, Sefid-e-Kamare-e-Khomain, Sefid-e-Qom, Dorcheh-e-Esfahan and Gholigheseh-e-Zanjan) ve 2 İtalyan (Borettana and Klr) soğan çeşidinin gynogenezise tepkilerini araştırmıştır. İndüksiyon ortamında embriyo gelişimini uyartmak amacıyla F₆ (BDS+ B5+ 2 mg/l 2,4-D+ 2 mg/l BA) ve JAF (BDS+ B5+ 2,3,5 triiodobenzoic asit) olmak üzere iki kültür ortamı kullanılmıştır. Araştırma sonucunda embriyo oluşum oranı ve kallus oluşturma yüzdesi üzerinde iki kültür ortamı arasındaki farkın önemli (P<0.05) olduğu ve kullanılan kültür ortamı ile çeşitler arasında da interaksiyonun yüksek olduğu tespit edilmiştir. JAF ortamıyla karşılaştırıldığında F₆ ortamında daha fazla embriyo ve kallus oluşumunun sağladığı tespit edilmiştir. İran soğan çeşitleri içinde en yüksek embriyo oluşum oranının Gholigheseh-e-Zanjan çeşidinde %0,80; en düşük embriyo gelişim oranının ise Sefid-e-Kamare-e-Khomain çeşidinde %0,34 olduğu bildirilmiştir.

Martinez vd. (2000), soğanda gynogenik embriyo ve bitki rejenerasyonu üzerine poliaminlerin etkisinin araştırıldığı ve başarılı sonuçların alındığı ilk araştırma olan çalışmada Valcatorce INTA ve Torrentina çeşitlerinden alınan çiçek tomurcuklarını kullanmıştır. Araştırmada en yüksek embriyo veriminin 2 mM putresin ve 0,1 mM spermidin içeren ortamdan elde edildiğini bildirilirken; ortama tek başına putresin ilavesinin birkaç istisna dışında, kullanılan her iki çeşit için de hem embriyo hem de haploid bitki gelişiminde etkili olmadığı ortaya çıkarılmıştır. En yüksek embriyo oluşum oranı Torrentina çeşidinde %9,5; Valcatorce INTA çeşidinde ise %2,8 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, kültürün 15. gününden sonra 0,1 mM spermidin kullanımının embriyo olgunlaşması ve bitki oluşumunu hızlandırdığı; en fazla haploid bitkinin (%1,90) Torrentina çeşidinden elde edildiği de ortaya çıkarılmıştır.

Nowak (2001), 9 farklı soğan çeşidi ve 14 soğan ıslah materyali kullanarak yaptığı çalışmada embriyo rejenerasyonu için; hormonsuz, 0,2- 1 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP içeren üç farklı besin ortamı kullanmıştır. En iyi embriyo rejenerasyonunun hormonsuz ortamda meydana geldiğini; en yüksek çoğalma oranının ise 1 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP içeren ortamdan, 0,2 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP içeren ortama ardından ise hormonsuz ortama transfer edilen bitkilerde olduğunu bildirmiştir.

Michalik vd. (2003), 30 farklı Polonya soğanı genotipine ait 32.802 çiçek tomurcuğunun ve farklı ortam bileşimlerinin kullanıldığı iki yıl süren çalışmada 310 (%0,9) embriyo elde etmiştir. Araştırmada kullanılan altı farklı ortam bileşimi arasında en yüksek embriyo veriminin 2 mg/l 2,4-D ve 2 mg/l 6-BA ilave edilen B5 veya BDS ortamından elde edildiği ve bunu içerisinde 1 mg/l NAA ve 2 mg/l 2iP ilave edilen R rejenerasyon ortamının (1 mg/l NAA ve 2 mg/l 2iP eklenen BDS ortamı) izlediğini bildirmiştir. Ayrıca çeşitlerin ortam bileşimi isteklerinin de birbirinden farklı olduğu, embriyo veriminin büyük oranda genotipe bağlı olduğu da araştırmacı tarafından ifade edilmiştir. Araştırma sonucunda sadece bir genotipte %10 oranında embriyo gelişimi sağlanırken 9 genotipte gynogenezis oluşumun başarısız olduğu, 12 genotipte %0,2- 0,8 ve 8 genotipte %1,0- 4,3 oranında embriyo meydana geldiği tespit edilmiştir.

Bekheet (2004), ovaryum ve çiçek tomurcuğu kültürü ile Giza 6 çeşidinde haploid bitki oluşumu üzerine yaptığı çalışmada, her iki yöntem için de *in vitro*'da en yüksek farklılaşmanın 2 mg/l 2,4-D+ 1 mg/l kinetin içeren kültür ortamından elde edildiğini bildirmiştir. Kültür ortamına %6 sakkaroz ve 60 mg/l adenin sülfat ilavesinin çoğalma kapasitesi ve büyüme özelliklerini artırdığını; köklenme için kullanılan IBA ve NAA'nın 3 farklı konsantrasyonu arasında en yüksek kök oluşum oranı ve kök/sürgün sayısı değerlerinin 2 mg/l NAA içeren kültür ortamından elde edildiğini bildirmiştir. Yapılan kromozom sayımları ovaryumlardan meydana gelen bitkilerin %50'sinin; çiçek tomurcuklarından meydana gelen bitkilerin ise %33'ünün haploid olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Geoffriau vd. (2006), soğanda (*Allium cepa* L.) çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki oluşumu üzerine kültür ortamına farklı konsantrasyonlarda ilave edilen poliaminlerin (tyramin, spermidin, spermin) etkisini araştırmıştır. Araştırmada önce kültürde kullanılacak çiçek tomurcuklarının içsel poliamin miktarları belirlenmiş ve poliaminler besin ortamına farklı kombinasyonlarda (1×10^{-5} M, 5×10^{-4} M 2×10^{-3} M) eklenmiştir. İnokulasyon aşamasında gynogenezise en fazla tepki veren çeşitlerde, serbest ve bağlı spermidin seviyesinin yüksek; putresin, hidroksiputresin/spermidin, spermin oranının ise düşük olduğu tespit edilmiştir. *In vitro* kültür sırasında ise gynogenezis meydana getirme frekansı düşük çeşitlerde putresin ve türevlerinin seviyesinin yüksek olduğu, buna karşın gynogenezis kabiliyeti yüksek çeşitlerde spermin ve spermidin seviyesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kültür ortamına 2×10^{-3} M miktarında ilave edilen spemin (%5,4) ve spermidinin (%5,08) gynogenik embriyo oluşumunu önemli derecede artırdığı, poliaminlerin belirli dozlarının kültür ortamına eklenmesinin soğanda gynogenezis çalışmalarında başarı için kullanılabileceğini belirtilmiştir.

Ponce vd. (2006), Valcatorce INTA (Val), Cobriza INTA (Cob) ve Navideña INTA (Nav) soğan çeşitlerinde *in vitro* gynogenezis yoluyla embriyo rejenerasyonu ve haploid bitki verimini artırmak amacıyla kültür ortamına eklenen veya çiçek toplarına püskürtme ve enjeksiyon yolu ile CCC (0,1 g/l) uygulamasının etkisini araştırmıştır. Araştırma sonucunda, çiçek toplarına püskürtme yoluyla uygulanan CCC'in gynogenik embriyo oranını kontrole göre üç kattan daha fazla oranda artırdığı ve en yüksek

embriyo oluşumunun %4,76 ile Cobriza INTA çeşidinden elde edildiği ortaya konulmuştur. Putresin ise etkili olmamıştır.

Ebrahimi ve Zamani (2009), iki farklı İran soğan çeşidinde (Sefid-e Kurdistan, Sefid-e Neishabour) çiçek tomurcuğu kültürü ile gynogenezis uyartımı üzerine poliaminlerin (putresin ve spermidin) etkisini araştırmıştır. Çiçek tomurcukları önce BDS ve B5 temel besin ortamlarında 0.1 mM spermidin katılmış ve katılmamış ortamlara aktarılmıştır. En yüksek gynogenik embriyo oluşumu (%4,97) 0,01 mM BA, 0,01 mM 2,4-D, 2 mM putresin ve 0,1 mM spermidin katılmış kültür ortamından elde edilmiştir. Ayrıca, gynogenesis tepkinin çeşitler arasında farklılık gösterdiği; en yüksek gynogenik embriyo oluşumunun (%6,90) Sefid-e Kurdistan çeşidinde meydana geldiği, Sefid-e Neishabour çeşidinde ise bu oranın %3,33 olduğu bildirilmiştir. Yapılan ploidi analizleri Sefid-e Kurdistan çeşidinden elde edilen bitkilerin %72,2'sinin; Sefid-e Neishabour çeşidinde ise %75,0'nın haploid olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Forodi vd. (2009), *in vitro*'da gynogenik embriyo verimi ve bitki rejenerasyonu üzerine indüksiyon ortamında kullanılan spermidinin etkisini araştırmıştır. 3 uzun gün İran soğan popülasyonundan (Sefid-e-Yazd, Ghermez-e-Neysabor ve Sefid-e-Qom) alınan çiçek tomurcuklarının kullanıldığı araştırmada kültür ortamına 0,5 mM spermidine, 2 mg/l 2,4-D and 2 mg/l BAP ilave edilmesiyle, embriyo oluşumu ve bitki rejenerasyon oranının önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Ancak tek başına spermidin ilavesinin embriyo oluşumu üzerine engelleyici etkisinin olduğu da tespit edilmiştir. En yüksek rejenerasyon oranı (%1,9) Sefid-e-Qom çeşidinden elde edilmiştir. Araştırmada maksimum embriyo oluşumunun çiçek tomurcuklarının kültüre alınmasından sonraki 59-80 gün arasında meydana geldiği bildirilmiştir. Elde edilen embriyoların %40'ı bitkiye dönüşürken; rejenerantların %77,3'ünün haploid, %13,6'sının diploid olduğu tespit edilmiştir.

Bah vd. (2012), *Allium chinense*'de *in vitro*'da yumurtalık kültürü yoluyla sürgün gelişimi ve bitki oluşumu üzerine basit ve etkili bir protokol geliştirmek amacıyla yürüttüğü çalışmada, döllenen yumurtalıkları önce hormonsuz 30 g/l sakkaroz katılmış MS ortamında 3 gün süreyle kültüre almıştır. Ardından eksplantları steril şartlarda içerisinde 9,05 µM 2,4-D, 8,88 µM BAP ve 50 g/l sakkaroz içeren indüksiyon

ortamına (B5) aktarmıştır. İki hafta sonra kallus oluşturan ovaryumlar farklı dozlarda 2,4-D (4,52 ve 9,05 μM) ve BAP (0, 4,44 ve 8,88 μM) içeren B5 ortamına transfer edilmiştir. Bu ortamda bir hafta tutulan eksplantlar sürgün gelişiminin sağlanması için 0,44 μM BAP ve 10,74 μM NAA içeren D5 ortamına (modifiye B5 ortamı) aktarılmıştır. Sürgün çoğalmasını sağlamak amacıyla; 8,88 μM BAP ve 9,05 μM 2,4-D içeren ortamda iki hafta tutulan ve kallus oluşumu gözlenen ovaryumlar farklı BAP (17,76- 22,20 ve 26,64 μM) ve 0,44 μM BAP, 5,37 ve 10,74 μM NAA kombinasyonlarını içeren ortama transfer edilmiştir. 8 hafta sonra ovaryumların sürgün meydana getirme yüzdesi belirlenmiştir. En yüksek sürgün gelişiminin (%60,32) 10,74 μM NAA ve 0,44 μM BAP içeren B5 ortamında meydana geldiği tespit edilmiştir.

Kültür ortamında karbonhidrat kaynağı olarak kullanılan şeker, gynogenik embriyo verimini etkileyen önemli bir faktördür. Ortama %3'ün üzerinde şeker ilave edilmesi gynogenik embriyo verimini önemli ölçüde etkilemektedir (Keller ve Korzun 1996, Mukhambetzhanoğlu 1997, Reed 2005, Bohanec 2009, Chen vd. 2011). Kültür ortamına eklenen sakkarozun %10'luk dozunun %5 ve %15'lik dozlarına göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Muren 1989).

Souri vd. (2007), 6 İran ve 2 İtalyan soğan çeşidinde, *in vitro*'da farklı şeker (sakkaroz, glikoz ve fruktoz) kaynaklarının tomurcuk kültürü yoluyla haploid bitki oluşumu üzerine etkilerini araştırmıştır. Araştırmada, embriyogenesis, bitki rejenerasyonu, bitki canlılığı, camsılaşma ve embriyo oluşumu için gerekli süre değerlendirilmiştir. Farklı ortamlarda kültüre alınan toplam 4.758 çiçek tomurcuğundan 64 embriyo (%1,34) elde edilmiştir. En yüksek ve en düşük embriyo oluşum oranları glikoz ve fruktoz içeren kültür ortamlarından elde edilmiştir. En yüksek embriyogenesis oranı (%5,06) glikoz içeren ortamda kültüre alınan "Sefid- e- Naishabur" ve sakkaroz içeren ortamda kültüre alınan Eghlid- e- Fars (%4,51) çeşidinden elde edilirken; en yüksek bitki rejenerasyonu (%2,19) ve canlı bitki oranı (%63,89) ise Eghlid- e- Fars) çeşidinden elde edilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen bulgular fruktozun embriyogenesisi azalttığını, glikozun ise sakkaroz gibi kültür ortamında karbonhidrat kaynağı olarak başarıyla kullanılabileceğini ortaya çıkarmıştır.

2.3 Tomurcuk İriliği

Yumurta, yumurtalık veya çiçek tomurcuğu kültürlerinden başarı elde edebilmesi için gereken en önemli noktalardan birisi, yumurta veya yumurtalığın alındığı çiçek tomurcuğunun büyüklüğü, yani yumurtalığın fizyolojik olarak içinde bulunduğu gelişme dönemidir (Mukhambetzhanov 1997, Palmer ve Keller 2005, Reed, 2005, Chen vd. 2011, Murovec ve Bohanec 2012). Ancak inokulasyon zamanının belirlenebilmesi için ovul gelişim aşamasıyla ilgili kapsamlı çalışmalar yapılmamıştır. Çiçek tomurcuklarının veya polenlerin gelişme dönemi kültüre almada uygun zaman olarak kabul edilmektedir (Mukhambetzhanov 1997, Reed, 2005, Bohanec 2009, Chen vd. 2011). *Allium* türlerinde görülen protandry nedeniyle erkek ve dişi organlar farklı zamanlarda olgunlaşabilmektedir. Dolayısıyla gynogenezis çalışmalarında kültüre alınacak dişi organların gelişme safhasının polen gelişme safhasına göre belirlemek hatalı olabilmektedir. Bu nedenle embriyo keselerinin gelişme dönemlerinin belirlenmesi için gerekli mikroskopik analizlerin ve embriyolojik çalışmaların yapılması önem kazanmaktadır. Şekerpancarı, ayçiçeği ve çeltikte embriyo kesesinin gelişme dönemi yapılan çalışmalarla belirlenirken; soğanda ise sadece Musial vd. (2005)'in yaptıkları çalışmada, embriyo kesesinde 2- 4 çekirdek bulunduran orta boy çiçek tomurcuklarının gynogenezis meydana getirme frekansının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Mukhambetzhanov 1997, Bohanec 2009, Chen vd. 2011). Androgenezisin aksine gynogeneziste dişi gametofit inokulasyon aşamasında olgun değildir ve olgunlaşmasını *in vitro* kültür şartlarında devam ettirmektedir. Meydana gelen olgun embriyo keseleri haploid embriyoları oluşturacak; yumurta hücreleri, sinerjid ve antipotal hücreler gibi haploid hücrelere sahiptir (Murovec ve Bohanec 2012). Buna göre kültürde kullanılacak çiçek tomurcukları çiçeklenmeden 3- 5 gün önce, tomurcuklar açılmadan alınmalıdır (Geoffriau vd. 1997, Martinez vd. 1997, Judkevieiene vd. 2005, Sulistyaningsih vd. 2002-2006, Bah vd. 2012).

Polonya soğan çeşitlerinin kullanıldığı bir çalışmada 3,4- 4,5 mm çapındaki tomurcuklardan daha yüksek gynogenik embriyo sağlandığı bildirilmiştir (Michalic vd. 2003, Alan vd. 2004).

Musial vd. (2005), soğanda çiçek tomurcuğu büyüklüğünün *in vitro* gynogenezis ve embriyo gelişimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla çiçek tomurcuklarını çaplarına göre; küçük (2,3- 3,0 mm), orta (3,1- 3,7 mm) ve büyük (3,8- 4,4 mm) olmak üzere üç farklı gruba ayırmıştır. Araştırmada toplam 2.592 ovaryum kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, gynogenik embriyo oluşumunun tomurcuk büyüklüğüne göre farklılık gösterdiği ve en yüksek gynogenik embriyo oluşumun küçük ve orta boy tomurcuklardan sağlandığı ortaya çıkarılmıştır. Bunun yanı sıra; küçük çiçek tomurcuklarındaki yumurtalıkların %83'ünün megaspor ana hücrelerine sahip olduğu; %17'sinin ise iki çekirdekli embriyo kesesi meydana getirdiği tespit edilmiştir. Orta boy çiçek tomurcuklarında iki ve dört çekirdekli embriyo keseleri ile olgun embriyo keseleri sırasıyla %15, %46 ve %40 oranında olurken; büyük çiçek tomurcuklarında yalnızca olgun embriyo keselerinin meydana geldiği bildirilmiştir. İnokulasyonun 12. gününde olgun embriyo keseleri meydana gelmiştir. Kültürün 2. haftasından sonra gelişen embriyolar sadece olgun embriyo keselerinden meydana gelmiştir. Histolojik olarak incelenen ovullerin %5,4'ünde embriyo tespit edilmiş, ancak kültürün ilerleyen dönemlerinde (3- 5 ay sonra) embriyo sayısında artış (%12,4) olduğu bildirilmiştir.

2.4 Ana Bitkinin Yetiştirildiği Koşullar

Ana bitkinin yetiştirme koşulları gynogenezis üzerinde etkili olan önemli faktörlerden biridir (Javornik vd. 1998, Jakse vd. 2002, Ivchenko vd. 2005, Cho vd. 2006, Murovec ve Bohanec 2012). Ancak bu konudaki araştırma sayısı oldukça azdır. Ana bitkilerin olabildiğince kontrollü koşullarda yetiştirilmesine özen gösterilmelidir. Bu nedenle haploid bitki üretiminde kontrollü seralar kullanılmaktadır (Szulc vd. 2002).

Ana bitkilerin büyümesi esnasında maruz kaldıkları sıcaklığın gynogenik embriyo verimine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ana bitkiler 4, 14 ve 18°C olmak üzere farklı sıcaklık değerlerine sahip büyütme kabinlerinde yetiştirilmiştir. Araştırmada en yüksek gynogenik embriyo veriminin 14°C'de yetiştirilen bitkilerden alınan tomurcuklardan elde edildiği bildirilmiştir (Michalik vd. 2000).

Ivchenko vd. (2005), ana bitkinin yetiştirme koşullarının haploidi oluşumu üzerine etkilerini belirlemek amacıyla Khaltседon çeşidine ait başları sera ve arazi koşullarında

yetiştirmiştir. Bitki rejenerasyonunun kültürde kullanılan iek tomurcuklarının fizyolojik gelişme dönemine bağlı olarak değiştiğini, en yüksek rejenerasyon oranının (%2,30) iek topunun ilk halkasındaki tomurcuklardan izole edilen döllenmemiş ovaryumlardan elde edildiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde sera koşullarında yetiştirilen bitkilerden elde edilen gynogenik rejenerasyon oranının açık arazide yetiştirilenlerden daha yüksek olduğu da tespit edilmiştir (Szulc vd. 2002).

2.5 Tomurcuklara Yapılan n Uygulamalar

Sıcak veya soğuk şokları, beslenme noksanlıkları gibi stres uygulamaları gynogenezisi etkileyen önemli faktörlerdendir (Bohanec 2009, Chen vd. 2011). Gynogenezisin meydana gelmesi için dişi gametin gelişme yönünün gametofitik safhadan sporofitik safhaya geçişi stres koşullarının yokluğunda güçleşmektedir. n uygulamalar iek tomurcukları, tomurcuklardan izole edilmiş ovuller veya iek topları gibi farklı tip ve gelişme dönemlerindeki eksplantlara uygulanabilmektedir. n uygulamaların süresi, yöntemi ve etkisi de kullanılan eksplantlara göre farklılık göstermektedir (Chen vd. 2011). Ancak n uygulamalar ile ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Buğday ve şekerpancarında yapılan çalışmalarda soğuk uygulamalarının embriyogenezis üzerine olumlu etkisinin olduğu; bunun aksine hıyarda ise sıcaklık uygulamalarının teşvik edici etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ancak düşük ve yüksek sıcaklık uygulamalarının ve n büyütme ortamındaki besin elementi noksanlıklarının *in vitro* gynogenezis üzerine uyarıcı etkisinin olmadığı da bildirilmiştir (Bohanec 2009, Chen vd. 2011). Soğanda yapılan bir çalışmada 30°C sıcaklık n uygulamasının embriyo rejenerasyonunun baskılanmasına neden olduğu, soğuk uygulamalarının ise ya hiç etki etmediği ya da negatif etkilerinin olduğunu bildirmiştir (Keller ve Korzun 1996).

Keller (1990b), farklı *Allium* tür ve çeşitlerini kullandığı çalışmasında kültürden önce iek tomurcuklarına uygulanan düşük sıcaklığın özellikle pırasada engelleyici etkisinin olduğu, hibrit çeşitlerde ise hiçbir etkisinin olmadığını tespit etmiştir.

Puddephat vd. (1999), açık tozlanan ve hibrit çeşitler ile farklı ıslah hatlarının yer aldığı sekiz farklı soğan genotipinden açık arazi koşullarında elde ettikleri başları kış aylarında depoladıktan sonra Ocak ve Nisan ayları arasında dikmişlerdir. Bitkiler başlangıçta minimum 18°C sıcaklığa ve suni aydınlatmayla günde 14 saate çıkarılmış suni ışık altında yetiştirmişlerdir. Çiçeklenme döneminin başında bitkilerin bir kısmı 10°C ve 15°C sıcaklık ve doğal ışıklandırma şartları bulunan büyütme kabinlerine bir kısmı ise sera şartlarında çiçeklenmeye bırakılmıştır. 10°C’de büyüyen çiçek tomurcukları, çiçek tomurcukların açmasına yakın dönemde 15°C sıcaklığa sahip büyütme kabinine alınmıştır. Deneme sonucunda 15°C sıcaklıkta ön uygulamaya tabi tutulan bitkilerden alınan çiçek tomurcuklarının gynogenezise tepkilerinin sera şartlarında yetiştirilen veya 10°C sıcaklığa maruz bırakılan bitkilerden on kat daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Hassandokht ve Champion (2002), 6 İran ve 2 İtalyan soğan çeşidinde haploidi oluşumunda sıcaklığın etkilerini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada, kültürdeki tomurcuklara 17°C’lik sıcaklık uygulamasının haploidi oluşumu üzerine kısıtlayıcı etkisinin olduğunu ve ovulden diploid bitki meydana gelme oranını artırdığını bildirmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırma 2011-2012 yıllarında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne ait deneme alanında yürütülmüştür.

3.1 Materyal

3.1.1 Soğan materyali

Araştırmada bitkisel materyal olarak her iki deneme yılında da Bayram Tohumculuk firmasına ait Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerine ait başlar kullanılmıştır. Başlar her 2 yılda da Bayram Tohum Firması'ndan temin edilmiştir. Denemenin ikinci yılında ise bu çeşitlere ilave olarak gynogenik haploid soğan üretiminde tanık bitki olarak kullanılan 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinin tohumları çeşidi geliştiren Wisconsin Üniversitesi'nde görev yapan Prof. Dr. Michael J. Havey'den temin edilmiştir. Bu tohumların ekilmesi ile elde edilen başlar denemenin 2. yılında kullanılmıştır (Şekil 3.1). Soğan çeşitlerinin özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Bayram 1: Kahverengi kabuklu, baş şekli yuvarlak, et rengi beyaz, açıkta tozlanan uzun gün çeşididir. Dekara verimi ortalama 8-10 ton'dur.

Yakut: Kabuk rengi kırmızı, et rengi pembe ve yuvarlak-uzun baş şekline sahip uzun gün çeşididir. Dekara verimi 4-7 ton'dur (Anonim 2013c).

301-OH-SXN-1: Haploidi meydana getirme frekansı ortalama %12 olan ve gynogenik haploid soğan üretiminde kontrol olarak kullanılan, sarı baş rengine sahip uzun gün sentetik soğan çeşididir. (Havey ve Bohanec 2007).



Şekil 3.1 Deneme kullanılan soğan çeşitleri

3.1.2 Tunceli sarımsağı

Ülkemizde Tunceli sarımsağı olarak bilinen ve ülkemizin endemik türleri arasında yer alan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar kullanılmıştır. Denemenin ilk yılında A.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Sebzeçilik Araştırma ve Uygulama Bahçesi'ne dikilmek üzere Tunceli ilinden temin edilen *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait 48 adet baş kullanılmıştır. 2. yıl denemelerinde ise 620 adet baş üretim parseline dikilmek üzere yine Tunceli ilinden getirtilmiştir. *Allium tuncelianum*'a ait başlar şekil 3.2.'de görülmektedir. *Allium tuncelianum*'un baş ve bitki özellikleri de aşağıda belirtilmiştir.

Allium tuncelianum (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci): tek dişli, 1-2 adet kabuğu ve kabukların arasında küçük diş benzeri oluşumlar bulunduran *Allium tuncelianum* kültür sarımsağı aromasına sahip, çiçeklenip tohum verebilen endemik bir türdür (Yanmaz ve Ermiş 2005).



Şekil 3.2 *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar

3.2 Yöntem

3.2.1 Soğan çalışmaları

3.2.1.1 Dikim zamanının gynogenik embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi

Dikim yerinin hazırlanması: Ana bitkilerin yetiştirildiği parsel, sonbaharda derin ilkbaharda ise çapa motoru ile yüzlek olarak işlenmiştir. Bitkilerin sulanmasında damla sulama sisteminden yararlanılmıştır. Denemenin 2. yılında ana bitkilerin gelişimini teşvik etmek amacıyla 350- 400 g/da katı gübre (Novachem 18-18-18+ME) damlama sulama suyuna karıştırılarak verilmiştir.

1.Yıl:

Soğan başlarının dikim tarihinin haploid embriyo oluşumuna etkisini belirlemek amacıyla denemenin birinci yılında (2011) Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinin her birinden 100'er adet tohumluk baş, A.Ü.Z.F Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Sebzeçilik

Araştırma ve Uygulama Bahçesi'nde hazırlanan parselde 50x50 cm sıra arası ve üzeri mesafelerle dikilmiştir. Dikim zamanı olarak 20 Nisan, 1 Mayıs ve 10 Mayıs tarihinde olmak üzere üç dönemde dikim yapılması planlanmış, ancak bu dikim zamanlarına denk gelen dönemdeki aşırı yağışlar nedeniyle dikimler sadece 3 ve 17 Mayıs tarihlerinde yapılabilmektedir. Dikim sonrasında arazide gelişen soğan bitkileri şekil 3.3- 3.4'de görülmektedir.



Şekil 3.3 Birinci deneme yılında I. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 46 gün sonraki gelişme durumları



Şekil 3.4 Birinci deneme yılında II. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 32 gün sonraki gelişme durumları

Wisconsin Üniversitesi'nden temin edilen 301-OH-SXN-1 soğan çeşidine ait tohumlar 30.03.2011 tarihinde Kilis 7 Aralık Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne ait deneme alanında hazırlanan parsele ekilmiş ve başlar elde edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 301-OH-SXN-1 soğan çeşidine ait bitkilerin arazideki görünümü

2. Yıl:

İkinci deneme yılında; Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerine ait başlar sıra üzeri 30 cm, sıra arası 50 cm mesafede ve 3 farklı dikim zamanında (Çizelge 3.1) A.Ü.Z.F Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Sebzeçilik Araştırma ve Uygulama Bahçesi'nde hazırlanan parsele dikilmiştir (Şekil 3.6-3.8). Ancak 301-OH-SXN-1 çeşidinden elde edilen başların az sayıda olması nedeniyle tek dikim zamanı kullanılmıştır. 2. Yıl denemelerinde dikilen baş sayısı artırılmış, dikim zamanlarına göre dikilen baş sayısı çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Denemenin ikinci yılında kullanılan soğan başlarının dikim zamanları ve dikilen baş sayıları

Soğan çeşidi	Dikim zamanı			Baş sayısı
	1.dikim	2.dikim	3.dikim	
Bayram 1	27.03.2012	24.04.2012	14.05.2012	310/167/173
Yakut	27.03.2012	24.04.2012	14.05.2012	344/177/186
301-OH-SXN-1	01.11.2012			32



Şekil 3.6 İkinci deneme yılında I. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 76 gün sonraki gelişme durumları



Şekil 3.7 İkinci deneme yılında II. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 49 gün sonraki gelişme durumları



Şekil 3.8 İkinci deneme yılında III. Dikim dönemindeki bitkilerin dikimden 29 gün sonraki gelişme durumu

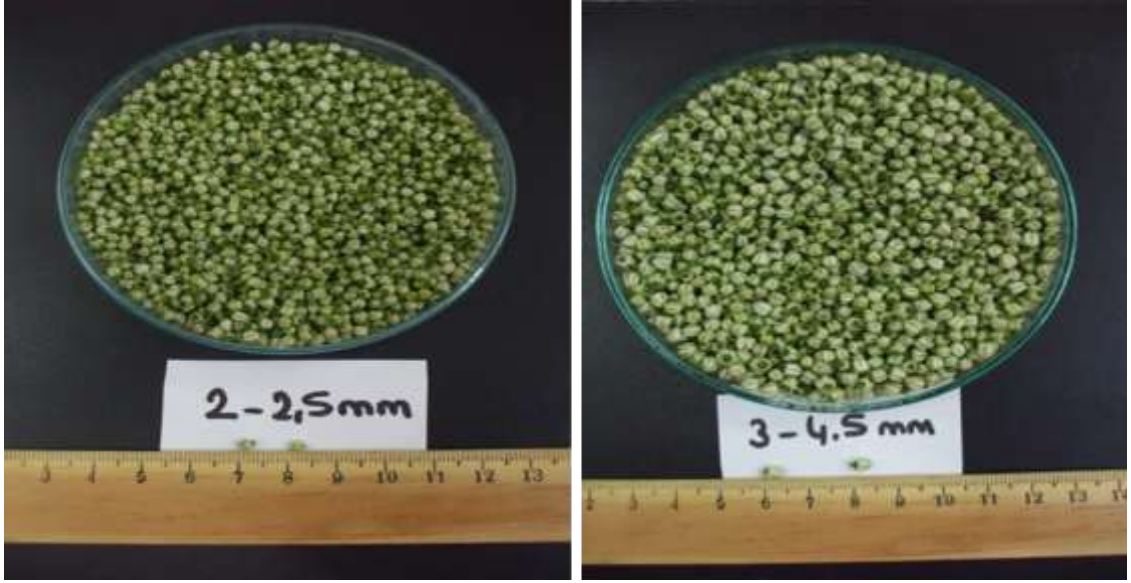
3.2.1.2 Tomurcuk iriliğinin haploid embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi

Soğanlarda gynogenezis yoluyla haploid bitki elde edilmesinde tomurcuk iriliği etkili olan faktörlerden biridir. Araştırmada, daha önce yapılan araştırma sonuçları dikkate alınarak (Alan 2003,2004) 3 farklı tomurcuk iriliği denemeye alınmıştır. *In vitro* dikim aşamasına gelmiş çiçek tomurcukları (Şekil 3.9), çiçek toplarından alındıktan sonra çaplarına göre küçük (<2- 2,5 mm), orta (3- 4,5 mm) ve büyük (> 4,5 mm) olmak üzere üç farklı gruba ayrılmıştır.



Şekil 3.9 *In vitro* dikim aşamasına gelmiş çiçek topları ve çiçek tomurcukları

Ancak denemenin ilk yılında her 2 çeşitte de büyük boy (>4,5 mm) çiçek tomurcuğu elde edilememiştir. Şekil 3.10'da iriliklerine göre sınıflandırılmış tomurcuklar görülmektedir.



Şekil 3.10 Denemenin birinci yılında kullanılan soğan çeşitlerine ait farklı irilikteki çiçek tomurcukları

Denemenin 2. yılında ise 2 soğan çeşidinde (Yakut ve Bayram 1) her 3 irilik sınıfına giren tomurcuk gelişimi sağlanmıştır. Tomurcuk iriliği çalışmalarına denemenin 2. yılında giren 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde gerek baş sayısının gerekse çiçeklenen bitki sayısının yeterli olmaması nedeniyle orta boy (3- 4,5 mm) çiçek tomurcukları kültüre alınabilmiştir (Şekil 3.11- 3.12).



Şekil 3.11 Denemenin ikinci yılında kullanılan soğan çeşitlerine ait farklı irilikteki çiçek tomurcukları



Şekil 3.12 301-OH-SXN-1'e ait orta boy çiçek tomurcukları

3.2.1.3 Besin ortamının hazırlanması ve ortam bileşiminin haploid bitki elde edilmesine etkisi

Gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etme çalışmalarında ön kültür, alt kültür, büyüme ortamı ve rejenerasyon ortamı olmak üzere farklı ortam bileşimleri kullanılmaktadır (Yaralı ve Yanmaz 2013). Araştırmada ön kültür ortamında farklı oksin-sitokinin kombinasyonları etkisi denenmiştir.

Ön kültür (indüksiyon) ortamı:

Ön kültür ortamı olarak soğanda *in vitro* gynogenik embriyo uyartımında başarılı sonuçlar veren BDS (Dunstan ve Short 1997) ortamı kullanılmıştır (Keller 1990a, Champion vd. 1992, Jakse vd. 1996, Bohanec ve Jakse 1999, Puddephat vd. 1999, Alan vd. 2003-2004, Musial vd. 2005, Cho vd. 2006). Çizelge 3.2'de BDS besin ortamının bileşimi verilmiştir. BDS ortamında ilk yıl 2,4-D ve BAP'ın 2 şer dozu (1 ve 2 mg/l) ve

bunların kombinasyonları denenmiştir. İlk yıl sonuçları dikkate alınarak 2. yılda 2,4-D'nin 2mg/l'lik dozu ile BAP'ın 1 ve 2 mg/l'lik dozu kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 Tomurcuk ve yumurtalık kültüründe kullanılan BDS ortamının bileşimi

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

Ön kültür ortamında gelişen eksplantlar 6- 7 hafta sonra alt kültür (B₁) ortamına transfer edilmiştir (Alan vd. 2003). B₁ ortamının bileşimi çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3 B₁ ortamının bileşimi

Kimyasal madde	Miktar (mg/l)
MS makro elementler (10x)	
KNO ₃	19000
NH ₄ NO ₃	16500
CaCl ₂ .2H ₂ O	4400
MgSO ₄ .7H ₂ O	3700
KH ₂ PO ₄	1700
MS mikro elementler (100x)	
H ₃ BO ₃	620
MnSO ₄ .5H ₂ O	2300
ZnSO ₄ .7H ₂ O	86
KI	8
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5
CuSO ₄ .5H ₂ O	2,5
Fe EDTA (200x)	
FeSO ₄ .7H ₂ O	5560
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	7460
NH ₂ PO ₄	250
Vitaminler	
MS thiamine-HCl	2
MS myo-inositol	500
Pyridoxine-HCl	1
Nikotinik asit	1
Capanthothenate	1
L-proline	200
Glycine	0,2
Biotin	0,01
Folik asit	1
Jelleşme ajanı (g/l)	
Agar (phytagar)	7,2
pH	6,0

Alt kültür (B₁) ortamında gelişen *in vitro* bitkicikler büyüme ortamına (EM) aktarılmıştır (Jakse vd. 2003). Büyüme ortamının bileşimi çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4 Büyüme ortamının (EM) bileşimi

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

Büyüme ortamında gelişen ve 3-4 gerçek yaprağa sahip olan bitkilerde ploidi seviyesi belirlenmiştir. Haploid olduğu belirlenen bitkilerde kromozom katlanmasını sağlamak amacıyla sıvı M4 ortamı kullanılmış, kromozom katlaması yapılan eksplantlar bitki rejenerasyonunun sağlanması amacıyla katı M4 ortamına dikilmiştir. M4 ortamının bileşimi çizelge 3.5’de görülmektedir (Campion vd. 1995).

Çizelge 3.5 Kromozom katlaması ve kromozom katlaması yapılmış eksplantlarda sürgün ve kök gelişimini sağlamak için kullanılan rejenerasyon ortamının (M4) bileşimi

Kimyasal madde	Miktar (mg/l)
BDS makro elementler (10x)	
NH ₄ H ₂ PO ₄	2300
CaCl ₂ .2H ₂ O	1500
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	1500
KNO ₃	25300
MgSO ₄ .7H ₂ O	2470
(NH ₄) ₂ SO ₄	1340
NH ₄ NO ₃	3202
BDS mikro elementler (100x)	
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,5
CuSO ₄ .5H ₂ O	3,9
KI	75
MnSO ₄ .5H ₂ O	1320
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	200
Vitaminler	
MS thiamine-HCl	2
MS myo-inositol	500
Pyridoxine-HCl	1
Nikotinik asit	1
Capantothenate	1
Karbonhidrat ve jelleşme ajanı (g/l)	
Agar (phytagar)	7,2
Sakkaroz	40
pH	5,9

Besin ortamlarına karbonhidrat kaynağı olarak ilk yıl, soğanda yapılan *in vitro* haplodi çalışmalarında embriyo verimini artırdığı belirtilen sakkarozun %5 ve %10'luk dozları kullanılmıştır (Muren 1989, Campion vd. 1992, Jakse vd. 1996, Bohanec ve Jakse 1999, Judkevieiene vd. 2005, Musial vd. 2005). Denemenin ikinci yılında ise ilk yıl denemelerinde eksplant gelişme durumu dikkate alınarak %5'lik şeker dozu kullanılmıştır.

Ön kültür ortamına 7,2 g/l oranında agar (phytagar- Merck) ilave edilerek ortam pH'sı 6.0 olarak ayarlanmıştır (Bohanec ve Jakse 1999, George vd. 2008). Ortamlar 121°C'de 20 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiş ve 7 cm çapındaki petrilere her petriye 20 ml olacak şekilde doldurulmuştur.

3.2.1.4 Kültür yönteminin haploid bitki oluşumuna etkisinin belirlenmesi

Allium türlerinde gynogenik embriyo uyartımında kültüre alma yönteminin etkisi yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. Gynogenezis yoluyla haploid embriyo elde edilmesinde kullanılan 2 ana yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler tomurcuk ve yumurtalık kültürü yöntemleridir. Denemede her 2 yöntem de kullanılmıştır. Her iki yöntemde de çiÇeklenmeden 3-5 gün önceki aşamadaki çiÇek tomurcuklarını taşıyan çiÇek topları sabahın erken saatinde saplı olarak kesilmiş ve laboratuvara getirilmiştir.



Şekil 3.13 Suda bekletilen çiÇek topları ve bu çiÇek toparından alınarak kültürde kullanılan çiÇek tomurcukları

Denemenin ikinci yılında tomurcuk gelişiminin yoğun olduğu günlerde çiÇek tomurcuklarının gelişimini yavaŐlatmak amacıyla çiÇek tomurcukları aÇılmadan 5 gün önce ana bitkiden alınan çiÇek topları laboratuvarında vazolara konmuş ve çiÇek tomurcukları bu çiÇek toparından alınmıştır.

AŐılmamıŐ çiÇek tomurcukları bir kenara ayrılmıŐ ve iriliklerine göre sınıflandırılmıŐtır. Sınıflandırılan tomurcuklar iÇine % 70'lik etanol zltisi iÇinde 3 dakika bekletilmiş ve szlmŐtr. Szlen tomurcuklar %15'lik clorox zltisi (%0,9 sodyum hipoklorit+%0,1 tween-20) iÇerisinde 30 dakika tutulmuştur. Daha sonra steril kabinde

3 defa çift distile su ile yıkanarak sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Alan vd. 2003). Şekil 3.14’de tomurcukların alınması ve sterilizasyonu görülmektedir.



Şekil 3.14 Soğanlarda çiçek tomurcuklarının sterilizasyon aşamaları

a. Çiçeklenme aşamasındaki tomurcuklar, b. Çiçek tomurcuklarının %70’lik etanol içerisinde 3 dakika tutulması, c. Çiçek tomurcuklarının %15’lik clorox çözeltisinde 30 dakika tutulması, d, e, f. Çiçek tomurcuklarının çift distile su ile yıkanması, çalkalanması ve süzülmesi, g. Sterilize edilen çiçek tomurcuklarından kalan suyun kurutma kağıdı yardımıyla uzaklaştırılması

Çiçek tomurcuğu kültürü:

Sterilizasyon işlemi tamamlanan tomurcuklar steril kabin içinde çiçek sapları kesildikten sonra besin ortamı konulmuş petri kutularına, her birinde 25'er adet tomurcuk olacak şekilde dikilmiştir (Şekil 3.15). Daha sonra petri kapları hava almayacak şekilde streç film ile sarılmış ve 25°C'de 16/8 saat gün uzunluğuna ayarlanmış iklim odasında kültüre alınmıştır. İlk deneme yılında Bayram 1 soğan çeşidinde 7500, Yakut soğan çeşidinde 15000 çiçek tomurcuğu; 2. deneme yılında Bayram 1 ve Yakut çeşidinden 10125'er, 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinden ise 1125 tomurcuk ön kültür ortamına dikilmiştir.



Şekil 3.15 Çiçek tomurcuklarının tomurcuk kültürü yöntemi ile ön kültür ortamına dikilmesi

a. çiçek tomurcuklarının çiçek saplarının kesilmesi, b. Çiçek tomurcuklarının besin ortamına dikilmesi

Yumurtalık (ovaryum) kültürü: Yukarıda belirtilen şekilde alınan ve sterilize edilen çiçek tomurcukları şekil 3.16'da görüldüğü gibi steril kabin içinde bir bistüri yardımıyla çanak ve taç yaprakları kesilerek yumurtalık izole edilmiştir Daha sonra izole edilen yumurtalıklar besin ortamı konulmuş petrilere, her birinde 25'er adet yumurtalık olacak şekilde dikilmiştir (Keller 1990a, Campion vd. 1992, Martinez vd. 1997). Denemenin ilk yılında Yakut soğan çeşidinde 15000 Bayram 1 soğan çeşidinde ise 7500 yumurtalık ön kültür ortamında kültüre alınmıştır.



Şekil 3.16 Yumurtalık kültürünün aşamaları

- a. Çiçek tomurcuklarının bisturi yardımıyla açılması,
- b. Yumurtalığın çiçek tomurcuğundan çıkarılması,
- c. Çiçek tomurcuğundan izole edilen yumurtalığın besin ortamına dikilmesi

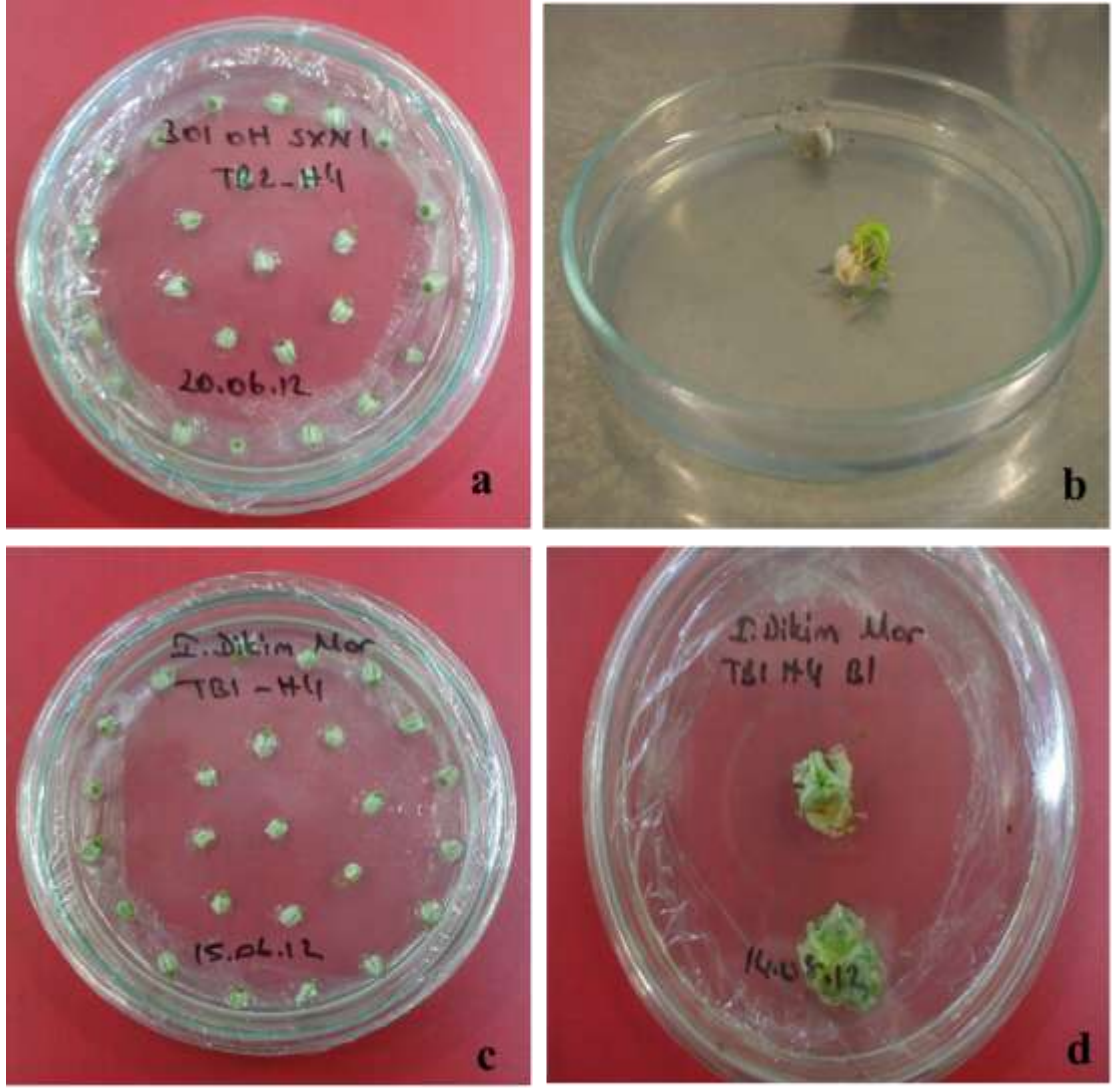
Şekil 3.17’de çiçek tomurcuğu ve yumurtalık kültürü yoluyla besin ortamına dikilen eksplantlar görülmektedir.



Şekil 3.17 Bayram 1 soğan çeşidinde ön kültür ortamına dikimi yapılan
a. Çiçek tomurcukları, b. Yumurtalıklar

3.2.2 Eksplantların alt kültür ortamına (B₁) transfer edilmesi

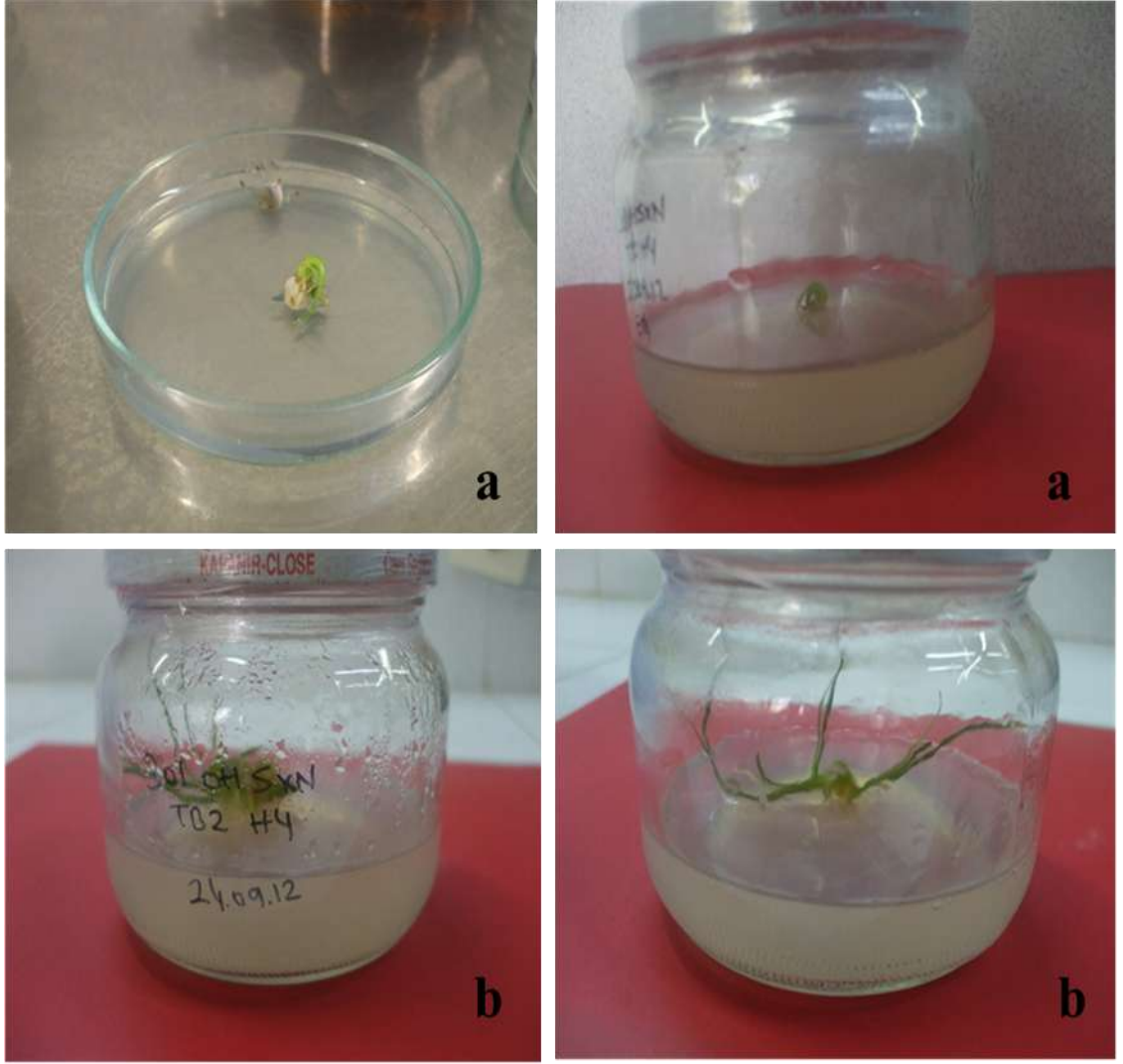
Ön kültür ortamında gelişen soğan çeşitlerine ait eksplantlar dikimden 6-7 hafta sonra 100 g/l sakkaroz, 1 mg/l NAA (Naphthalene acetic acid) ve 2 mg/l 2iP (Isopentenyl adenine) içeren B₁ kültür ortamına transfer edilmiştir (Şekil 3.18) (Alan vd. 2003).



Şekil 3.18.a.Ön kültür ortamına dikimi yapılmış 301-OH-SXN-1 çeşidine ait tomurcuklar, b. B₁ ortamında gelişmekte olan 301-OH-SXN-1 çeşidine ait tomurcuklar (69. gün), c. Ön kültür ortamına dikimi yapılmış Yakut soğan çeşidine ait tomurcuklar, d. B₁ ortamında gelişmekte olan Yakut soğan çeşidine ait tomurcuklar (61.gün)

3.2.3 Gelişen bitkiciklerin büyüme ortamına (EM) transfer edilmesi

B₁ ortamında gelişen *in vitro* bitkicikler büyüme ortamına transfer edilmiştir. Bu amaçla Alan vd. 2003, Jakse vd. 2003 tarafından önerilen ve içeriği çizelge 3.4’de verilen EM besin ortamı kullanılmıştır (Şekil 3.19).



Şekil 3.19.a.Büyüme ortamına aktarılan *in vitro* bitkicikler, b. Büyüme ortamında gelişmesini sürdüren bitkiler (98. Gün)

3.2.3 Yapılan ölçüm ve değerlendirmeler

3.2.3.1 Eksplant gelişim aşamalarının belirlenmesi

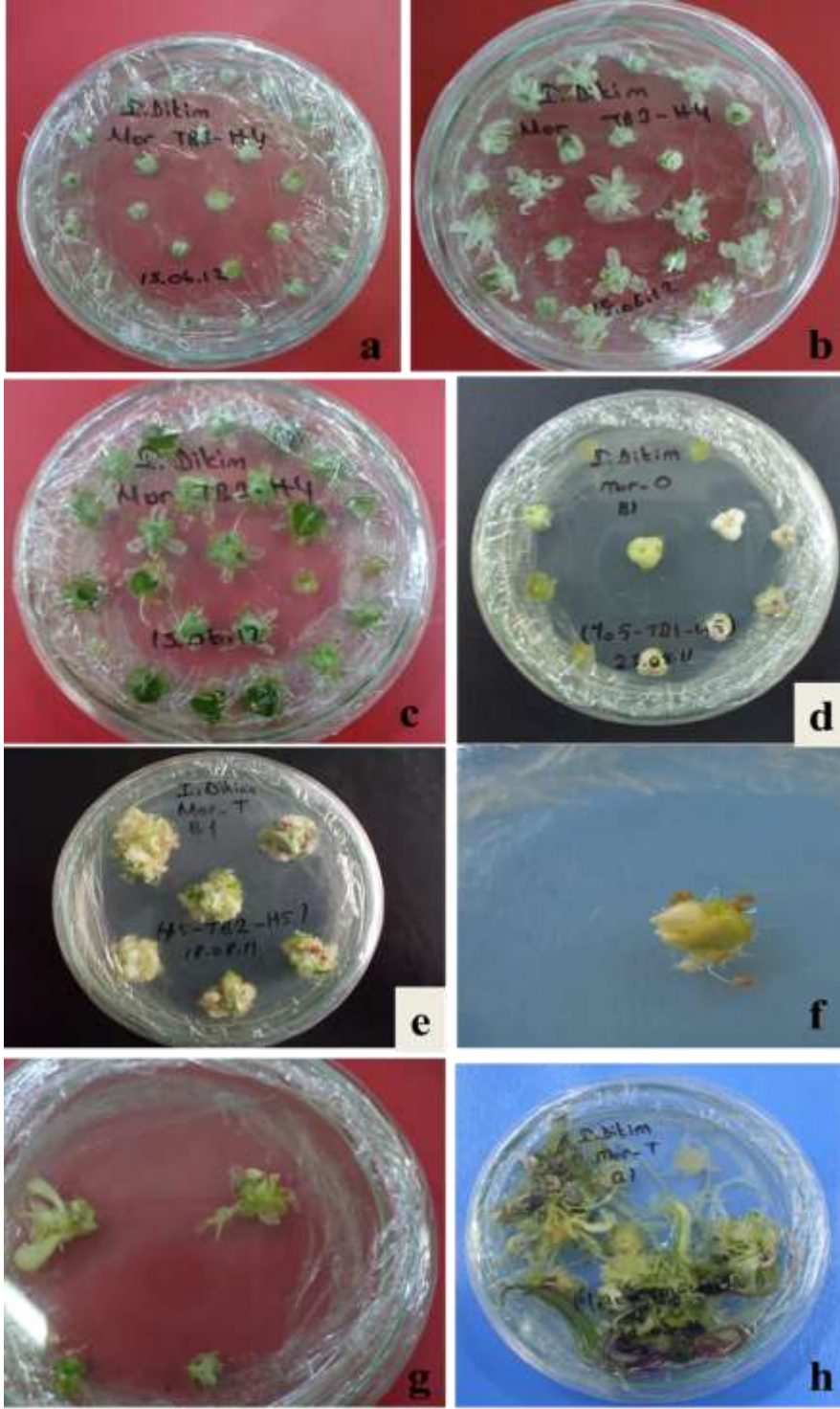
Ön kültür ortamına alınan eksplantlarda (tomurcuk ve yumurtalık kültürlerinde) dikimden 1 hafta sonra gözlem ve ölçüm çalışmaları başlamıştır. Kültürlerde aşağıda belirtilen gelişme aşamaları değerlendirilmiş ve bu değerler sayısal olarak belirlenmiştir. Şekil 3.20’de farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar görülmektedir.

Şişme: Dikim sonrası tomurcuk ve yumurtalıklarda büyümeye bağlı hacim artışı şişme olarak kabul edilmiştir. Değerlendirme gözlem şeklinde yapılmıştır.

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

Sürgün oluşturma: Eksplantlardan sürgün gelişimi yumurtalığın içinden çıkan veya kallustan sürgüne dönüşme şeklinde değerlendirilmiştir.

Kök oluşturma: Eksplantlardan kök oluşturanlar sayı ve % olarak belirlenmiştir.

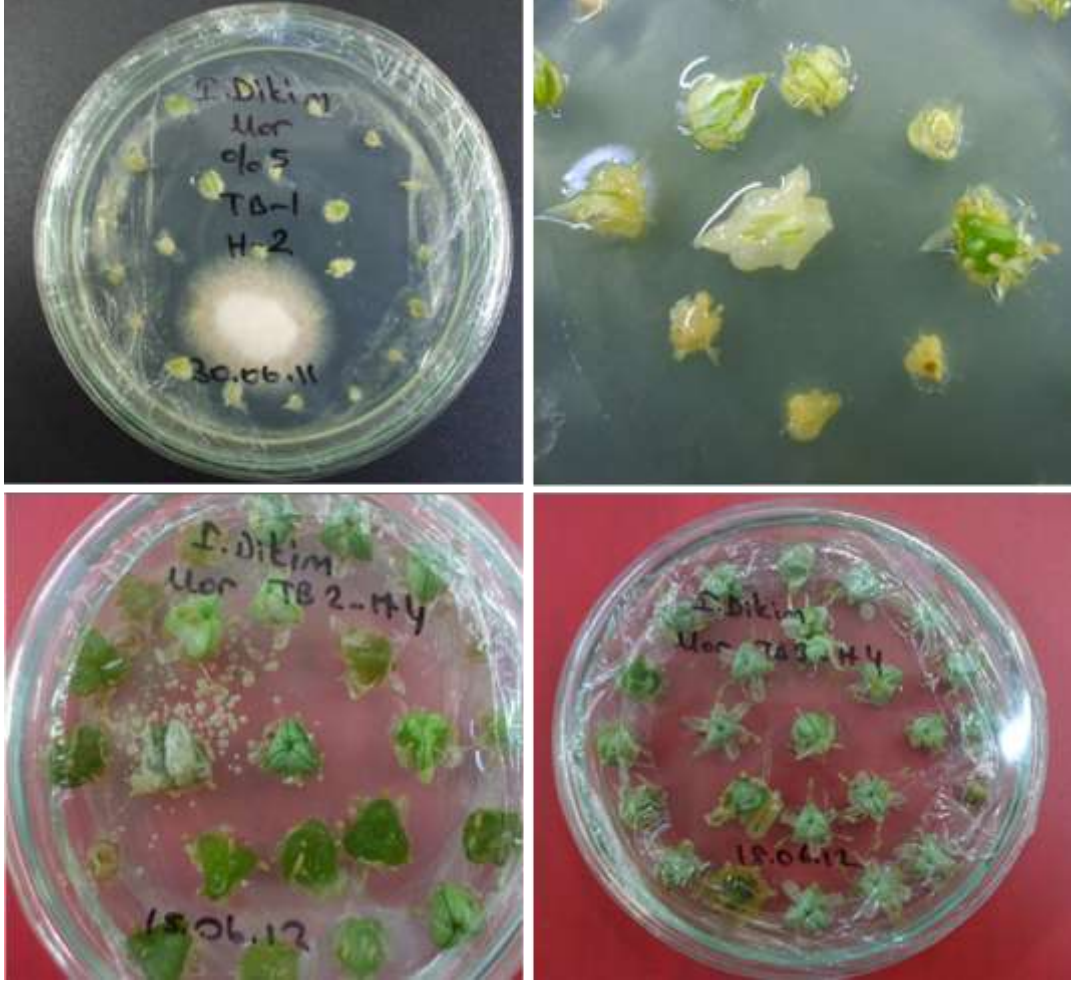


Şekil 3.20 Kültür ortamındaki farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar

a. Ön kültür ortamına yeni alınmış tomurcuklar, b. Ön kültür ortamında tomurcukların açılması, c. Ön kültür ortamında tomurcukların şişmesi d. Ön kültür ortamında yumurtalığın şişmesi, e. Dip kısımdan kallus oluşumu, f. Sürgün gelişimi, g. Kök gelişimi, h. Hem kök hem sürgün oluşumu

3.2.3.2 Camsılaşan ve enfeksiyonlu eksplant sayısının belirlenmesi

Dikim sonrası soğan eksplantlarında camsılaşma ve enfeksiyon nedeniyle yaşanan kayıplar sayı ve oran olarak belirlenmiştir (şekil 3.21).



şekil 3.21 Yumurtalık ve tomurcuklarda camsılaşma ve mantari, bakteriyel ve tripslerden kaynaklanan enfeksiyonlar

3.2.3.3 Ploidi seviyesinin belirlenmesi

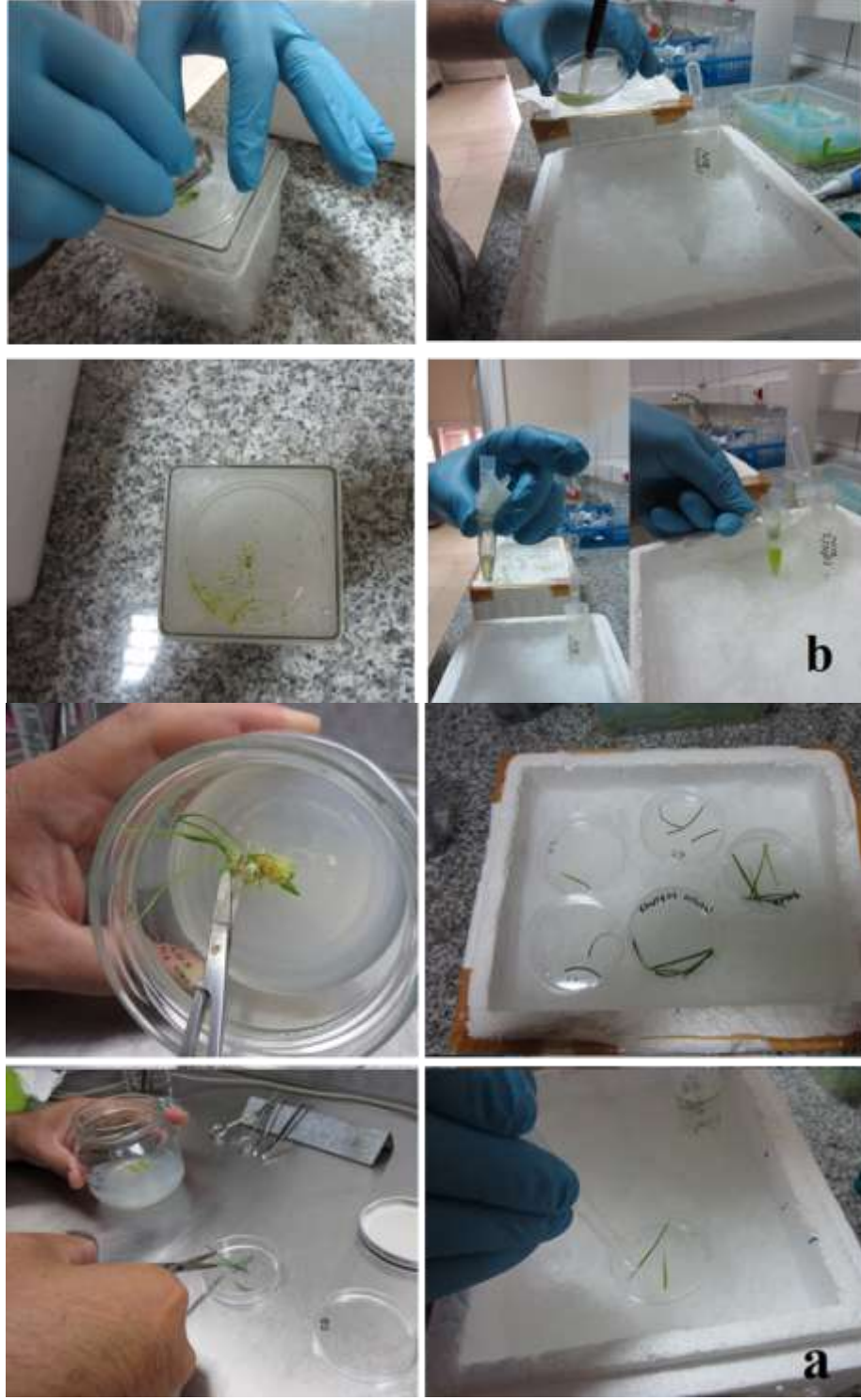
Denemede elde edilen bitkiciklerin gelişimi izlenmiş ve üç-dört yapraklı aşamaya gelen bitkilerin DNA miktarları ve ploidi seviyeleri Pamukkale Üniversitesi Bitki Genetiği ve Tarımsal Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait laboratuvarda flow sitometri (Beckman Coulter Cell Lab Quanta SC Flow cytometer) yardımıyla

belirlenmiştir. Flow sitometri ile yapılacak ölçümlerde kullanılmak üzere petri kabının içerisine ölçümleri yapılacak *A. cepa* bitkisinin ve kontrol olarak kullanılan yulaf (*Avena sativa* L.) bitkisinin taze sürgünlerinden yaklaşık 50 g (6-8 cm) kadar örnek alınmıştır. Örneklerin üzerine 1,5 ml çekirdek izolasyon tamponu (NIB) ilave edilmiştir. Analiz için kullanılan NIB izolasyon çözeltisinin içeriği çizelge 3.6’da verilmiştir. NIB içinde bulunan dokular jilet yardımı ile çok ince olarak kıyılarak homojenize edildikten sonra 37 µm’lik porlara sahip naylon filtreden geçirilerek 2 ml’lik tüplere aktarılmıştır. Bu işlemin ardından tüpteki özütler 10.000 devir hızda 5 saniye santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminden sonra tüpün kaidesinde yapışmış olan DNA’nın üzerinde kalan tüm sıvı dökülmüş ve 500 µl NIB eklenerek tüpler vortekslemiştir. Ardından tüplere 10 µl propidium iodide (PI) stok çözeltisi (1 mg/ml) ilave edilerek tekrar vorteksleme işlemi yapılmıştır. Bu işlemin ardından örnekler örnek kaplarına konmuş ve DNA miktarları flow sitometri ile ölçülmüştür. Flow sitometri ile ölçüm sonucu ortaya çıkan pikler Arumuganathan ve Earle (1991)’e göre “Örneğin nükleer DNA miktarı = (Örnek *A. cepa* bitkisinden çıkan floresan değeri/ *Avena sativa* ’nın floresan değeri) X 23,45 pg (kontrol olarak kullanılan *Avena sativa* ’nın DNA miktarı)” şeklinde hesaplanarak örneklerin DNA miktarları ve ploidi seviyeleri belirlenmiştir (Alan vd. 2003). Flow sitometri ile yapılan ploidi analizi aşamaları şekil 3.22-3.23’de verilmiştir.

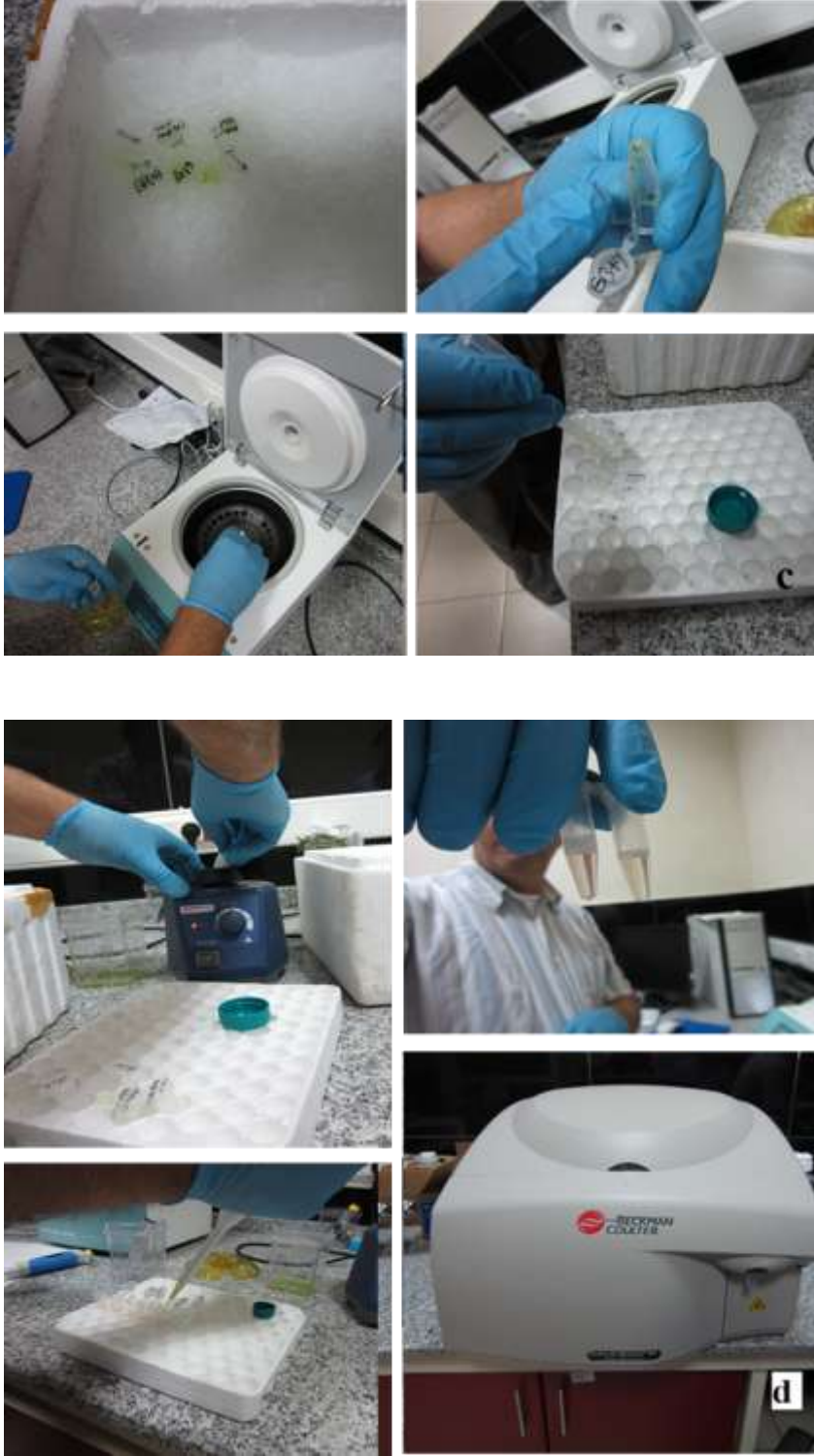
Çizelge 3.6 Çekirdek izolasyon tamponu (NIB)*

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

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



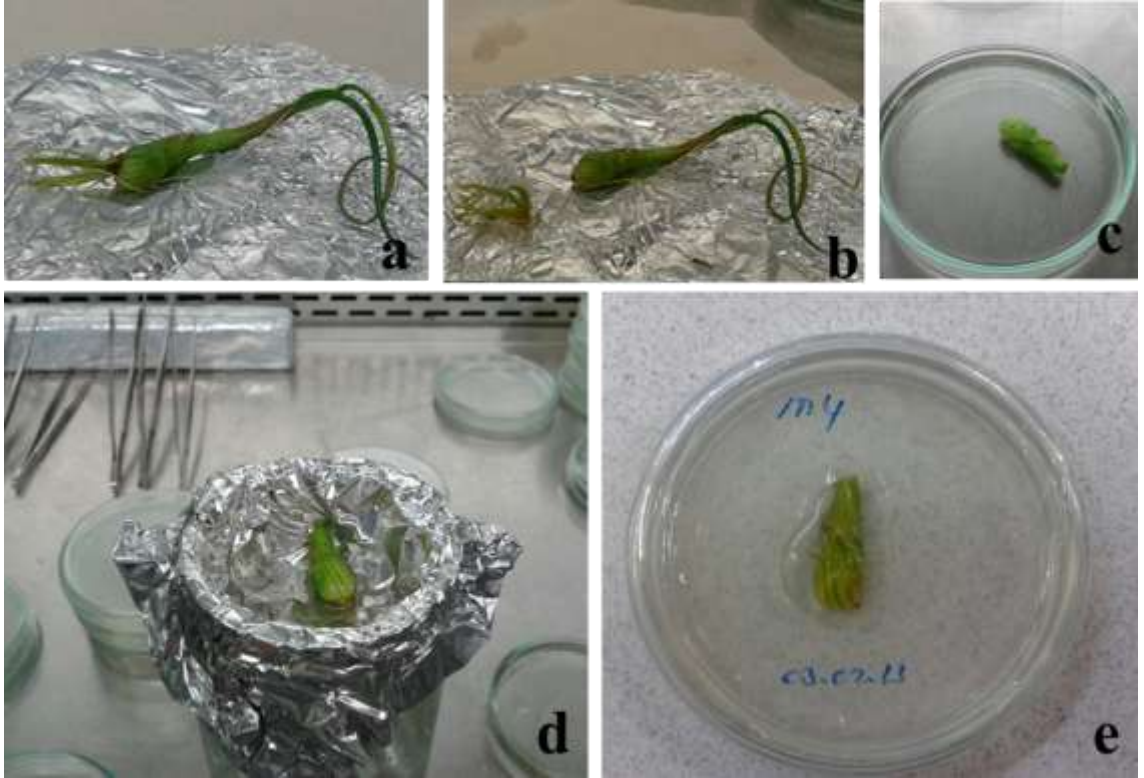
Şekil 3.22.a.Örneklerin alınması ve örneklere izolasyon çözeltisinin eklenmesi,
b.İzolasyon çözeltisi damlatılan örneklerin kesilmesi ve süzülmesi



Şekil 3.23. c. Örneklerin sentrifürlenmesi ve sentrifürlenmiş örnekler izolasyon çözeltisinin eklenmesi, d. İzolasyon çözeltisi eklenen örneklerin vortekslenmesi ve flow sitometri ile ploidi seviyesinin belirlenmesi

3.2.3.4 Haploid bitkilerde kromozom sayısının katlanması (dihaploidleştirme)

Kromozom sayımı ile haploid olduğu belirlenen bitkilerde kromozom katlamasını sağlamak amacıyla 2-4 aylık haploid bitkilerin kökleri tıraşlanarak alt kısımdan itibaren yaklaşık 15 mm uzunluğunda olacak şekilde yaprak uçları kesilmiştir. Bazal eksplantlar 200 mg/l kolhisin içeren sıvı M4 ortamında 48 saat süreyle tutulmuştur. Bu işlemin ardından steril koşullarda 3 defa steril sudan geçirilen örnekler, sürgün ve kök gelişiminin sağlanması amacıyla 20 ml katı M4 ortamı içeren petrilere aktarılmıştır (Alan vd. 2004). (Şekil 3.24). M4 ortamına aktarılan eksplantlar burada gelişerek bitkiye dönüşmüştür (Şekil 3.25).



Şekil 3.24 Haploid bitkilerde kromozom katlama işlemi aşamaları

a.Kromozom katlaması yapılacak *in vitro* bitkicik, b. Köklerin tıraşlanması, c. Sürgünleri kesilerek hazırlanmış ve katlama ortamına yerleştirilmiş eksplant, d. Katlama işleminin ardından distile sudan geçirilen eksplant, e.Kök ve sürgün rejenerasyonunun sağlanması amacıyla katı M4 ortamına dikilen eksplant



Şekil 3.25 Rejenerasyon ortamında gelişen eksplantların bitkiye dönüşümü

3.2.3.5 Bitkilerin dış ortam koşullarına alıştırılması

Kromozom katlama işleminin ardından M4 ortamına aktarılan 3-4 gerçek yapraklı bitkiler plastik saksılara dikilmiştir. Nem kaybını engellemek amacıyla plastik örtü ile kaplanan saksılarda havalanmayı sağlamak amacıyla örtüler birkaç yerinden delinmiş ve büyütme odasına (20°C , 13 saat aydınlık 11 saat karanlık ve nem kontrollü) transfer edilmiştir. Burada yaklaşık iki hafta kalan saksıların üzerinden plastik örtüler tamamen uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.26) (Alan vd. 2003,2004).



Şekil 3.26 Rejenerasyon ortamında (M4) gelişen ve dış ortam koşullarına alıştırmak üzere hazırlanan bitkiler

3.2.2 *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) çalışmaları

3.2.2.1 Ana bitkilerin yetiştirilmesi

Ana bitkilerin yetiştirileceği A.Ü.Z.F Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Sebzeçilik Araştırma ve Uygulama Bahçesi'ndeki parsel, sonbaharda derin, ilkbaharda ise çapa motoru ile yüzlek olarak işlenmiştir. Başların dikildiği parselde damla sulama sistemi olmaması nedeniyle sulama, salma sulama şeklinde yapılmıştır. Ana bitkilerin daha iyi gelişmesini sağlamak amacıyla parselde sulama suyuna karıştırılarak 350- 400 g/da katı gübre (Novachem 18-18-18+ME) verilmiştir.

Hazırlanan parselde ilk yıl 48 baş, 2 yıl ise 620 adet baş, 30x15 cm sıra arası ve üzeri mesafe ile ilk yıl 17.05.2011 tarihinde (Şekil 3.27), 2. Yıl ise 01.11.2012 tarihinde dikilmiştir (Şekil 3.28).



Şekil 3.27 Birinci deneme yılında dikimi yapılan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar



Şekil 3.28 İkinci deneme yılında dikimleri yapılan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait başlar

Allium tuncelianum (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) bitkilerinin çiçeklenme dönemindeki görünümü şekil 3.29'da görülmektedir.



Şekil 3.29 İkinci deneme yılında *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) bitkilerinin çiçeklenme dönemindeki görünümü

3.2.2.2 Tomurcuk iriliğinin haploid embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi

Allium tuncelianum'da ilk yıl denemelerinde tomurcuk alınacak bitki elde edilememiştir. İkinci deneme yılında *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci'da çiçek yapısı nedeniyle çiçek tomurcuğu büyüklüğü yönünden bir sınıflandırma yapılamayacağı anlaşılmıştır. Bu nedenle sadece küçük boy (<2- 2,5 mm) çiçek tomurcukları kullanılmıştır (Şekil 3.30).



Şekil 3.30 *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'a ait küçük boy çiçek tomurcukları

3.2.2.3 Besin ortamının hazırlanması ve ortam bileşiminin haploid bitki elde edilmesine etkisi

Allium tuncelianum'da daha önce yürütülmüş bir araştırma olmadığı için ön kültür ortamında *Allium* türlerinde *in vitro* gynogenik embriyo uyartımında başarılı sonuçlar veren BDS (Dunstan ve Short 1997) ortamı kullanılmıştır (Keller 1990a, Bohanec ve Jakse 1999, Puddephat vd. 1999, Alan vd. 2003,2004, Musial vd. 2005, Cho vd. 2006).

BDS besin ortamının bileşimi çizelge 3.2’de verilmiştir. Ortam bileşiminin gynogenik bitki elde edilmesine etkisini belirlemek amacıyla planlanan çalışmalar, ilk yıl bitkiler gelişemediğinden sadece ikinci yıl denemelerinde yapılmıştır. Bu denemelerde ön kültür ortamında 2,4-D ve BAP’ın 2 şer dozu (1 ve 2 mg/l) ve bunların kombinasyonları denenmiştir.

Ön kültür ortamında tomurcuk gelişimi için karbonhidrat kaynağı olarak sakkarozun %5 ve %10’luk dozları kullanılmıştır. Ön kültür ortamında gelişen *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)’a ait tomurcuklar dikimden 6- 7 hafta sonra alt kültür (B₁) ortamına transfer edilmiştir. B₁ ortamının bileşimi Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Ön kültür ortamına 7,2 g/l oranında agar (phytoagar- Merck) ilave edilerek ortam pH’sı 6.0 olarak ayarlanmıştır (Bohanec ve Jakse 1999, George vd. 2008). Ortamlar 121°C’de 20 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiş ve 7 cm çapındaki petrilere her petriye 20 ml olacak şekilde doldurulmuştur.

3.2.2.4 Kültür yönteminin haploid embriyo oluşumuna etkisinin belirlenmesi

Allium türlerinde gynogenik embriyo uyartımında kültüre alma yönteminin etkisi yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. Gynogenezis yoluyla haploid embriyo elde edilmesinde kullanılan 2 ana yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler tomurcuk ve yumurtalık kültürü yöntemleridir. *Allium tuncelianum*’da çiçek tomurcuklarının küçük olması nedeniyle yumurtalıkların çiçek tomurcuklarından izole edilmesi güç olduğundan sadece çiçek tomurcuğu kültürü denemede kullanılmıştır. Bu amaçla çiçeklenmeden 3-5 gün önceki aşamadaki çiçek tomurcuklarını taşıyan çiçek topları sabahın erken saatinde saplı olarak kesilmiş ve laboratuvara getirilmiştir. Tomurcuklar içine % 70’lik ethanol çözeltisi içinde 3 dakika bekletilmiş ve süzölmüştür. Süzölen tomurcuklar %15’lik clorox çözeltisi (%0,9 sodyum hipoklorit+ %0,1 tween-20) içerisinde 30 dakika tutulmuştur. Daha sonra steril kabinde 3 defa çift distile su ile yıkanarak sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Alan vd. 2003). Denemede 5000 çiçek tomurcuğu ön kültür ortamında kültüre alınmıştır.

Çiçek tomurcuğu kültürü:

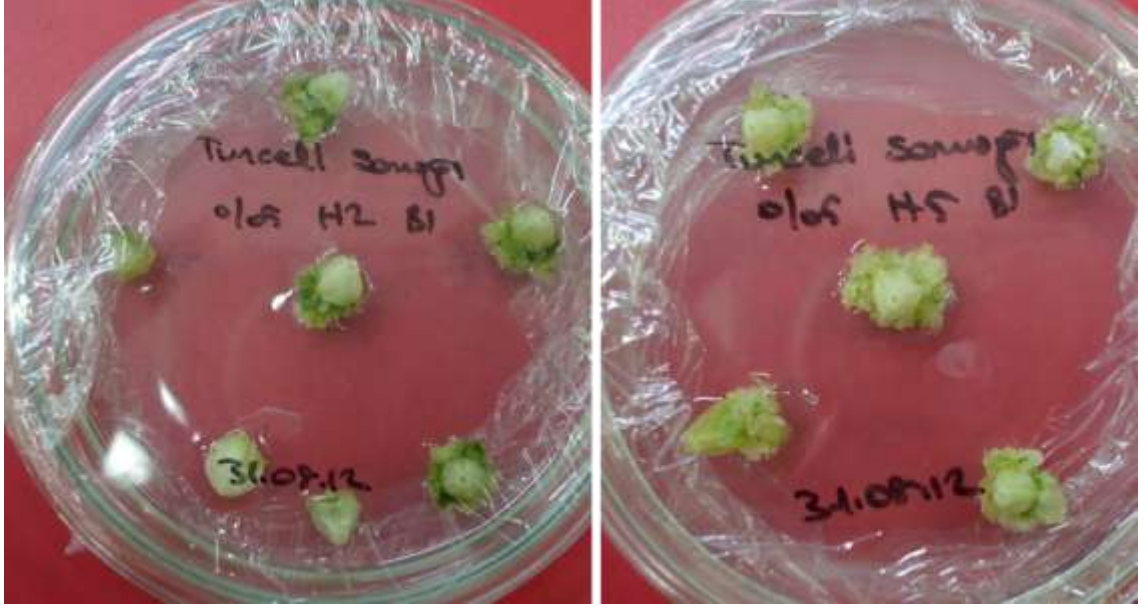
Sterilizasyon işlemi tamamlanan tomurcuklar steril kabin içinde çiçek sapları kesildikten sonra besin ortamı konulmuş petri kutularına, her birinde 25'er adet tomurcuk olacak şekilde dikilmiştir (Şekil 3.31). Daha sonra petri kapları hava almayacak şekilde streç film ile sarılmış ve 25°C'de 16/8 saat gün uzunluğuna ayarlanmış iklim odasında kültüre alınmıştır.



Şekil 3.31.a *Allium tuncelianum*'da ön kültür ortamına dikilmiş çiçek tomurcukları, b. Çiçek tomurcuklarının dikiminden sonra iklim odasına alınan petriler

3.2.3 Eksplantların alt kültür ortamına (B₁) transfer edilmesi

Ön kültür ortamında şişmenin ardından kallus oluşturarak gelişen *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci'a ait tomurcuklar dikimden 6-7 hafta sonra 100 g/l sakkaroz, 1 mg/l NAA (Naphthaleneaceticacid) ve 2 mg/l 2iP (Isopentenyladenine) içeren B₁ kültür ortamına transfer edilmiştir (Şekil 3.32) (Alan vd. 2003).

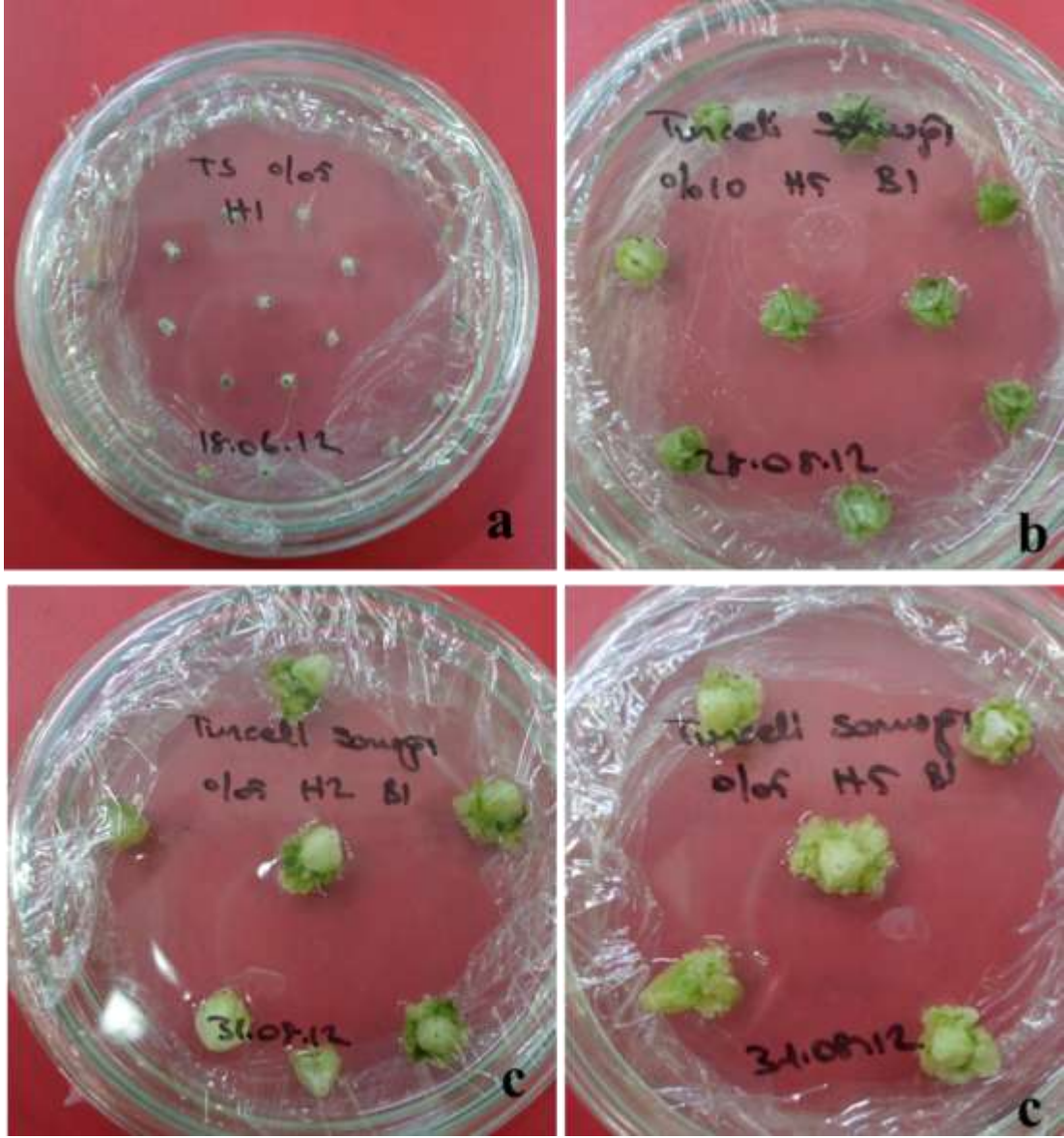


Şekil 3.32 B₁ ortamında gelişmekte olan *Allium tuncelianum*'a ait çiçek tomurcukları

3.2.4 Yapılan ölçüm ve değerlendirmeler

3.2.4.1 Eksplant gelişim aşamalarının belirlenmesi

Allium tuncelianum (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci'dan alınarak kültür ortamına dikilen tomurcuklarda dikimden 1 hafta sonra gözlem ve ölçüm çalışmaları başlamıştır. Kültürlerde soğan çeşitleri için belirtilen şişme ve kallus oluşturma gibi gelişme aşamaları *Allium tuncelianum*'dan alınan tomurcuklar için de sayısal olarak belirlenmiştir. Şekil 3.33'de farklı gelişme aşamalarındaki tomurcuklar görülmektedir.

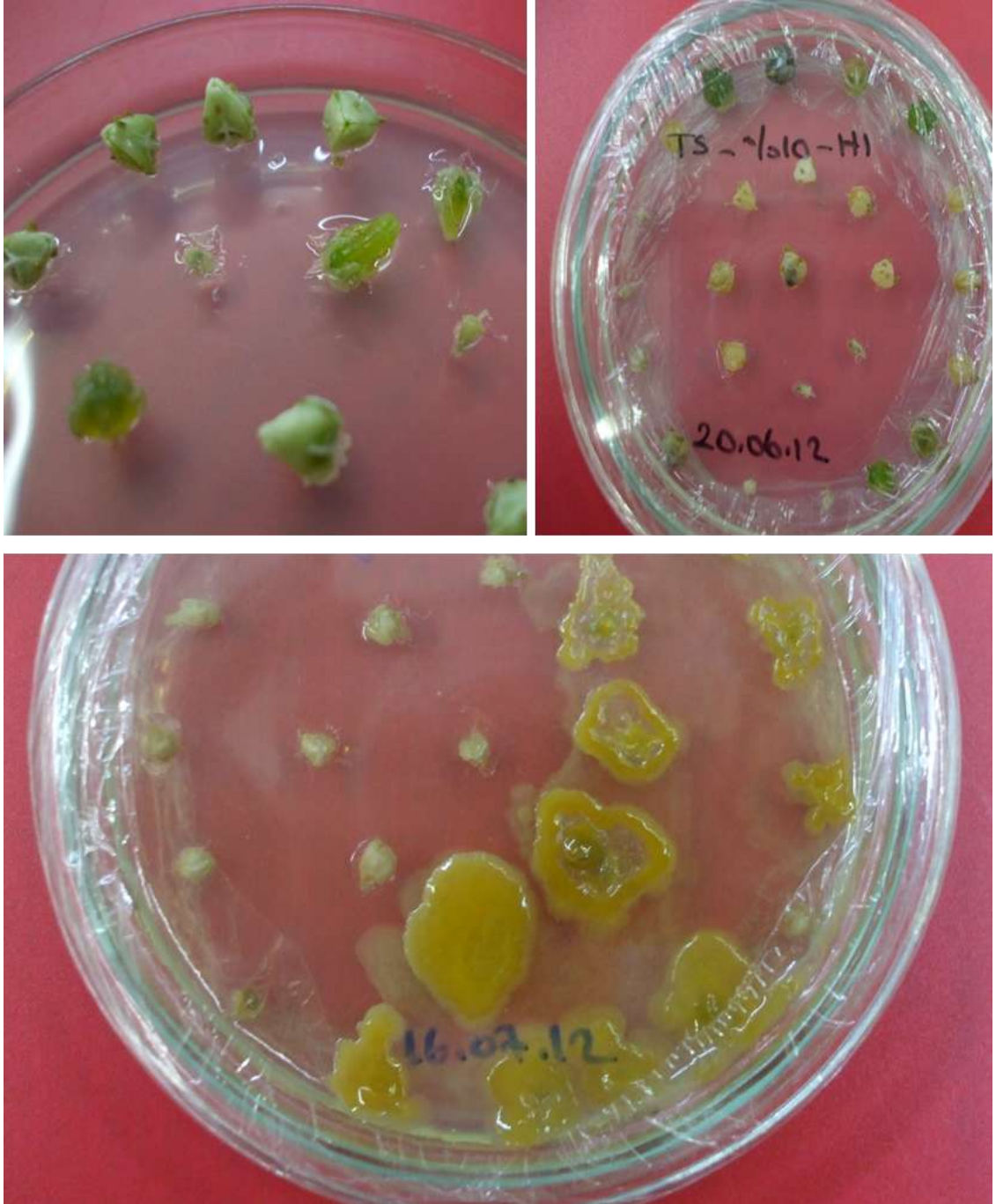


Şekil 3.33 Kültür ortamındaki farklı gelişme aşamalarındaki eksplantlar

a. Ön kültür ortamına yeni alınmış tomurcuklar, b. Ön kültür ortamında şişen tomurcuklar, c) Eksplantlarda kallus oluşumu

3.2.4.2 Camsılaşan ve enfeksiyonlu eksplant sayısının belirlenmesi

Dikim sonrası *Allium tuncelianum*'a ait tomurcuklarda meydana gelen camsılaşma ve enfeksiyon nedeniyle yaşanan kayıplar sayı ve oran olarak belirlenmiştir (Şekil 3.34).



Şekil 3.34 *Allium tuncelianum*'a ait tomurcuklarda meydana gelen camsılaşma ve enfeksiyonlar

3.2.5 İstatistiksel değerlendirme

Denemeler, birinci yıl “genotip x kültür yöntemi x şeker dozu x ortam bileşimi”; ikinci yıl ise “genotip x dikim zamanı x tomurcuk iriliği x ortam bileşimi” arasındaki ilişkileri

ortaya koymak amacıyla faktöriyel deneme düzenine göre kurulmuştur. Varyans analizlerini takiben farklı grupları belirlemek için Tukey testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar JMP paket programı ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

2011-2012 yıllarında soğan ve *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etme koşullarını belirlemek amacıyla yürütülen çalışmanın sonuçları aşağıda yıllara göre ayrı ayrı verilmiştir.

4.1 Birinci Yıl Sonuçları

İlk yıl denemelerinde Bayram 1 soğan çeşidinden sadece 1. dikim zamanında tomurcuk elde edilebilmiştir. Bu nedenle varyans analizlerine dikim zamanı dâhil edilmemiştir. Ön kültür ortamında farklı uygulamaların kallus oluşturan eksplant sayısı ve oranına etkisini belirlemek amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Ayrıca dikim sonrası eksplantlardaki şişme, camsılaşma, enfeksiyon sayı ve oranları, kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı ile oranı da değerlendirilmiştir.

4.1.1 Kültür yöntemi ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

Yumurtalık ve tomurcuk kültürünün 2 soğan çeşidinde ön kültür ortamına dikilen tomurcuk ve yumurtalıklarda kallus oluşumuna etkisi çizelge 4.1'de verilmiştir.

Varyans analizi sonuçlarına göre eksplant gelişimi üzerine “kültür yöntemi x genotip” interaksyonu etkisi önemli ($p \leq 0,05$) olmuştur. Çizelge 4.1 incelendiğinde Yakut çeşidinde en fazla kallus oluşum oranının (%36,28) tomurcuk kültüründe meydana geldiği, buna karşılık Bayram 1 çeşidinin ise yumurtalık kültürüne daha iyi cevap verdiği (%23,00) görülmektedir.

Çizelge 4.1 İki soğan çeşidinde yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürünün ön kültür ortamındaki eksplantlarda kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Tomurcuk Kültürü		Yumurtalık Kültürü	
	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Bayram 1	4,23d	16,92	5,75c	23,00
Yakut	9,07a	36,28	6,72b	26,88

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

Soğan çeşitlerinde şeker dozu, ortam bileşimi ve tomurcuk iriliği dikkate alınmadığında ortamlara dikilen 7500'er tomurcuk ve yumurtalıkta şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oranı çizelge 4.2'de verilmiştir. Kültürlerde şişme oranı %58,52 ile %64,84; camsılaşma oranı %26,27- %30,77; enfeksiyon oranı da %45,37-%62,00 arasında değişim göstermiştir. Her iki çeşitte de tomurcuk kültüründe bu oranların daha yüksek olduğu dikkat çekmektedir.

Çizelge 4.2 İki soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kültür yönteminin ön kültürlerde eksplantlarda şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Kültür yöntemi	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı (%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşma Oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	Tomurcuk kültürü	4761	63,48	2199	29,32	4650	62,00
	Yumurtalık kültürü	4389	58,52	1970	26,27	4357	58,09
Yakut	Tomurcuk kültürü	4643	64,84	2308	30,77	3652	48,69
	Yumurtalık kültürü	4859	64,77	2194	29,25	3403	45,37

Bayram 1 çeşidinde daha önce de belirtildiği gibi 2. dikim zamanında çiçek tomurcuğu elde edilememiştir. Yakut çeşidinde ise ortama dikilen 7500 tomurcuğun %51,09'unda şişme görüldüğü, %27,32'sinin camsılaştığı ve %44,75'inin enfeksiyonlar nedeniyle kaybedildiği tespit edilmiştir. Yumurtalık kültüründe ise eksplantların %42,29'u şişerek

gelişmiş, %26,68’inde camsılaşma gözlenmiş ve %57,04’ünün ise enfeksiyonlu olduğu belirlenmiştir (EK 3 ve EK 5).

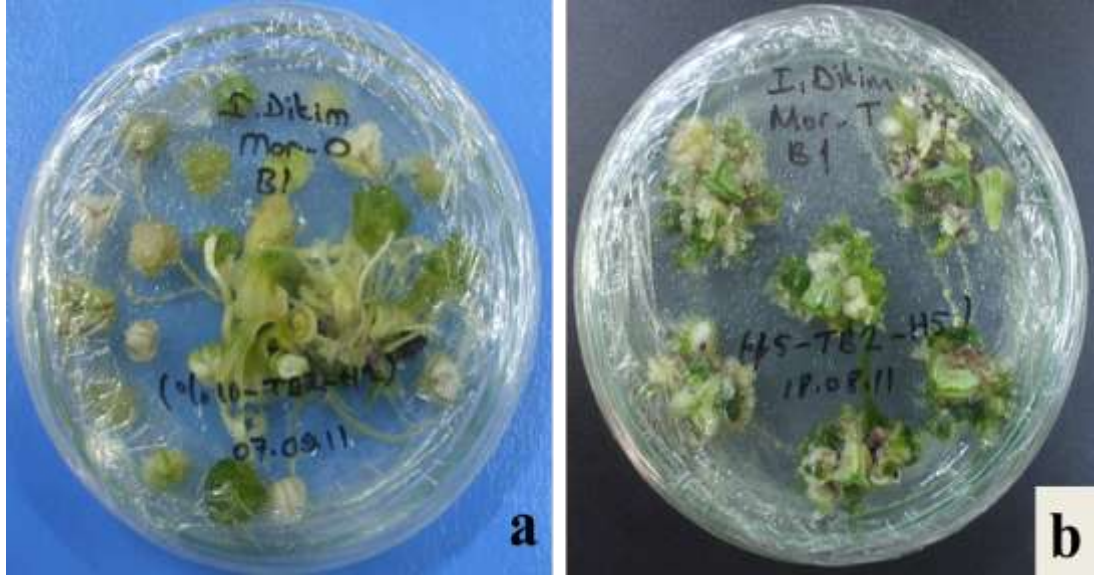
Ön kültür ortamında gelişerek kallus oluşturan yumurtalık ve tomurcuklardan alt kültür ortamına (B₁) aktarılan ve bu ortamda gelişmesini sürdürerek kök ve sürgün oluşturan eksplantların sayısı ve oranı da araştırmada değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 incelendiğinde kallus gelişiminin ardından yumurtalık kültüründe Bayram 1 çeşidinde ekplantların %42,27’si, tomurcuk kültüründe ise %11,92’si kök ve sürgün oluştururken, bu değerler Yakut çeşidinde tomurcuk kültüründe %57,22 ve yumurtalık kültüründe %58,90 olmuştur. Yakut çeşidinde 2. dikim zamanında yumurtalık kültüründe (%62,87) kök ve sürgün geliştirme oranının tomurcuk kültüründen (%61,89) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (EK 3 ve EK 5).

Çizelge 4.3 Kültür yönteminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında eksplantlarda sürgün ve kök gelişimi üzerine etkisi

Genotip	Tomurcuk Kültürü		Yumurtalık Kültürü	
	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	151	11,92	673	42,27
Yakut	1553	57,22	1403	58,90

Şekil 4.1’de alt kültür ortamında, kallus gelişiminin ardından kök ve sürgün oluşturmuş tomurcuk ve yumurtalıklar görülmektedir.



Şekil 4.1 Yakut soğan çeşidinde alt kültür ortamında: a. Yumurtalık ve b. Tomurcuk kültüründe kallus gelişiminin ardından kök ve sürgün gelişimi

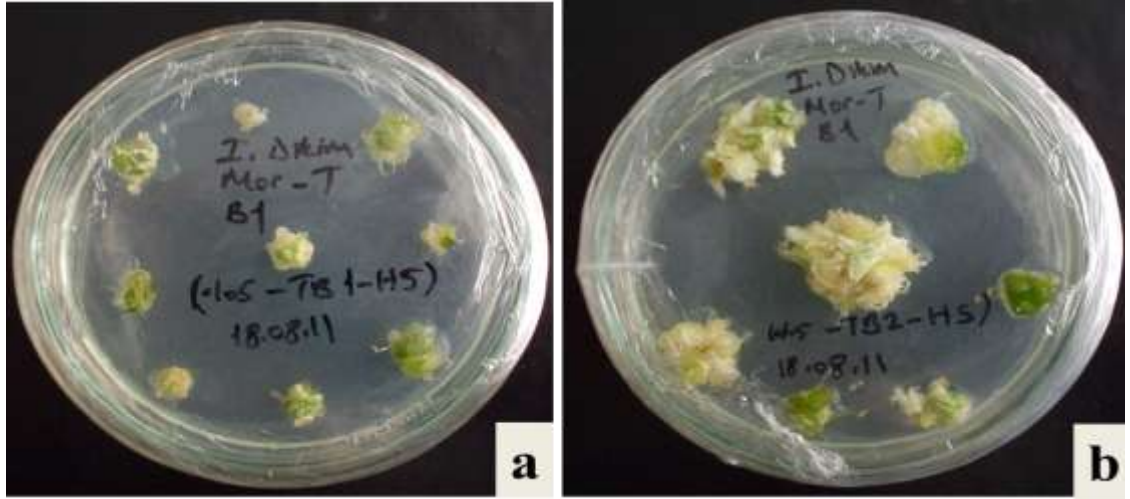
4.1.2 Tomurcuk iriliği ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

Ön kültür ortamında gelişen eksplant sayısı üzerinde hem “tomurcuk iriliği” hem de “genotip x tomurcuk iriliği” interaksyonu önemli ($p \leq 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.4). Ön kültür ortamındaki eksplantlarda en fazla kallus oluşum oranının (%34,84) Yakut soğan çeşidinde orta boy tomurcuklarda meydana geldiği görülmektedir. Eksplantlardaki en düşük kallus oluşum oranı (%17,92) Bayram 1 soğan çeşidinde ve küçük boy tomurcuklarda tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.4 Tomurcuk iriliğinin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında yumurtalık ve çiçek tomurcuklarında kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Tomurcuk iriliği			
	Küçük (2- 2,5 mm)		Orta (3- 4,5 mm)	
	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Bayram 1	4,48d	17,92	5,51c	22,04
Yakut	7,08b	28,32	8,71a	34,84

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



Şekil 4.2 Alt kültür ortamında kallus oluşturmuş tomurcuklar: a, Küçük boy tomurcuklar b, Orta boy tomurcuklar

Tomurcuk iriliği ve genotip etkisinin ön kültür ortamındaki yumurtalık ve tomurcuklardaki şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5 İki soğan çeşidinde tomurcuk iriliğinin 1. dikim zamanında şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Tomurcuk iriliği	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı (%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	Küçük (2- 2,5 mm)	4182	55,76	2102	28,03	4526	60,35
	Orta (3- 4,5 mm)	4968	66,24	2067	27,56	4481	59,75
Yakut	Küçük (2- 2,5 mm)	4216	56,21	2250	30,00	3666	48,88
	Orta (3- 4,5 mm)	5286	70,48	2252	30,03	3389	45,19

Çizelge 4.5’e göre tomurcuk iriliği her 2 çeşitte de eksplantlardaki şişme oranını etkilemiştir. Genel bir değerlendirme yapıldığında orta boydaki tomurcukların şişme oranı daha yüksek bulunmuştur. Nitekim Bayram 1 çeşidinde orta boy tomurcuklarda şişme oranı %66,24 iken Yakut çeşidinde %70,48 olmuştur. Tomurcuk iriliği camsılaşma oranı üzerinde etkili olmamıştır. Enfeksiyon oranı ise Bayram 1 çeşidinde daha yüksek olmuştur.

Yakut çeşidinde 2. dikim zamanında tomurcuk ve yumurtalıklarda görülen şişmenin tomurcuk iriliğine göre değiştiği ve en yüksek şişme oranının orta boy tomurcuklarda (%53,22) olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra camsılaşma ve enfeksiyon oluşma oranının tomurcuk iriliğinden etkilenmediği de tespit edilmiştir (EK 3 ve EK 5).

Ön kültür ortamında kallus oluşturarak gelişen ve alt kültür ortamına aktarıldıktan sonra kök ve sürgün oluşturarak bitkiye dönüşen eksplant sayısı ve bitkiye dönüşme oranlarının tomurcuk iriliğine göre değişimi çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Tomurcuk iriliğinin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi

Genotip	Tomurcuk iriliği	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	Küçük (2- 2,5 mm)	372	27,82
	Orta (3- 4,5 mm)	452	29,70
Yakut	Küçük (2- 2,5 mm)	1347	58,87
	Orta (3- 4,5 mm)	1609	56,10

Kalluslardan kök ve sürgün oluşumunda tomurcuk iriliğinin hem Bayram 1 hem de Yakut soğan çeşidinde fazla etkili olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.6). En yüksek kök ve sürgün gelişme oranı %58,87 ile Yakut çeşidinde küçük boy tomurcuklardan elde edilmiştir. Her iki çeşit kendi aralarında değerlendirildiğinde tomurcuk irilikleri arasında önemli bir fark bulunmadığı dikkat çekmektedir. Benzer şekilde 2. dikim zamanında Yakut soğan çeşidinde de tomurcuk iriliğinin kök ve sürgün gelişimini fazla etkilemediği; orta boy tomurcuklarda %63,20 olan gelişme oranının küçük boy tomurcuklarda %60,65 olduğu belirlenmiştir (EK 3 ve EK 5).

4.1.3 Şeker dozu ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

İndüksiyon ortamındaki eksplantlarda kallus gelişimi üzerine hem “şeker dozu” hem de “şeker dozu x genotip” interaksyonu etkisinin önemli ($p \leq 0,05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 Şeker dozunun 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında eksplantlardaki kallus gelişimi üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Şeker dozu			
	%5		%10	
	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Bayram 1	5,31b	21,24	4,68c	18,72
Yakut	7,83a	31,32	7,96a	31,84

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

Kallus oluşum oranı yönünden çeşitler arasındaki farkın, şeker dozlarından daha önemli olduğu görülmektedir. Yakut soğan çeşidinde kallus oluşum oranının Bayram 1 çeşidinden daha fazla olduğu ve farkın istatistiki düzeyde önemli olduğu görülmektedir. Şeker dozları kallus oluşturma oranı yönünden karşılaştırıldığında %5'lik şeker dozunda daha yüksek oranda olduğu görülmektedir. Yakut çeşidinde de şeker dozları arasındaki fark istatistiki düzeyde önemsiz çıktığından 2. yıl denemelerine %5'lik şeker dozu ile devam edilmiştir.

Şeker dozu ve genotip, yumurtalık ve tomurcuklarda şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerinde de etkili olmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Şeker dozunun 1. dikim zamanında eksplantlarda şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Şeker dozu (%)	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı (%)	Camsılaştıran eksplant sayısı	Camsılaşıma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	5	4593	61,24	2057	27,43	4310	57,47
	10	4557	60,76	2112	28,16	4657	62,09
Yakut	5	4988	66,51	2314	30,85	3507	46,76
	10	4514	60,19	2188	29,17	3548	47,31

2 soğan çeşidinde de eksplantlarda görülen şişme camsılaşıma oranları üzerinde şeker dozu etkisinin fazla önemli olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.8). Buna karşılık enfeksiyon oranları incelendiğinde %10'luk şeker dozunun kullanıldığı ortamda gelişen

eksplantlarda çeşitlere göre değişmekle birlikte (Bayram 1 %62,09; Yakut %47,31) daha yüksek oranda enfeksiyon oluştuğu söylenebilmektedir. Yukarıdaki sonuçların aksine, 2. dikimde Yakut soğan çeşidinde şişme oranı ortamdaki şeker dozuna göre değişmiş ve %5'lik şeker dozunun kullanıldığı ortamda eksplantların %43,04'ünün, %10'luk şeker dozunda ise %50,35'inin şiştiği gözlenmiştir. Camsılaşma oranları şeker dozundan etkilenmezken, enfeksiyon oluşma oranı %5'lik şeker dozunda (%53,80) %10'luk doza göre (%47,99) daha yüksek olmuştur (EK 3 ve EK 5).

Ön kültür ortamında kallus oluşturduktan sonra alt kültür ortamına alınan ve kök ve sürgün oluşturarak bitkiye dönüşen eksplant sayısı ve bitkiye dönüşme oranlarının şeker dozundan etkilenmiştir (Çizelge 4.9). Bu yönden Yakut çeşidinde %10'luk şeker dozu (%61,92), Bayram 1 çeşidinde ise %5'lik şeker dozu (%44,11) daha iyi sonuç vermiştir. Yakut çeşidinde kök ve sürgün oluşum oranı daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.9 Şeker dozunun 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi

Genotip	Şeker dozu			
	%5		%10	
	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	633	44,11	191	13,80
Yakut	1421	54,30	1535	61,92

2. dikimde Yakut soğan çeşidinde yine en fazla sürgün ve kök gelişimi %10'luk şeker dozunun kullanıldığı ortamdan elde edilmiştir (%67,31). %5'lik şeker dozunda ise gelişme oranı %54,95 olmuştur (EK 3 ve EK 5).

4.1.4 Ortam bileşiminin ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinden alınan yumurtalık ve çiçek tomurcuklarında ön kültür ortamındaki kallus oluşumu üzerine "ortam bileşimi x genotip" interaksyonu önemli ($p \leq 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında eksplantlardaki kallus gelişimi üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Ortam bileşimi						
	2,4-D (mg/l)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
		BAP (mg/l)					
		0		1		2	
Bayram 1	0	3,20c	12,80	*	*	*	*
	1	*	*	4,20c	16,80	6,30b	25,20
	2	*	*	4,26c	17,04	7,02b	28,08
Yakut	0	3,64c	14,56	*	*	*	*
	1	*	*	6,50b	26,00	10,67a	42,68
	2	*	*	7,07b	28,28	11,58a	46,32

*: Kombinasyonlar denenmemiştir.

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir (p<0,05)

Çizelge 4.10'a göre oksin ve sitokininsiz ortamlarda bile kallus oluşabildiği görülmektedir. Ancak kallus oluşturma oranı oksin ve sitokin dozlarının artışıyla artış göstermiştir. En yüksek kallus oluşum oranı Yakut çeşidinde (%46,32) ve Bayram 1 çeşidinde (%28,08) 2,4-D+BAP'ın 2+2 mg/l dozundan alınmıştır.

Ortam bileşimi ve genotip ön kültür ortamındaki şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerinde de etkili olmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Ortam bileşimi	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı(%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	0+0 mg/l 2,4-D+BAP	1322	44,07	739	24,63	2019	67,30
	1+1 mg/l 2,4-D+BAP	1682	56,07	763	25,43	2037	67,90
	1+2 mg/l 2,4-D+BAP	1997	66,57	892	29,74	1744	58,13
	2+1 mg/l 2,4-D+BAP	2035	67,83	904	30,13	1585	52,83
	2+2 mg/l 2,4-D+BAP	2114	70,47	871	29,03	1622	54,07
Yakut	0+0 mg/l 2,4-D+BAP	1443	48,10	868	28,93	1733	57,77
	1+1 mg/l 2,4-D+BAP	1807	60,23	955	31,83	1532	51,07
	1+2 mg/l 2,4-D+BAP	1746	58,20	867	28,90	1528	50,93
	2+1 mg/l 2,4-D+BAP	2222	74,07	884	29,47	1098	36,60
	2+2 mg/l 2,4-D+BAP	2284	76,13	820	27,33	1164	38,80

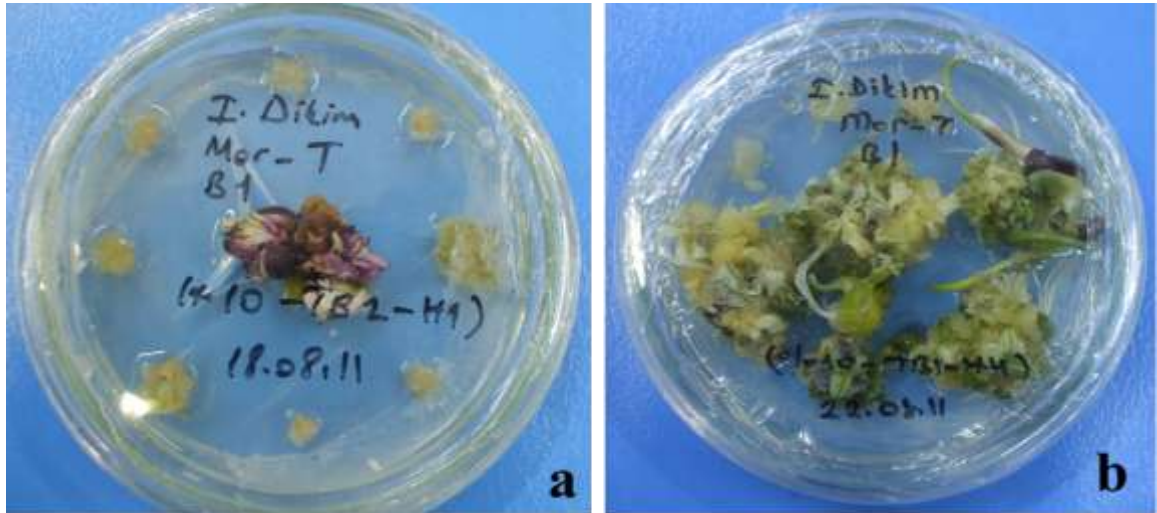
Her bir uygulamadan 3000'er eksplantın değerlendirildiği araştırmada 2 soğan çeşidinde de şişme oranının ortamda kullanılan oksin-sitokinin dozunun artmasıyla yükseldiği görülmektedir. En yüksek şişme oranı 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda Bayram 1 çeşidinde %70,47; Yakut çeşidinde ise %76,13 olarak belirlenmiştir. Oksin sitokininsiz ortamlarda en düşük şişme oranları elde edilmiştir (Yakut:%48,10; Bayram 1: %44,07). Camsılaşma oranı her 2 çeşitte de benzer değerler göstermiştir. Camsılaşma oranı %24,63 ile %31,83 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Enfeksiyon oluşum oranı ise çeşitlere bağlı olarak %36,60 ile %67,90 arasında değişmiştir. 2. Dikim zamanında Yakut soğan çeşidinde de 1. dikim zamanında olduğu gibi ortamdaki oksin-sitokinin dozuna bağlı olarak en yüksek şişme oranı (%63,33) 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. Eksplantların camsılaşma oranı %24,77 ile %30,47 arasında olurken enfeksiyon gelişme oranı %35,77 ile %64,00 arasında olmuştur (EK 3 ve EK 5).

Ortam bileşiminin kalluslardan kök ve sürgün oluşturarak bitkiye dönüşen eksplant sayısı üzerine etkisi çizelge 4.12'de görülmektedir. Çizelgeye göre oksin sitokinin dozlarının artışı kök ve sürgün gelişimini artırmıştır.

Çizelge 4.12 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde 1. dikim zamanında kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi

Genotip	Ortam bileşimi	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	0+0 mg/l 2,4-D+BAP	42	11,02
	1+1 mg/l 2,4-D+BAP	0	0,00
	1+2 mg/l 2,4-D+BAP	164	32,41
	2+1 mg/l 2,4-D+BAP	311	43,56
	2+2 mg/l 2,4-D+BAP	307	40,55
Yakut	0+0 mg/l 2,4-D+BAP	191	37,23
	1+1 mg/l 2,4-D+BAP	413	50,12
	1+2 mg/l 2,4-D+BAP	505	58,11
	2+1 mg/l 2,4-D+BAP	939	66,55
	2+2 mg/l 2,4-D+BAP	908	61,39

Kök ve sürgün oluşum oranı %11,02- %66,55 arasında değişim göstermiştir. En yüksek kök ve sürgün oluşum oranı hem Bayram 1 (%43,56) hem de Yakut (%66,55) soğan çeşidinde 2+1 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda elde edilmiştir. Buna karşılık Yakut soğan çeşidinde 2. dikim zamanında yine en yüksek kök ve sürgün gelişme oranı (%73,01) 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. Şekil 4.3'de farklı ortam bileşimlerinde kök ve sürgün oluşturmuş Yakut çeşidine ait tomurcuklar görülmektedir.



Şekil 4.3 Dikimden 85 gün sonra: a. Oksinsiz ve sitokininsiz ortamda kök ve sürgün oluşturmuş tomurcuklar, b. 2+1 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda kök ve sürgün oluşturmuş tomurcuklar

Deneme sonucunda, alt kültür ortamında (B₁) kök-sürgün oluşturan Bayram 1 soğan çeşidinden tomurcuk kültürü yoluyla elde edilen 1 bitkicik büyüme ortamına aktarılmıştır. Yakut soğan çeşidinde ise tomurcuk kültürü yoluyla elde edilen 86 ve yumurtalık kültürü yoluyla elde edilen toplam 28 bitkicik büyüme ortamında gelişmesini sürdürmüştür (Şekil 4.4). Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü yoluyla elde edilen ve büyüme ortamında gelişerek 3-4 gerçek yaprağa sahip olan toplam 41 adet bitki dış ortam koşullarına alıştırılmak üzere saksılara dikilmiştir (Şekil 4.5). Ancak dış ortam koşullarına alıştırılma aşamasında bitkiler kaybedilmiştir.



Şekil 4.4 Denemenin 1. yılında büyüme ortamında gelişmesini sürdüren bitkicikler



Şekil 4.5 Denemenin 1. Yılında dış ortam koşullarına alıştırılmak üzere saksılara dikilen bitkiler

1. yıl denemelerine konu olan tüm uygulamalar, dikim zamanları, ortam özellikleri ve elde edilen sonuçlar çeşitlere ve kültür ortamlarına göre EK 2- EK 7’de toplu olarak verilmiştir.

4.2 İkinci Yıl Sonuçları

Kültür ortamındaki çiçek tomurcuklarının gelişimini etkileyen faktörlerin etkisini ortaya koymak amacıyla denemenin birinci yılında kullanılan soğan genotiplerine ilave olarak gynogenezise eğilimli olması nedeniyle şahit çeşit olarak kullanılmakta olan 301-OH-SXN-1 soğan çeşidi Wisconsin Üniversitesi'nden temin edilmiştir. Gönderilen miktarın sınırlı olması nedeniyle bu çeşitte sadece tek tomurcuk boyutu (3- 4,5 mm), tek şeker dozu (%5) ve oksin-sitokinin kombinasyonları denenmiştir.

4.2.1 Bayram 1 ve yakut çeşitleri

4.2.1.1 Dikim zamanı ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde ön kültür ortamına dikilen tomurcuklarda kallus oluşumu üzerinde “dikim zamanı x genotip” interaksiyonunun etkisi önemli ($p \leq 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek kallus gelişim oranı (%43,96) 1. dikim zamanında Yakut soğan çeşidinden elde edilirken, en düşük oran ise her iki çeşitte de 3. dikim zamanından elde edilmiştir.

Çizelge 4.13 Dikim zamanının 2 soğan çeşidinde çiçek tomurcuğu gelişimi üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Dikim zamanı					
	I.Dikim		II.Dikim		III.Dikim	
	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Bayram 1	9,81b	39,24	9,35b	37,40	8,04c	32,16
Yakut	10,99a	43,96	10,85a	43,40	8,29c	33,16

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

Dikim zamanı ve genotipin ön kültür ortamındaki tomurcuklarda şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi çizelge 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.14 2 soğan çeşidinde dikim zamanının ön kültür ortamındaki eksplantlarda şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Dikim zamanı	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı (%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	I	1948	57,72	821	24,32	2552	75,61
	II	2021	59,88	0	0,00	3375	100,00
	III	2360	69,93	13	0,39	3362	99,61
Yakut	I	1865	52,26	316	9,36	2974	88,12
	II	2246	66,55	641	18,99	2732	80,95
	III	2430	72,00	63	1,87	3312	98,13

Çizelgeye göre ön kültür ortamına her uygulama için dikilen 3375'er tomurcukta şişme oranının dikim zamanı ve genotipe göre değiştiği görülmektedir. Hem Bayram 1 (%69,93) hem de Yakut (%72,00) soğan çeşidinde eksplantlarda en fazla şişme oranı 3. dikim zamanında görülmektedir. Hernekadar Bayram 1 çeşidinde 2. ve 3., Yakut çeşidinde de 3. dikim zamanında camsılaşma oranı en düşük düzeyde görünüyorsa da, enfeksiyon oranlarının yüksek oluşu nedeniyle, camsılaşma ve diğer faktörler arasında bir ilişki kurulamamıştır.

Farklı dikim zamanlarında kültüre alınan ve ön kültür ortamında gelişerek kallus oluşturan tomurcuklardan kök ve sürgün oluşturan eksplantların sayısı ve oranı çizelge 4.15'de değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.15 2 soğan çeşidinde dikim zamanının sürgün ve kök gelişimi üzerine etkisi

Genotip	Dikim zamanı	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	I	2	0,18
	II	0	0,00
	III	0	0,00
Yakut	I	85	7,43
	II	2	0,17
	III	0	0,00

Kallus gelişimi sonrası kök ve sürgün oluşum oranı çeşitlere bağlı kalmaksızın %0,0-7,43 arasında değişim göstermiştir. En yüksek oran Yakut çeşidinde %7,43 ile 1. dikim zamanından elde edilmiştir. Ancak bu oran da yüksek değildir.

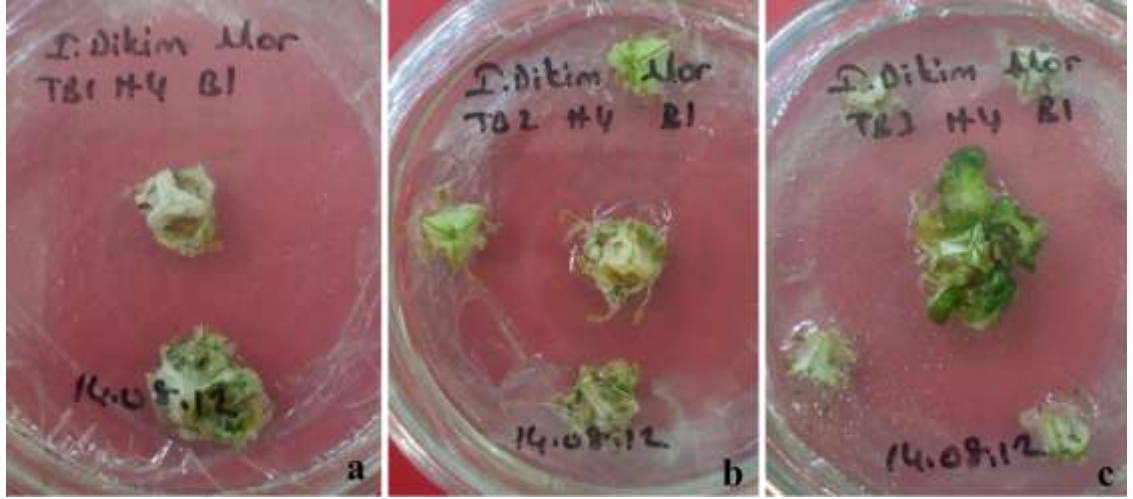
4.2.1.2 Tomurcuk iriliği ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

Tomurcuk iriliği eksplant gelişimi üzerinde çeşide bağlı olarak etkili olmuştur (Çizelge 4.16). Kallus oluşturma oranı %34,96 ile %44,84 arasında değişmiştir. Yakut soğan çeşidinde büyük ve orta boy tomurcuklarda kallus oluşturma oranı daha yüksekken, Bayram 1 çeşidinde tomurcuk iriliğinin etkisi önemli olmamıştır. Yakut soğan çeşidine ait farklı irilikteki tomurcuklarda kallus gelişimi şekil 4.6'da görülmektedir.

Çizelge 4.16 Tomurcuk iriliğinin Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde kallus oluşumu üzerine etkisi (adet/petri)

Genotip	Tomurcuk iriliği					
	Küçük (2- 2,5 mm)		Orta (3- 4,5 mm)		Büyük (> 4,5 mm)	
	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Bayram 1	9,02c	36,08	8,71c	34,84	9,48bc	37,92
Yakut	8,74c	34,96	10,20b	40,80	11,21a	44,84

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



Şekil 4.6 Kültürün 61. gününde alt kültür ortamında gelişmesini sürdüren farklı irilikteki çiçek tomurcukları: a. Küçük boy çiçek tomurcukları, b. Orta boy çiçek tomurcukları, c. Büyük boy çiçek tomurcukları

Çizelge 4.17’de tomurcuk iriliği ve genotipin ön kültür ortamındaki tomurcuklarda şişme ve camsılaşma oranı üzerindeki etkisi görülmektedir. Şişme oranı yönünden çeşitler arasında farklılık görülürken, her çeşitte tomurcuk iriliği yönünden önemli bir farklılık görülmemektedir. Camsılaşma oranı yönünden de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçların alınmasında enfeksiyon oranının yüksek oluşunun da etkisinin bulunduğu düşünülmektedir. Nitekim enfeksiyon oranı %81,24 ile %93,98 arasında değişmiştir.

Çizelge 4.17 Tomurcuk iriliğinin 2 soğan çeşidinde tomurcuklarda şişme, camsılaşma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Tomurcuk iriliği	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı (%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	Küçük (2- 2,5 mm)	1984	58,78	309	9,15	3064	90,79
	Orta (3- 4,5 mm)	2092	61,99	315	9,33	3060	90,67
	Büyük (> 4,5 mm)	2253	66,76	210	6,22	2742	81,24
Yakut	Küçük (2- 2,5 mm)	2080	61,63	425	12,59	2947	87,32
	Orta (3- 4,5 mm)	2182	64,65	459	13,60	2909	86,19
	Büyük (> 4,5 mm)	2379	70,49	136	4,03	3172	93,98

Çizelge 4.18’de soğan çeşitlerine ve tomurcuk iriliğine göre kallus oluşturan tomurcuklardan kök ve sürgün oluşturan eksplantların sayısı ve oranı verilmiştir. Buna göre Bayram 1 çeşidinde sadece küçük boydaki tomurcuk kaynaklı 2 bitkicik elde edilmiştir. Yakut çeşidinde ise toplam 87 adet bitkicğin, 67 adedi iri tomurcuklardan elde edilmiştir.

Çizelge 4.18 Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde tomurcuk iriliğinin kök ve sürgün gelişimine etkisi

Genotip	Tomurcuk iriliği	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	Küçük (2- 2,5 mm)	2	0,16
	Orta (3- 4,5 mm)	0	0,00
	Büyük (> 4,5 mm)	0	0,00
Yakut	Küçük(2- 2,5 mm)	13	1,11
	Orta (3- 4,5 mm)	7	0,51
	Büyük (> 4,5 mm)	67	4,44

4.2.1.3 Ortam bileşimi ve genotipin eksplant gelişimine etkisi

Kallus oluşumu üzerinde “ortam bileşimi x genotip” interaksiyonu önemli bulunmuştur. Genotipler arasında en yüksek kallus gelişim oranı (%50,84) Yakut soğan çeşidinde 2+2 mg/l 2,4-D+BAP’ın kullanıldığı uygulamadan elde edilmiştir. Her iki soğan çeşidi için de en düşük kallus oluşum oranı oksin-sitokinin kullanılmayan ortamdan elde edilmiştir (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19 Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde tomurcuklarda kallus oluşumu üzerine ortam bileşiminin etkisi (adet/petri)

Genotip	Ortam bileşimi					
	0+0 mg/l 2,4-D+BAP		2+1 mg/l 2,4-D+BAP		2+2 mg/l 2,4-D+BAP	
	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
Bayram 1	4,94c	19,76	10,94b	43,76	11,32b	45,28
Yakut	5,63c	22,52	11,81ab	47,24	12,71a	50,84

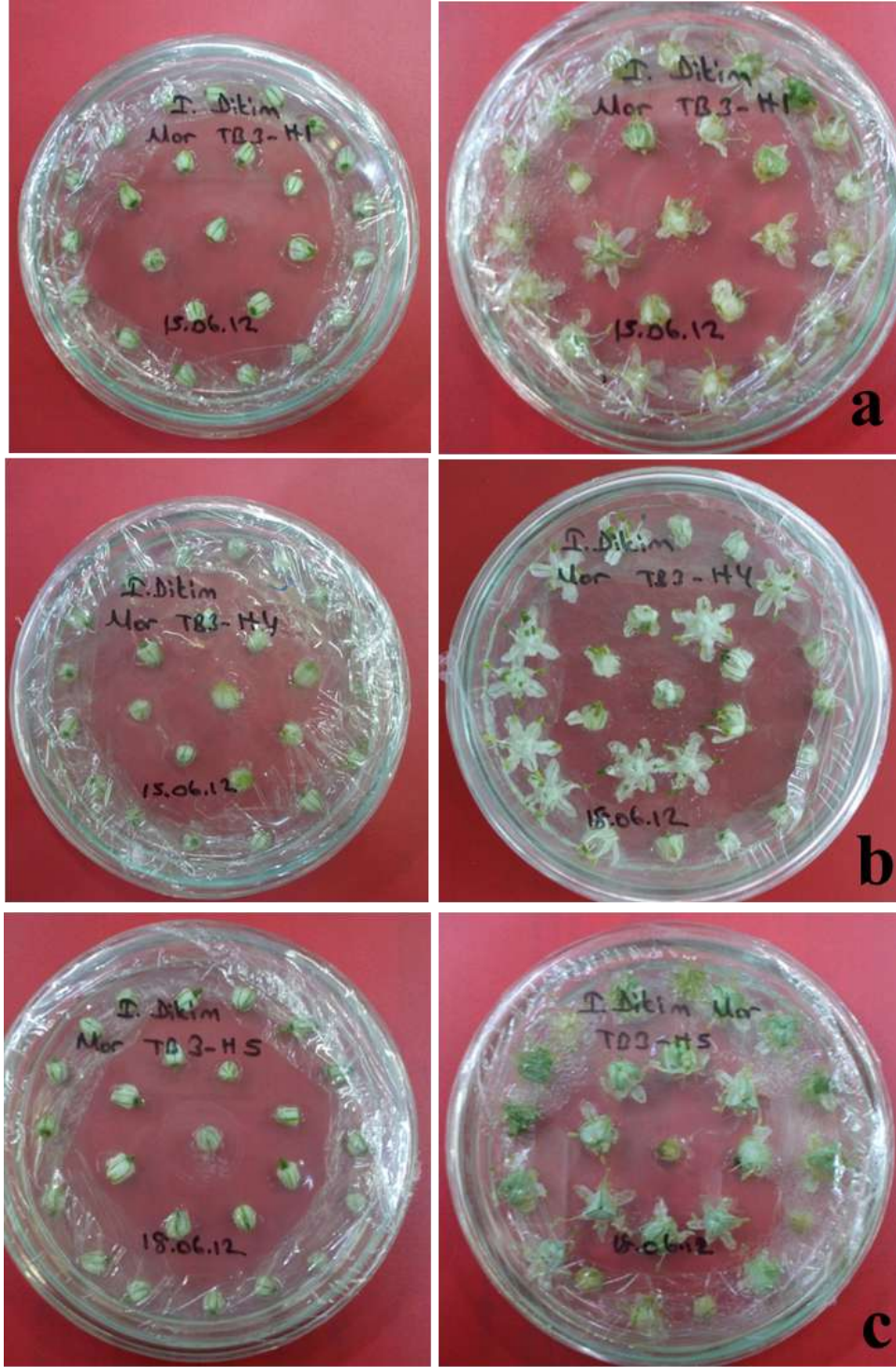
Aynı satırdaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir (p≤0,05)

Ortam bileşimi ve genotipin ön kültür ortamına alınan tomurcuklarda şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde ortam bileşiminin şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Genotip	Ortam bileşimi	Eksplant gelişimi					
		Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı(%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşıma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
Bayram 1	0+0 mg/l 2,4-D+BAP	1541	45,66	176	5,21	3199	94,79
	2+1 mg/l 2,4-D+ BAP	2420	71,70	319	9,45	2779	82,34
	2+2 mg/l 2,4-D+BAP	2368	70,16	339	10,04	3036	89,96
Yakut	0+0 mg/l 2,4-D+BAP	1542	45,69	249	7,38	3126	92,62
	2+1 mg/l 2,4-D+ BAP	2530	74,96	469	13,90	2852	84,50
	2+2 mg/l 2,4-D+BAP	2569	76,12	302	8,95	3040	90,07

Herbir uygulamada 3375’er adet eksplantın kullanıldığı 2 soğan çeşidinde de genel olarak oksin-sitokinin dozunun artmasıyla tomurcuklardaki şişme oranının arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.20, Şekil 4.7). Şişme oranı yönünden çeşitlerden daha çok ortam bileşimi etkili olmuştur. Bununla birlikte en yüksek şişme oranı Yakut çeşidinden elde edilmiştir. 2,4-D+BAP’ın 2+2 mg/l’lik kombinasyonlarının şişme oranı yönünden daha iyi olduğu görülmektedir (Yakut %76,12; Bayram 1 (%70,16). Her 2 soğan çeşidinde de oksin- sitokinin kullanılmayan ortamlardan şişme oranının azaldığı görülmektedir. Eksplantlarda görülen camsılaşımların da genotipler arasında benzerlik gösterdiği ve camsılaşıma oranının %5,21 ile %13,90 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Enfeksiyon oluşum oranı da çeşitlere bağlı olarak %82,34 ile %94,79 arasında değişmiştir.

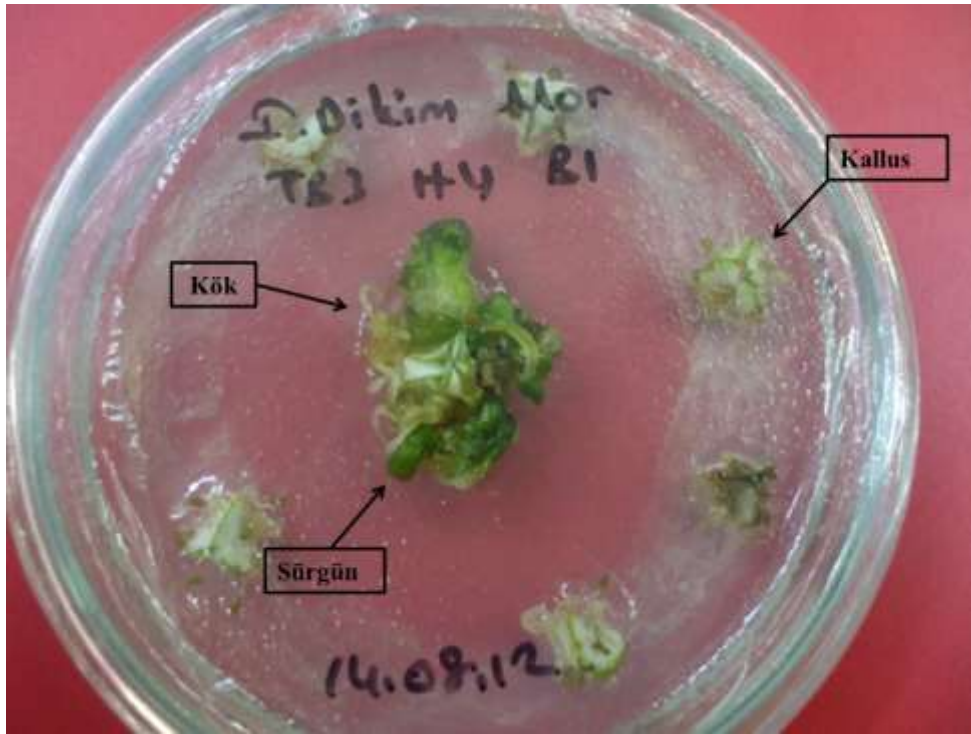


Şekil 4.7 Kültürün 1. ve 5. gününde tomurcuklarda meydana gelen şişmeler: a. Oksinsiz ve sitokininsiz ortamda şişen tomurcuklar, b. 2+1 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda şişen tomurcuklar, c. 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda şişen tomurcuklar

Kallus oluşturduktan sonra alt kültür ortamında kök ve sürgün oluşturarak bitkiye dönüşen eksplant sayısı ve bitkiye dönüşme oranlarının ortam bileşimine göre değişimi çizelge 4.21’de görülmektedir. Bayram 1 çeşidinde kök ve sürgün oluşumu gözlenmezken, Yakut soğan çeşidinde 2+1 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda %3,40 oranında kök ve sürgün oluşumu değerine ulaşılmıştır (Şekil 4.8).

Çizelge 4.21 Ortam bileşiminin 2 soğan çeşidinde kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi

Genotip	Ortam bileşimi	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
Bayram 1	0+0 mg/l 2,4-D+ BAP	0	0,00
	2+1 mg/l 2,4-D+ BAP	0	0,00
	2+2 mg/l 2,4-D+ BAP	0	0,00
Yakut	0+0 mg/l 2,4-D+ BAP	0	0,00
	2+1 mg/l 2,4-D+ BAP	54	3,40
	2+2 mg/l 2,4-D+ BAP	33	1,93



Şekil 4.8 Yakut soğan çeşidinde kallus, sürgün ve kök oluşturmuş tomurcuklar

Yakut soğan çeşidinde sadece 3 bitkicik büyüme ortamına aktarılmıştır (Şekil 4.9). 2. Yıl denemelerine konu olan tüm uygulamalar ve elde edilen sonuçlar çeşitlere ve kültür ortamlarına göre EK 8 ve EK 9’da toplu olarak verilmiştir.



Şekil 4.9 Yakut soğan çeşidinde büyüme ortamında gelişen *in vitro* bitkicik

4.2.2 301-OH-SXN-1 çeşidi

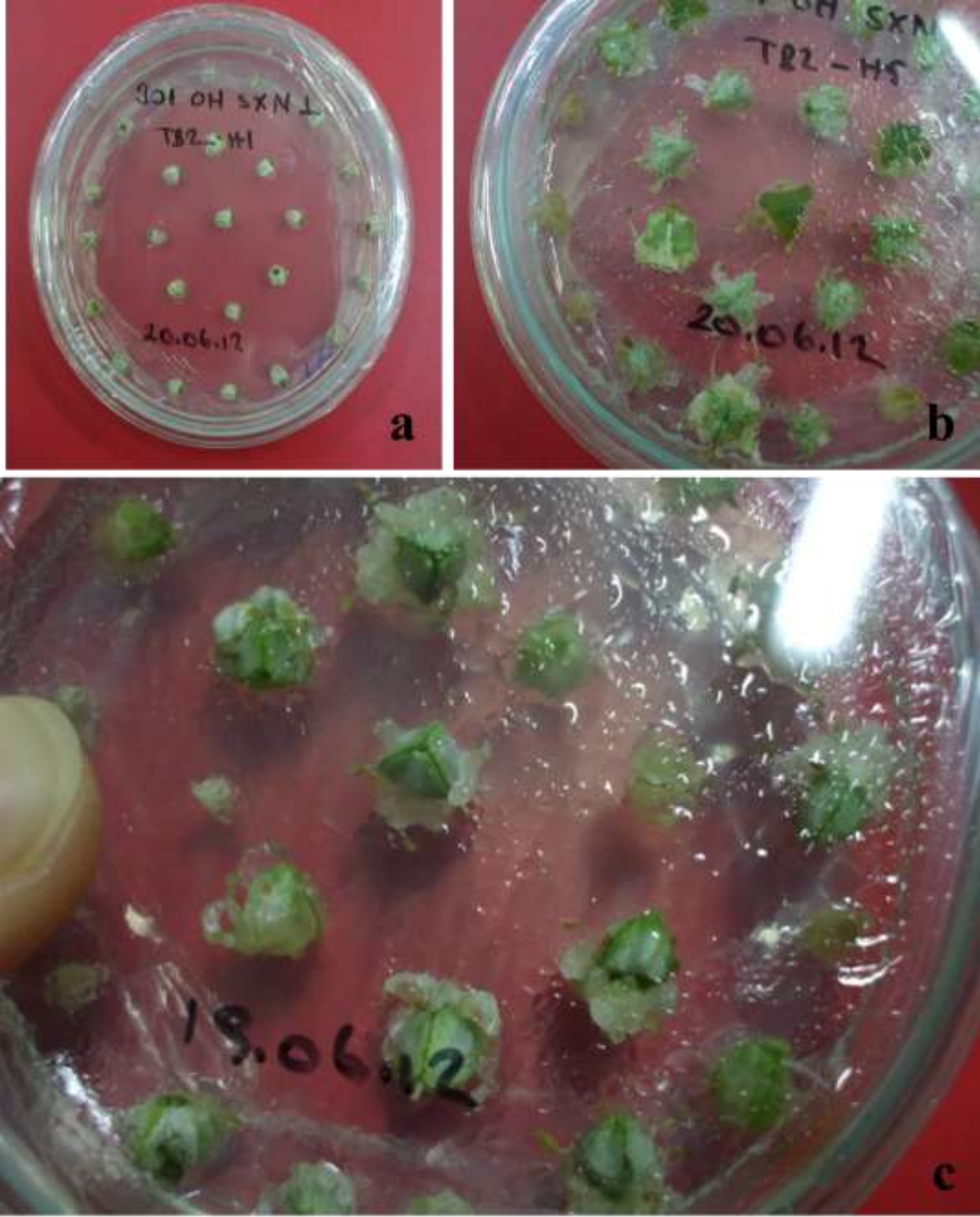
Şahit çeşit olarak 2. yıl denemelerine ABD-Wisconsin Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Michael J. Havey’den temin edilen ve yaklaşık 5 g civarında olan 301-H-SXN-1 soğan çeşidine ait tohumlardan 32 adet baş elde edilebilmiştir. Çeşidin baş iriliğinin küçük olması (ortalama baş çapı: 2,4 cm- ortalama baş boyu: 4,2 cm), tek çiçek sapı vermesi, dolayısıyla çiçek tomurcuğu sayısının az olması nedeniyle sadece ortam bileşiminin etkisi, tomurcuk kültüründe orta boy tomurcuklar kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.2.2.1 Ortam bileşiminin eksplant gelişimine etkisi

Ortam bileşimi kallus gelişimi üzerinde istatistiki anlamda etkili olmuştur. En yüksek gelişme oranı (%28,24); 2+2 mg/l 2,4-D+BAP'ın kullanıldığı uygulamadan elde edilmiştir (Çizelge 4.22). Şekil 4.10'da dikimden 9 ve 26 gün sonra tomurcuklardaki gelişme görülmektedir.

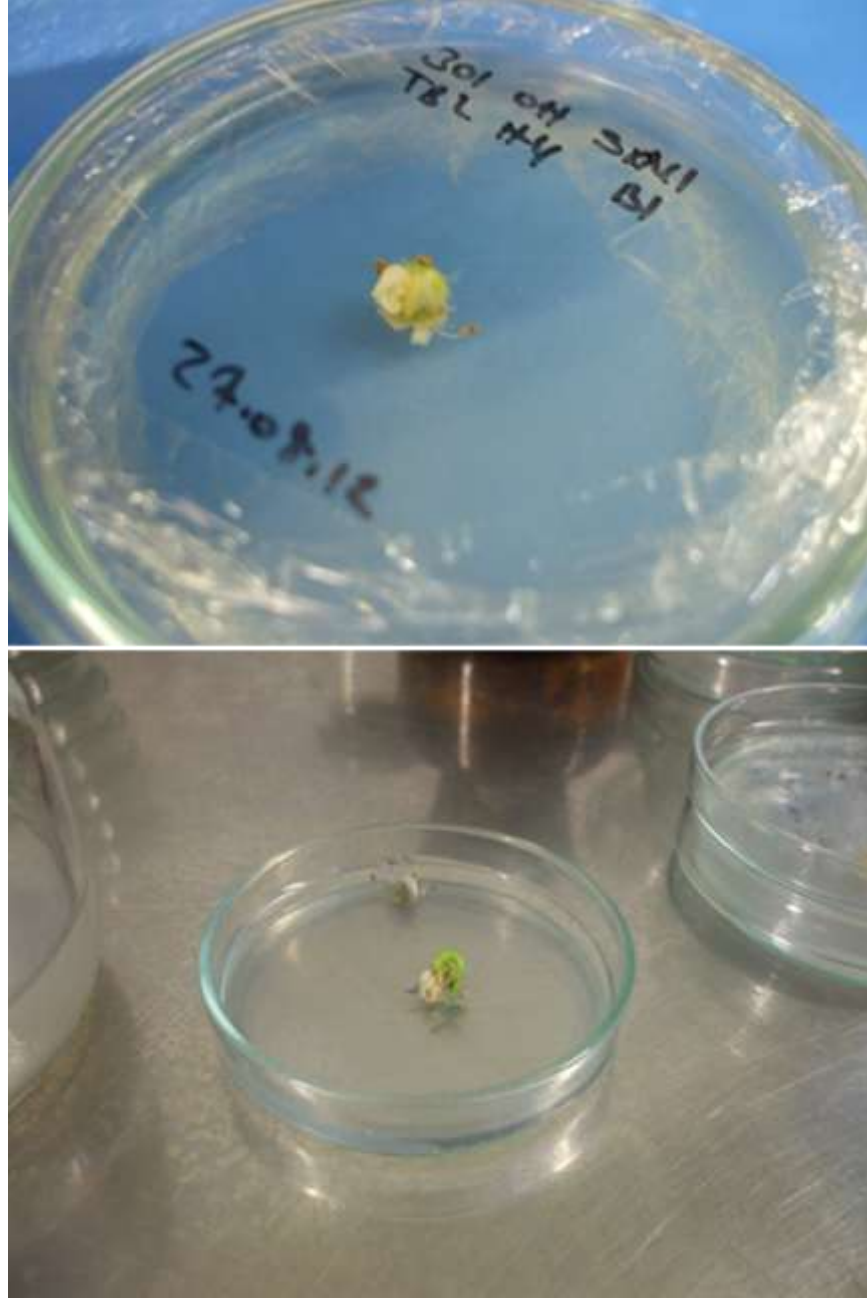
Çizelge 4.22 Ortam bileşiminin 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde kallus gelişimi üzerine etkisi (adet/petri)

Ortam bileşimi					
0+0 mg/l 2,4-D+BAP		2+1 mg/l 2,4-D+BAP		2+2 mg/l 2,4-D+BAP	
Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
3,92b	15,68	6,76a	27,04	7,06a	28,24



Şekil 4.10 301-OH-SXN-1 soğan çeşidine ait tomurcukların ön kültür ortamındaki gelişimi: a. Ön kültür ortamına yeni dikilmiş tomurcuklar, b. Dikimden 9 gün sonra tomurcukların görünümü, c. Dikimden 26 gün sonra tomurcukların görünümü

Diğer soğan çeşitlerinden farklı olarak 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde kallus oluşturmadan da tomurcuk içinden direkt sürgün gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.11). 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde ön kültür ortamında direkt sürgün gelişimi yoluyla 13 bitkicik elde edilmiştir (EK 10).



Şekil 4.11 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde tomurcuklardan direkt sürgün gelişimi

Çizelge 4.23 Ortam bileşiminin 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde şişme, direkt sürgün oluşumu, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Ortam bileşimi	Eksplant gelişimi							
	Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı (%)	Direkt sürgün oluşturan eksplant sayısı	Direkt sürgün oluşturma oranı(%)	Camsılaştıran eksplant sayısı	Camsılaşıma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
0+0 mg/l 2,4-D+BAP	196	52,27	0	0,00	69	18,40	306	81,60
2+1 mg/l 2,4-D+BAP	259	69,07	5	1,33	135	36,00	208	55,47
2+2 mg/l 2,4-D+BAP	233	61,13	8	2,13	126	33,60	170	45,33

301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde ortam bileşiminin şişme oranı %52,27 ile %69,07 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.23). Şişme oranı 2+1 mg/l 2,4-D+BAP ortamında daha yüksek iken (%69,07), direkt sürgün gelişim oranı 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda daha yüksek bulunmuştur (%2,13). Eksplantlarda camsılaşıma oranını oksinsiz ve sitokininsiz ortamlarda daha düşük, buna karşılık enfeksiyon oranı daha yüksek bulunmuştur. (Çizelge 4.23).

Kallustan alt kültür ortamında kök ve sürgün oluşturarak bitkiye dönüşen eksplant sayısı da oksin-sitokininin dozlarından etkilenmiştir (Çizelge 4.24). Oksin sitokininsiz ortamda kök ve sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Buna karşılık 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda kök sürgün oluşumunun en yüksek değere ulaştığı tespit edilmiştir (%75,23).

Çizelge 4.24 Ortam bileşiminin 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde kök ve sürgün gelişimi üzerine etkisi

Ortam bileşimi	Kök ve sürgün oluşturan eksplant sayısı	Kök ve sürgün oluşum oranı (%)
0+0 mg/l 2,4-D+ BAP	0	0,00
2+1 mg/l 2,4-D+ BAP	32	31,68
2+2 mg/l 2,4-D+ BAP	79	75,23

301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde 16 bitkicik büyüme ortamına (EM) transfer edilmiştir (Şekil 4.12, EK 10). Bu ortamda ancak 3 bitki yaşatılabildi. 3-4 yaprağa sahip bitkilerden alınan örneklerde flow sitometri yardımıyla ploidi seviyesi belirlenmiştir (Çizelge 4.25), 3 bitkinin 1 tanesinin haploid, 1 tanesinin diploid diğerinin ise miksploid olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.12 301-OH-SXN-1 çeşidinde büyüme ortamında (EM) gelişen *in vitro* bitki

Çizelge 4.25 *In vitro*'da 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinden elde edilen bitkilerde yapılan ploidi analizi sonuçları

Analiz edilen materyaller	Nükleer DNA miktarı	Ploidi seviyesi
Diploid soğan(kontrol)	30,57	2n
Örnek 1	30,92	2n
Örnek 2	16,60	n
Örnek 3	15,57	n+2n



Şekil 4.13 301-OH-SXN-1soğan çeşidinden elde edilen haploid (solda) ve diploid (sağda) bitkiler

Ploidi düzeyinin belirlenmesi aşamasından sonra tekrar besin ortamına geçirilerek 3-4 yapraklı aşamaya kadar geliştirilen *in vitro* bitkiler dış ortam koşullarına alıştırmak üzere plastik saksılara aktarılmış, ancak bitkiler yaşatılamamıştır.

4.2.3 *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) çalışmaları

Allium tuncelianum bitkilerinde 2012 yılında oluşan çiçek tomurcuklarının küçük olması (2-2,5 mm) nedeniyle tek tomurcuk iriliği, 2 şeker dozu ve 5 oksin sitokinin dozu ile denemeler kurulmuş ve yürütülmüştür.

4.2.3.1 Şeker dozunun eksplant gelişimine etkisi

Şeker dozunun tomurcuklarda kallus gelişimi üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Tomurcuklarda kallus oluşum oranı %5'lik şeker dozunda %58,24 olurken, %10'luk dozda %52,52 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.26 Şeker dozunun tomurcuk gelişimine etkisi (adet/petri)

Şeker dozu (%)	Dikilen eksplant sayısı	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
5	25	14,56a	58,24
10	25	13,13b	52,52

Aynı sütündeki farklı harfler ortalamalar arasındaki farkı göstermektedir.

Şeker dozu şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oranını etkilemiştir. En fazla şişme oranı (%87,84) %5 şeker dozunun kullanıldığı uygulamadan elde edilmiştir. Camsılaşıma oranının şeker dozundaki artışa bağlı olarak arttığı, bunun aksine enfeksiyon oluşum oranının %5'lik şeker dozunda daha az olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27 Şeker dozunun şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Şeker dozu (%)	Eksplant gelişimi					
	Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı(%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşıma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
5	2196	87,84	330	13,20	1975	79,00
10	1906	76,24	565	22,60	1746	69,84

4.2.3.2 Ortam bileşiminin eksplant gelişimine etkisi

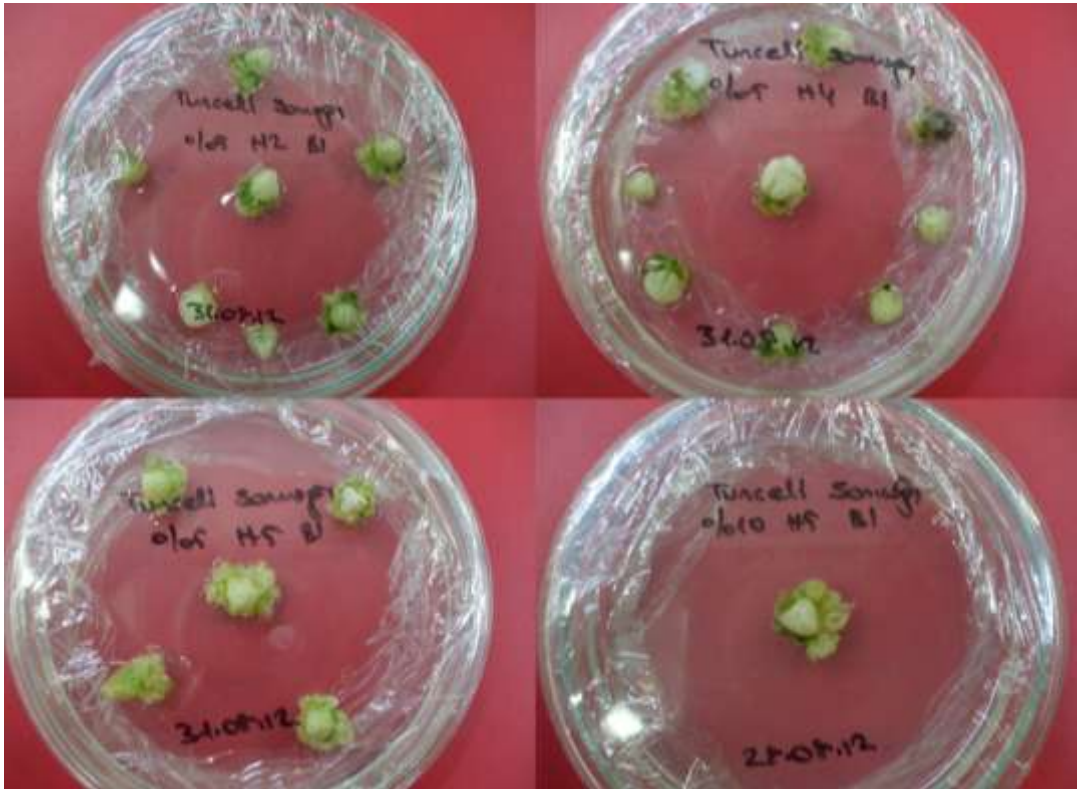
Kallus oluşumu üzerine ortam bileşiminin etkisi önemli bulunmuştur. Oksinsiz ve sitokininsiz kontrol ortamı ile karşılaştırıldığında; oksin-sitokin dozunun artmasıyla tomurcuklardaki kallus oluşum oranının da artış gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek kallus gelişme oranı (%73,28) 2+2 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamdan elde edilmiştir (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28 Ortam bileşiminin tomurcuk gelişimi üzerine etkisi (adet/petri)

Ortam bileşimi	Kallus oluşturan eksplant sayısı	Kallus oluşturma oranı (%)
0+0 mg/l 2,4-D+BAP	7,69c	30,76
1+1 mg/l 2,4-D+BAP	12,63b	50,52
1+2 mg/l 2,4-D+BAP	14,03b	56,12
2+1 mg/l 2,4-D+BAP	16,56a	66,24
2+2 mg/l 2,4-D+BAP	18,32a	73,28

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

Allium tuncelianum (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci) tomurcuklarında kallus gelişimi şekil 4.7’de görülmektedir.



Şekil 4.7 *Allium tuncelianum*'da kallus oluşturmuş tomurcuklar

Ortam bileşimi şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine de etkili olmuştur (Çizelge 4.29). En yüksek şişme oranı 2+1 mg/l 2,4-D+BAP içeren ortamda %95,70 olarak belirlenmiştir. Ortam bileşiminin camsılaşıma üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı, enfeksiyon oluşma oranının ise %67,90 ile %86,60 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.29 Ortam bileşiminin şişme, camsılaşıma ve enfeksiyon oluşumu üzerine etkisi

Ortam bileşimi	Eksplant gelişimi					
	Şişen eksplant sayısı	Şişen eksplant oranı(%)	Camsılaşan eksplant sayısı	Camsılaşıma oranı (%)	Enfeksiyonlu eksplant sayısı	Enfeksiyon oranı (%)
0+0 mg/l 2,4-D+BAP	634	63,40	134	13,40	866	86,60
1+1 mg/l 2,4-D+BAP	814	81,40	162	16,20	711	71,11
1+2 mg/l 2,4-D+BAP	808	80,80	172	17,20	702	70,20
2+1 mg/l 2,4-D+BAP	957	95,70	233	23,30	752	75,20
2+2 mg/l 2,4-D+BAP	889	88,90	194	19,40	679	67,90

Allium tuncelianum'da tomurcuk kültüründe yapılan şeker dozu ve ortam bileşimi uygulamalarına ait tüm sonuçlar EK 11'de verilmiştir.

Denemelerde yer alan tomurcuklarda yukarıda da belirtildiği gibi ön kültür ortamında kallus oluşumu görülmüş, ancak alt kültüre alınan kalluslarda yaklaşık 2-3 ay kadar beklenmesine rağmen hiçbir gelişme olmamıştır.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, ülkemizde ve dünyada sebze tarımında ekonomik önemi olan *Allium* türlerinden soğan (*Allium cepa* L.) ve ülkemizin endemik bitkileri arasında yer alan *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etme olanakları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Böylece, ıslah çalışmalarında araştırmacılara yol göstermek ve yöntemin ıslah çalışmalarına entegre edilerek soğan gibi ıslah süresi uzun olan bir türde ıslah süresinin kısaltılmasına katkıda bulunmak hedeflenmiştir.

Dişi gametten *in vitro* haploid bitki elde etme çalışmalarında başarıyı etkileyen faktörlerin başında ana bitkinin yetiştirildiği koşullar gelmektedir. Yapılan kaynak taramalarında bitkilerin çoğunlukla kontrollü sera koşullarında yetiştirildiği belirtilmektedir (Szulc vd. 2002). Bizim çalışmalarımızda kontrollü sera koşullarının olmaması nedeniyle dikim zamanının etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 2 yıl süresince 3 farklı dikim zamanı değerlendirmeye alınmıştır. Ancak iklim koşulları nedeniyle ilk yıl denemelerinde 2 (3 Mayıs- 17 Mayıs), 2. yıl denemelerinde ise 3 dikim zamanı (27 Mart- 24 Nisan- 14 Mayıs) denenebilmiştir. İlk yıl havaların yağışlı olması nedeniyle dikimlerin gecikmesi hem yeterli sayıda tomurcuk elde edilememesine, hem de dikim zamanının etkisinin net olarak görülememesine neden olmuştur. Buna karşılık 2. yıl denemelerinde Mart ve Nisan aylarında yapılan dikimlerden elde edilen çiçek toplarının normal irilikte ve yeterli sayıda çiçek tomurcuğu üretebildikleri görülmüştür. Bu tarihler dışındaki dikimlerde genotipe de bağlı olarak çiçeklenme olmasına rağmen çiçek toplarındaki çiçek tomurcuklarının küçük oldukları görülmüş ve bu nedenle farklı boyutlarda ve özellikle büyük boy (> 4,5 mm) çiçek tomurcuğu bulmakta sıkıntı yaşanmıştır. Tomurcuk gelişimi yönünden yaşanan bu sıkıntı başlangıç ortamlarına dikilen çiçek tomurcuğu ve yumurtalıkların gelişimini de olumsuz yönde etkilemiştir (Şekil 4.6). Bu nedenle gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etme çalışmalarında ana bitkilerin olabildiğince kontrollü koşullarda yetiştirilmesi, bu durum sağlanamıyorsa türün istediği ekolojik şartların en uygun olduğu tarihlerde dikim yapılması gerekmektedir. Özellikle genotip etkisiyle birleştiğinde ana bitkinin yetiştirme koşullarının etkisi oldukça önemlidir (Murovec ve Bohanec 2012). Soğanlarda düşük sıcaklık ve yüksek ışıklenme süresinin gynogenezis üzerinde olumlu etkiye sahip

olduğu bildirilmekte ise de bu konudaki araştırma sayısı oldukça sınırlıdır (Bohanec, 2009). Dikim zamanı etkisinin değerlendirilebildiği ikinci yıl denemelerinde alınan sonuçlar, uygun boyut ve sayıda çiçek tomurcuğu elde etmede erken dönemlerde (Mart-Nisan) yapılan dikimlerin, daha başarılı olduğunu göstermiştir.

Gynogeneziste başarıyı etkileyen 2. etmen kültür yöntemidir. Bizim yaptığımız çalışmada çiçek tomurcuğu ve yumurtalık kültürü denenmiş, her ne kadar haploid bitki elde etmede çok doyurucu sonuçlar elde edilememişse de uygulama kolaylığı açısından tomurcuk kültürü yöntemi daha başarılı bulunmuştur. Denemede kültüre alınan yumurtalıkların %55,20'si ön kültür ortamında şişerek gelişmeye başlamış ve şişen bu yumurtalıkların %39,78'si kallus oluşturmuştur. Çiçek tomurcuklarının ise %58,83'ünde şişme gözlenmiş ve tomurcukların %60,88'inin kallus oluşturduğu tespit edilmiştir. Denemede yumurtalık ve çiçek tomurcuğu kaynaklı eksplantlardan yumurtalık kültüründe 28; tomurcuk kültüründe ise 87 bitki büyüme ortamına aktarılmıştır. Bu konuda çalışan Keller ve Korzun (1996) çiçek tomurcuklarından elde edilen haploid embriyo oranının yumurtalık kültürüne oranla daha fazla olduğunu bildirmiştir.

Kullanılan kültür yönteminin etkinliği üzerinde kültüre alınan tomurcuk iriliğinin etkisi bulunmaktadır. Çünkü tomurcuk iriliği yumurta hücresinin fizyolojik olarak içinde bulunduğu gelişme dönemini ifade etmektedir. Bugüne kadar yapılan gynogenezis ile ilgili çalışmalarda yumurta hücresi için uygun gelişme dönemi kesin olarak tespit edilememiştir. Birçok araştırmacı mikrosporların gelişme aşamasını yumurta hücresinin gelişme aşaması olarak kabul etmektedir (Reed 2005, Chen vd. 2011). Ancak soğangiller familyasına giren türlerde çiçeklerdeki dişi ve erkek gametler farklı zamanlarda olgunlaştığı için polen gelişme döneminin baz alınması sorun çıkarabilmektedir. Androgenik yöntemler ile karşılaştırıldığında gynogenik yöntemler için embriyo keselerinin gelişme dönemlerine ait bilgiler oldukça yetersizdir (Bohanec 2009). Soğanda yapılan gynogenezis çalışmalarında çiçek tomurcuklarının alınma dönemi olarak çiçeklerin açılmasından (antezis) önceki dönemin uygun olduğu bildirilmiştir (Alan vd. 2003, Sulistyaningsih vd. 2006, Judkevieiene vd. 2005, Bohanec, 2009). Araştırmanın ilk yılında yumurtalık ve tomurcuk kültüründe küçük ve orta irilikteki tomurcuk büyüklüğü denenebilmiş, çiçeklenme dönemindeki iklim

koşullarından özellikle sıcaklığın düşük oluşu nedeniyle iri tomurcuk aşamasında olan tomurcuk bulunamamıştır (EK 1). Denemenin 2. yılında 3 tomurcuk iriliği de denenmiştir. Yerli soğan çeşitlerinde ön kültür ortamındaki eksplantların gelişimi üzerinde tomurcuk iriliğinin etkisinin genotipe bağlı olarak değiştiği bulunmuştur. Bayram 1 çeşidinde tomurcuk iriliği etkili olmazken Yakut çeşidinde iri tomurcuklardan daha iyi sonuç alınmıştır. Bir genelleme yapılacak olursa en iyi gelişmenin iri tomurcuklardan elde edildiği söylenebilmektedir. Denemede gynogenezise eğilimli olduğu saptanan 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde yeterli bitki olmaması nedeniyle (11 bitki) sadece orta irilikteki tomurcuklar kullanılabilmiştir. Denemeden elde edilen bulgular, soğanlarda tomurcukların antezisten önceki en iri oldukları dönemde alınmasının eksplant gelişimini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Bu nedenle Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitleri için uygun tomurcuk iriliği 4,5 mm ve üzeri olarak tespit edilmiştir.

Deneme koşullarımızda *Allium tuncelianum*'da çiçeklerin tomurcukları çoğunlukla küçük tomurcuk iriliği (2-2,5 mm) aşamasında bulunduğundan farklı irilikler denenememiştir. Ancak ileride yapılacak çalışmalarda ana bitkilerin büyüme koşulları iyileştirilerek bu çalışmaların devam ettirilmesi düşünülmektedir.

Allium türlerinde gynogenik haploid bitki elde etmede tür ve çeşitlerin ortam bileşimi isteklerinin birbirinden farklı olabilmektedir (Mukhambetzhanoğlu 1997, Murovec ve Bohanec 2012). Kullanılan kültür ortamlarına ilave edilen şeker ve büyümeyi düzenleyici maddeler de gynogenezis üzerinde önemli etkilerde bulunmaktadır (Mukhambetzhanoğlu 1997, Bohanec 2009, Murovec ve Bohanec 2012).

Araştırmanın birinci yılında ön kültür ortamının şeker dozunu belirlemek amacıyla %5 ve %10'luk sakkaroz dozu kullanılmıştır. Ön kültür ortamında gelişen eksplantlar değerlendirildiğinde, genotiplerin şeker dozlarına farklı tepkiler verdiği tespit edilmiştir. Yakut soğan çeşidinde %5 şeker dozunda dikimi yapılan toplam 15.000 tomurcuk ve yumurtalığın 3613'ü gelişerek kallus oluştururken (%24,09); %10 şeker dozunda ise 4547 eksplant kallus oluşturmuştur (%30,31). Bayram 1 çeşidinde ise %5'lik şeker dozunda 1585 tomurcuk ve yumurtalık kallus oluştururken (%21,13), %10 şeker dozunda bu oran %16,99 olarak belirlenmiştir. Yakut çeşidinde şeker dozları arasındaki

farkın istatistiki düzeyde önemsiz çıkması nedeniyle ileride yapılacak çalışmalar için %5'lik sakkaroz dozu önerilmektedir.

Soğanlarda gynogenik haploid embryo uyartımıyla ilgili çalışmalarda genel olarak besin ortamına oksin olarak 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid), sitokinin olarak BAP (Benzylaminopurine)'ın farklı dozlarının kullanılmaktadır (Campion vd. 1992, Geoffriau vd. 1997, Martinez vd. 1997, Alan vd. 2003, 2004, Bekheet 2004, Musial vd. 2005, Reed 2005, Sulistyaningsih vd. 2006, Bohanec 2009, Forodi vd. 2009, Chen vd. 2011). Oksin ve sitokininlerin etkili dozları özellikle genotipten etkilendiği için ortamlara katılacak oksin-sitokinin konsantrasyonu ile ilgili kesin değerler verilememektedir (Keller ve Korzun 1996, Chen vd. 2011, Murovec ve Bohanec 2012).

Araştırmamızda ön kültür besin ortamında kaynak verileri dikkate alınarak 2,4-D ve BAP'ın 1 ve 2 mg/l'lik kombinasyonları denenmiştir. Oksin ve sitokinsiz kültür ortamında eksplant gelişmesi ya çok az olmuş ya da hiç olmamıştır. Buna karşılık kullanılan dozun artırılmasıyla ön kültür ortamında gelişen eksplant sayısının da arttığı tespit edilmiştir. Denemenin her iki yılında da Yakut ve Bayram 1 soğan çeşitlerinde başlangıç ortamındaki çiçek tomurcuğu ve yumurtalıkların gelişimi üzerinde kullanılan oksin-sitokinin kombinasyonlarından 2+1 mg/l 2,4-D+BAP ve 2+2 mg/l 2,4-D+BAP kombinasyonları daha etkili bulunmuştur. Denemeye ikinci yılda eklenen 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde de benzer sonuçlar elde edilmiş ve sadece 2+1 mg/l 2,4-D+BAP oksin-sitokinin kombinasyonunun kullanıldığı ortamdan haploid bitki elde edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen haploid bitki sayılarına ulaşılamasa da, araştırma koşullarımızda da benzer sonuçlar alınmıştır (Campion vd. 1992, Martinez vd. 1997, Michalik vd. 2003).

Allium tuncelianum (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da gynogenezis yolu ile haploid bitki elde edilmesine yönelik olarak daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda ilk kez ülkemize özgü bir gen kaynağında bu tip bir konu üzerinde araştırma yapılmıştır. Çalışma sonucunda da 2,4-D ve BAP'nın 2 mg/l'lik konsantrasyonu etkili görülmüştür. Bu konuda ileride planlanacak çalışmalarda daha yüksek dozların da denemeler alınması önerilmektedir.

Haplodiye yönelik çalışmalarda tüm koşullar yerine getirilse bile kullanılan türün haplodiye eğilimi yoksa başarı şansı hemen hemen hiç yoktur . Dolayısıyla gynogenezis yoluyla elde edilen gynogenik haploid embriyo oranı, embriyo kalitesi ve embriyodan bitki rejenerasyonu tür ve çeşitlere göre farklılık göstermektedir (Keller ve Korzun 1996, Michalik vd. 2003, Alan vd. 2004; Judkevieiene vd. 2005; Palmer ve Keller 2005, Reed, 2005, Cho vd. 2006, Kim vd. 2007, Chen vd. 2011, Murovec ve Bohanec 2012). Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda ülkemizin soğan genotiplerinin gynogenezise yatkınlığının belirlenmesi gerekmektedir. Bu arada yurt dışında yapılan çalışmalarla gynogenezise eğilimli olduğu belirlenen genotiplerin de devreye sokulması, ülkemiz genotiplerinin potansiyelini ortaya koymak açısından önemli olacaktır.

Bizim yaptığımız araştırmada her iki yılda da kültüre alınan Bayram 1 ve Yakut soğan çeşitlerinde haploid bitki elde edilememiş, ancak Prof. Dr. Michael J. Havey'den (Wisconsin Üniversitesi) temin edilen ve soğanda gynogenezis çalışmalarında tanık bitki olarak kullanılan 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinden haploid bitki elde edilebilmiştir. Bitki ve tomurcuk sayısının az olması nedeniyle diğer soğan çeşitlerinden farklı olarak 1.125 çiçek tomurcuğunun kültüre alındığı denemede 1 haploid, 1 miksploid ve 1 diploid bitki elde edilebilmiştir. Ancak bu sayı da aynı çeşidi kullanarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre çok düşük kalmıştır. Nitekim Havey ve Bohanec (2007) ana bitkilerin kontrollü koşullarda yetiştirildiği çalışmada haploid bitki oluşma oranını ortalama %12 olarak bulmuştur. Bizim çalışmamızda ana bitkilerin açık arazi koşullarında yetiştirilmiş olmasının bu oranın düşük olmasında etkili olduğu kanısına varılmıştır. Bununla birlikte haploid bitki elde edilmiş olması, denemelerimizde kullanılan protokolün çalıştığını göstermektedir.

Araştırma sırasında uygulamalara göre yeterli sayıda tomurcuk kullanılmasına rağmen eksplantlarda camsılaşma, bakteri, mantar ve trips kaynaklı enfeksiyonlar nedeniyle kayıp oranı yüksek olmuştur. Denemenin ilk yılında ön kültür ortamında kültüre alınan yumurtalık ve tomurcukların %28,2'sinde camsılaşma; % 52,66'sında enfeksiyon; 2. yılında ise %10,76'sında camsılaşma; %79,34'ünde ise enfeksiyonlar nedeniyle kayıp olmuştur. Besin ortamındaki yüksek karbonhidrat ve oksin sitokinin miktarının camsılaşmaya neden olduğu farklı araştırmacılar tarafından bildirmiştir (Paques ve Boxus 1987, Ziv 1991). Ancak denememizin ilk yılında besin ortamında karbonhidrat kaynağı

olarak 2 şeker dozunun kullanıldığı uygulamada, %5'lik dozda 6525 eksplantta camsılaşma gözlenirken %10'luk şeker dozunda ise 6196 eksplantta camsılaşma olduğu tespit edilmiştir. Bu bulguların aksine, *Allium tuncelianum*'da ise %10'luk şeker dozunun kullanıldığı ortamda camsılaşma oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ortam bileşimlerinin camsılaşma üzerine etkisi incelendiğinde; denemenin her iki yılında da kültüre alınan tomurcuk ve yumurtalıklardaki camsılaşma oranının ortamdaki oksin-sitokininin miktarından etkilendiği tespit edilmiştir. Oksin sitokininin kullanılmayan ortamlarla karşılaştırıldığında, oksin sitokininin dozunun artmasıyla camsılaşma oranının da arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.11, Çizelge 4.20, Çizelge 4.23 ve Çizelge 4.29).

Enfeksiyon oranının yüksek olmasında şeker dozunun da etkili olduğu düşünülmektedir. Çeşitlere göre değişmekle birlikte (Bayram 1 %62,09; Yakut %47,31), %10 şeker katılan ortamda enfeksiyon oranının daha yüksek olması bu görüşümüzü desteklemektedir (Çizelge 4.8). Buna karşın, *Allium tuncelianum*'da tersi bir durum görülmüş ve enfeksiyon oranı %5'lik şeker dozunda daha yüksek olmuştur.

Yapılan araştırma çalışması ile ülkemize özgü 2 soğan çeşidi ile yine ülkemiz için endemik olan *Allium tuncelianum*'da gynogenezis yoluyla haploid bitki elde etmek hedeflenmiş, ancak daha önce başarılı olduğu belirtilen yöntemlerden beklenen sonuçlar deneme koşullarımızda alınamamıştır. Ancak yurt dışında soğan ıslah çalışmalarında aktif olarak kullanılan bu yöntemin ülkemiz ıslah programlarına katılması gerekmektedir. Bunun yanında ülkemiz soğan genotiplerinin haploidiye eğiliminin belirlenmesi de referans çeşitlerin ortaya konması açısından araştırmacılara yol gösterici olacaktır.

Allium tuncelianum (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da ise başlangıç ortamında çiçek tomurcuklarının gelişimi sağlanmış ve tomurcuklarının %55,28'inin kallus oluşturduğu tespit edilmiş, ancak bitkiye dönüşüm sağlanamamıştır. Dolayısıyla *Allium tuncelianum*'da bu konuda bilinmezliklerin fazla olduğu düşünülmekte ve ileride yapılacak çalışmalarda bu sorunların çözülmesi de hedeflenmektedir.

KAYNAKLAR

- Alan, A.R., Mutschler, M.A., Brants, A., Cobb, E. and Earle, E.D. 2003. Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* stearn, Plant Science Volume 165(6): 1201-1211.
- Alan, A.R., Brants, A., Cobb, E., Goldschmied, A., Mutschler, M.A. and Earle, E.D. 2004. Fecund gynogenic lines from onion (*Allium cepa* L.) breeding materials. Plant Science, Volume: 167(5): 1055-1066.
- Anonim. 2013a. TÜİK Bitkisel üretim istatistikleri. Web Sitesi: <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. Erişim Tarihi: 13.12.2013
- Anonim. 2013b. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkez Müdürlüğü. Web Sitesi: <http://www.ttsm.gov.tr/TR/belge/1-215/standart-tohumluk-kayitlistesisebze-cesitleri.html>. Erişim Tarihi: 13.12.2013
- Anonim. 2013c. Bayram Tohum. Web Sitesi: <http://www.bayramtohum.com/urunler-1>. Erişim Tarihi: 06.03.2013.
- Anonymous. 2013. FAO statistics division. Web Sitesi: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Erişim Tarihi: 13.12.2013
- Arumuganathan, K. and Earle, E.D. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species by flow cytometry, Plant Mol. Biol. Rep. 9: 208-218.
- Atanassov, A., Zagorska, N., Boyadjiev, P. and Djilianov, D. 1995. *In vitro* production of haploid plants. World Journal of Microbiology & Biotechnology, vol(11): 400-408.
- Bah, A.A., Wang, Z.D., Wang, X.Q, Yan, M.M., Um, Y.C., Xu, Z.X and Guo, D.P. 2012. *In vitro* plant regeneration from unpollinated ovaries of *Allium chinense*. Scientia Horticulturae 147: 105-110.
- Bekheet, S.A. 2004. Production of haploid plants of onion through *in vitro* gynogenesis. Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ.,Cairo,12 (2): 721-733.
- Bohanec, B., Jakse, M., Ihan, A. and Javornik, B. 1995. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants. Plant Science, 104: 215-224.

- Bohanec, B. and Jakse, M. 1999. Variations in gynogenic response among long-day onion (*Allium cepa* L.) accessions. Plant Cell Reports, 18: 737-742.
- Bohanec, B., Jakse, M. and Javornik, B. 2001. Present status of haploid induction in onion: analysis of procedure and its limitations. Acta Horticulturae, II International Symposium on Edible Alliaceae (ISHS), 555:91-98:
- Bohanec, B., Jakse, M. and Havey, M.J. 2003. Genetic analyses of gynogenetic haploid production in onion. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 128(4): 571-574.
- Bohanec, B. 2009. Doubled haploids via gynogenesis. Advances in haploid production in higher plants. Ed.: Forster, Brian P., Touraev, Alisher, Jain, S. Mohan, Springer Science Business Media B.V., Page: 35-46.
- Campion, B. and Alloni, C. 1990. Induction of haploid plants in onion (*Allium cepa* L.) by *in vitro* culture of unpollinated ovules. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 20: 1-6, Netherlands.
- Campion, B., Azzimonti, M.T., Vicini, E., Schiavi, M. and Falavigna, A. 1992. Advances in haploid plant induction in onion (*Allium cepa* L.) *in vitro* Gynogenesis. Plant Science, vol: 86(1): 97-104.
- Campion, B., Perri, E., Azzimonti, M.T., Vicini, E. and Schiavi, M. 1995. Spontaneous and induced chromosome doubling in gynogenic lines of onion (*Allium cepa* L.). Plant Breeding, Volume: 114(3): 243- 246.
- Chen, J.F., Cui, L., Malik, A.A. and Mbira, K.G. 2011. *In vitro* haploid and dihaploid production via unfertilized ovule culture. Plant Cell Tiss Organ Cult, Volume: 104, Pages: 311-319. DOI 10.1007/s11240-010-9874-6.
- Cho, K.S., Hong, S.Y., Yun, B.Y., Kwon, Y.S. and Huh, E.J. 2006. Production and analysis of doubled haploid lines in long-day onion (*Allium cepa*) through *in vitro* gynogenesis. Hort Environ. Biotechnol. 47(3): 110-116.
- Dunstan, D.I. and Short, K.C. 1997. Improved growth of tissue cultures of onion, *Allium cepa*. Physiol Plant. 41: 70-72.
- Ebrahimi, R. and Zamani, Z. 2009. Effect of polyamines on *in vitro* gynogenesis of onion (*Allium Cepa* L.) Am- Eurasian J. Sustain. Agric., 3(1): 71-75.
- Ellialtıoğlu, Ő., Sarı, N. ve Abak, K. 2001. Bitki biyoteknolojisi. Doku k¼lt¼r¼ ve uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s, Konya.

- Forodi, B.R., Hassandokht, M., Kashi, A. and Sepahvand, N. 2009. Influence of spermidine on haploid plant production in Iranian onion (*Allium cepa* L.) populations through *in vitro* culture. Horticulture Environment and Biotechnology, Vol: 50(5): 461-466.
- Forster, B.P., Bors, E.H., Kasha, K.J. and Touraev, A. 2007. The Resurgence of haploids in higher plants. Trends in Plant Science, vol: 12(8): 368-375.
- Galmarini, C. 1994. Onion Breeding in Argentina. Acta Hort. (ISHS) 358:205-210.
- Gemesne, J.A. and Martinovich, L. 1995. *In vitro* gynogenesis induction in Hungarian lines of onion (*Allium cepa* L.). Zoldsegtermesztési Kutató Intézet Bulletinje, Vol: 27(37-43).
- Geoffriau, E., Kahane, R. and Rancillac, M. 1997. Variation of gynogenesis ability in onion (*Allium cepa* L.). Euphytica 94: 37-44.
- Geoffriau, E., Kahane, R. and Tanguy, J.M. 2006. Polyamines are involved in the gynogenesis process in onion. Physiologia Plantarum, 127: 119-129.
- George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J. 2008. The components of plant tissue culture media II. Organic additions, osmotic and pH effects and support systems. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition, Chapter 4. P: 115-173.
- Grzebelus, E. and Adamus, A. 2004. Effect of anti-mitotic agents on development and genome doubling of gynogenic onion (*Allium cepa* L.) Embryos. Plant Science 167 (2004) 569-574.
- Hassandokht, M.R., Kashi, A., Campion, B. and Bozorgipour, R. 2000. Study of haploid production in Iranian onions (*Allium cepa* L.) via *in vitro* gynogenesis. Seed and Plant, 16(3): 300-312.
- Hassandokht, M.R. and Campion, B. 2002. Low temperature, medium and genotype effect on the gynogenic ability of onion (*Allium cepa* L.) flowers cultured *in vitro*. Advances in Horticultural Science, 16(N2), page: 1-7.
- Havey, M.J and Bohanec, B. 2007. Onion inbred line ‘B8667 A&B’ and synthetic populations ‘Sapporo-Ki-1 A&B’ and ‘Onion Haploid-1’. HortScience 42(7): 1731-1732.

- Ivchenko, T., Montvid, P. and Yarovoy, G. 2005. Influence of growing condition and the level on onion (*Allium cepa* L.) donor material on inducement frequency of gynogenic plants. Vegetable Crops Research Bulletin 62, Research Institute of Vegetable Crops, Skierniewice.
- Jakse, M. and Bohanec, B. 1994. Effect of media composition on gynogenesis of onion cultivars. Proceedings of the International Colloquium on Impact of Plant Biotechnology on Agriculture, edit by: Javornik, B., Bohanec, B., Kreft, I., Ljubljana (Slovenia), Nov 1994. p.: 35-41.
- Jakse, M., Bohanec, B. and Ihan, A. 1996. Effect of media components on the gynogenic regeneration of onion (*Allium cepa* L.) cultivars and analysis of regenerants. Plant Cell Reports. Vol: 15(2): 934-938.
- Jakse, M., Bohanec, B. and Havey, M.J. 2002. Genotypic and environmental effects on gynogenic haploid induction in onion. Meeting Abstract. Publisher: Faculty of Agriculture, Ain Shams University.
- Jakse, M., Havey, M.J. and Bohanec, B. 2003. Chromosome doubling procedures of onion (*Allium cepa* L.) gynogenic embryos. Plant Cell Reports, Volume: 21(9): 905-910.
- Javornik, B., Bohanec, B. and Campion, B. 1998. Second cycle gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.) and genetic analysis of the plants. Plant Breeding, 117(3): 275-278.
- Judkeviciene, D., Stanys, V. and Bobinas, E. 2005. Gynogenesis peculiarities of *Allium* L. vegetables grown in Lithuania. Bologija. No:3, P: 6-9.
- Keller, J. 1990a. Culture of unpollinated ovules, ovaries and flower buds in some species of the genus *Allium* and haploid induction via gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). Euphytica. 47: 241-247.
- Keller, J. 1990b. Results of anther and ovule culture in some species and hybrids in the genus *Allium* L. Archiv für Züchtungsforschung, vol: 20, no:3, page: 189-197.
- Keller, E.R.J. and Korzun, L. 1996. Haploidy in onion (*Allium cepa* L.) and other *Allium* species. *In vitro* haploid production in higher plants. Chapter. Edit: Jain SM, Sopory SK and Veilleuks RE, Kluwer Academic Publisher, Volume 3, p: 51-75. Netherlands.

- Kim, S., Yoo, K.S. and Pike, L.M. 2007. Production of doubled haploid onions (*Allium cepa*) and evaluation of their field performance. Hort. Environ. Biotechnol. 48(3): 143-147.
- Kurtar, E.S. 1999. Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) haploid embriyo uyartımı ve bitki oluşturma üzerinde araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Martinez, L.E., Agüero, C.B. and Galmarini, C.R. 1997. Obtention of haploid plants by ovaries and ovules culture in onion (*Allium cepa* L.). I. International Symposium on Edible Alliaceae. Acta Hort. (ISHS) 433:447-454.
- Martinez, L.E., Agüero, C.B., Lopez, M.E. and Galmarini, C.R. 2000. Improvement of *in vitro* gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines. Plant Science 156(2): 221-226.
- Michalik, B., Adamus, A., Samek, L. and Nowak, E. 2000. Gynogenesis in Polish onion cultivars: effect of temperature during donor plant growth. Biotechnological Approaches For Utilisation of Gametic Cells. COST 824: Final Meeting, Bled, Slovenia, 1-5 July 2000, pp. 91-94.
- Michalik, B. 2001. Haploidization of vegetable crops, Biotechnologia, number: 1, pages: 73-80.
- Michalik, B., Adamusa, A. and Nowak, E. 2003. Gynogenesis in Polish onion cultivars: gametic embryogenesis. Plant Science, vol: 165(6): 1201-1211.
- Mukhambetzhonov, S.K. 1997. Culture of nonfertilized female gametophytes *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48: 111-119.
- Muren, R. 1989. Haploid plant induction from unpollinated ovaries in onion. HortScience 24(5): 833- 834.
- Murovec, J. and Bohanec, B. 2012. Haploids and doubled haploids in plants breeding. Agricultural and Biological Sciences, Chapter 5, pages: 87- 106. Edited by Ibrokhim Y. Abdurakhmonov, ISBN 978-953-307-932-5.
- Musial, K., Bohanec, B. and Przywara, L. 2001. Embryological study on gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). Sex Plant Report, 13: (335-341).
- Musial, K., Bohanec, B., Jakse, M. and Przwara, L. 2005. The development of onion (*Allium cepa* L.) embryo sacs *in vitro* and gynogenesis induction in relation to flower size. In Vitro Cell. Dev. Biol-Plant, 41: 446-452.

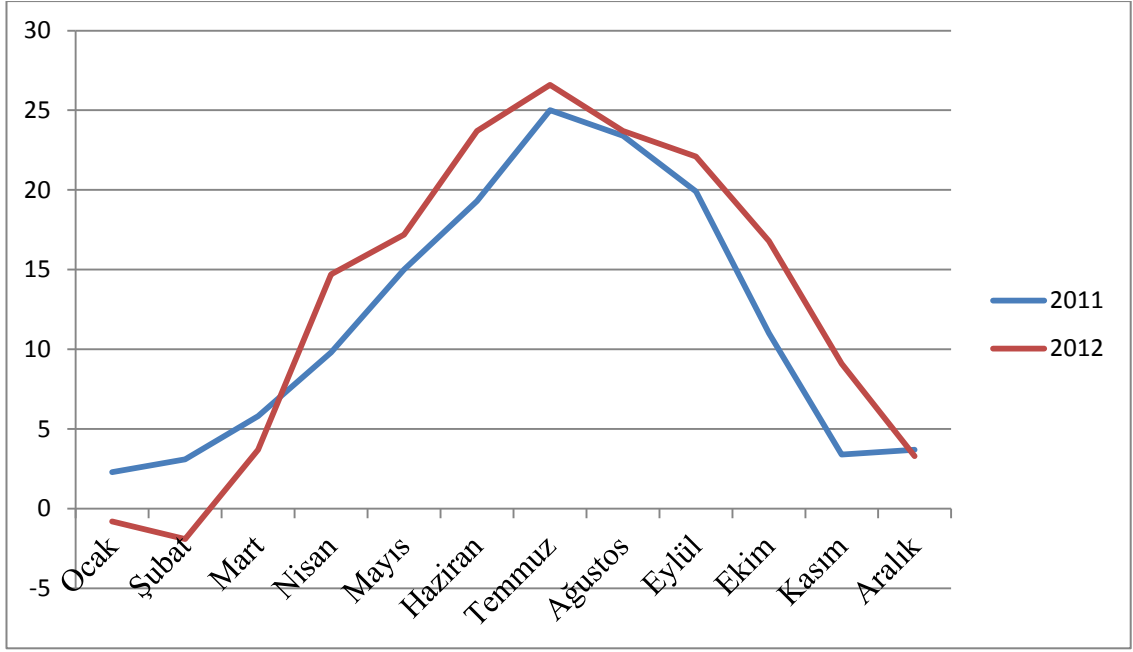
- Nowak, E. 2001. Gynogenic onion plants- studies on regeneration and diploidization. Biotechnological approaches for utilisation of gametic cells. Edit by: Bohanec, B. COST 824: Final Meeting, Bled, Slovenia, 1-5 July 2000, pp. 95-99.
- Özzambak, E. 1992. Pırasada ovaryum ve polen kültürü. Türkiye 1. Ulusal Bahçe Bitk. Kong., Bild., 13-16 Ekim 1992, İzmir. Cilt 11: 223–236.
- Palmer, C.E.D. and Keller, W.A. 2005. Overview of haploidy. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Haploids in Crop Improvement II (Ed. By Palmer CE, Keller WA and Kasha KH), Vol:56, pp:3-7.
- Paques, M. and Boxus P.H. 1987. " Vitrification": Review of literature. Acta Hort. (ISHS)212:155-166.
- Ponce, M., Martinez, L. And Galmarini, C. 2006. Influence of CCC, putresine and gellan gum concentration on gynogenic embryo induction in *Allium cepa*. Biologia Plantarum, 50(3): 425-428.
- Puddephat, I.J., Robinson, H.T., Smith, B.M. and Lynn, J. 1999. Influence of stock plant pretreatment on gynogenic embryo induction from flower buds of onion. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 57: 145-148.
- Reed, S.M. 2005. Haploid cultures, Plant Development and Biotechnology, Chapter 17. Pages: 225-234.
- Song, S.I., Cheong, J.J. and Choi, Y.D. 2007. Onion, garlic and related species. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 59. Transgenic Crops IV.
- Souri, N.A., Hassandokht, M.R. and Peyvast, G.H.A. 2007. Effect of different sugars on *in vitro* haploid plants production of Iranian onion landraces (*Allium cepa* L.). Iranian Journal of Agricultural Science, 38(3): 459-465.
- Sulistyaningsih, E., Tashiro, Y., Shigyo, M. and Isshiki, S. 1997. Morphological and cytological characteristics of haploid shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group). Bull. Fac. Agr. Saga Univ. No: 82, pp: 7-15.
- Sulistyaningsih, E., Yamashita, K. and Tashiro, Y. 2002. Haploid induction from F1 hybrids between CMS shallot with *Allium galanthum* cytoplasm and common onion by unpollinated flower culture. Euphytica 125: 139-144.

- Sulistyaningsih, E., Aoyagi, Y. and Tashiro, Y. 2006. Flower bud culture of shallot (*Allium cepa* L. *Aggregatum* group) with cytogenetic analysis of resulting gynogenic plants and somaclones. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 86: 249-255.
- Szulc, S.V., Pedzinski, M., Matuszak, W., Majchrzak, M. and Rubik, E. 2002. Gynogenesis ability in onion breeding at, Spojnia Ltd., Nochow. Number: 488, pages: 323-331.
- Tuncer, B. ve Yanmaz, R. 2007. Haploid bitki elde etme yollarından biri: mikrospor kültürü. *Alatarım*, 6 (2): 1-8.
- Tuncer, B. 2010. Farklı Uygulamaların lahanalarda mikrospor kültürü yoluyla embriyo uyarımına etkisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
- Yanmaz, R. ve Ermiş, S. 2005. Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* Kollman, Özhatay, Matthew, Şiraneci) tohumlarındaki çimlenme probleminin çözülmesi üzerine araştırma. Türkiye 2. Tohumculuk kongresi, Adana, s: 101-106.
- Yanmaz, R., Yazar, E., Kantoğlu, Y. and Alper, A. 2010. *In vitro* plant regeneration and bulblet formation of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Siraneci) By Shoot and Root Culture. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, Vol: 8(3&4): 572- 576 .
- Yaralı, F. ve Yanmaz, R. 2013. *Allium* türlerinin ıslahında haploidi tekniğinden yararlanma. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 6 (2): 44-50.
- Ziv, M. 1991. Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. *Micropropagation*, pp:45-69.

EKLER

- EK 1 2011 ve 2012 yıllarında araştırma yerine ait sıcaklık değişimi
- EK 2. Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (I.Dikim: 3 Mayıs 2011)
- EK 3 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (II.Dikim: 17 Mayıs 2011)
- EK 4 Yakut soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011)
- EK 5 Yakut soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (II. Dikim: 17 Mayıs 2011)
- EK 6 Bayram 1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011)
- EK 7 Bayram 1 soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011)
- EK 8 Bayram 1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü
- EK 9 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü
- EK 10 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü
- EK 11 *Allium tuncelianum* (Kollman) zhatay, Matthew, şiraneci)'da tomurcuk kültürü

EK 1 2011 ve 2012 yıllarında araştırma yerine ait sıcaklık değışimi



Kaynak: http://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme_26.11.2012

EK 2 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (I.Dikim: 3 Mayıs 2011)

Tomurcuk iriliği	Şeker dozu (%)	BDS Ortamı					B1 ortamındaki eksplant sayısı	EM ortamındaki bitki sayısı	Haploid bitki sayısı	Dış ortama aktarılan
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	108	222	218	98	45	0	0	0
		1-1	96	279	198	106	0	0	0	0
		1-2	124	140	214	139	111	3	0	0
		2-1	95	112	325	222	168	0	0	0
		2-2	114	136	289	212	117	29	0	16
	10	0-0	139	185	159	69	51	0	0	0
		1-1	160	173	165	72	42	0	0	0
		1-2	135	164	148	100	76	11	0	10
		2-1	111	132	255	203	153	8	0	3
		2-2	44	144	227	210	187	7	0	2
Orta (3- 4,5 mm)	5	0-0	104	240	212	68	31	0	0	0
		1-1	97	266	229	66	12	0	0	0
		1-2	113	218	261	95	44	5	0	0
		2-1	154	133	213	146	88	6	0	2
		2-2	104	135	337	230	136	14	0	8
	10	0-0	129	182	213	74	64	1	0	0
		1-1	127	229	207	97	19	0	0	0
		1-2	87	258	194	110	30	0	0	0
		2-1	136	148	301	205	91	0	0	0
		2-2	131	156	278	192	88	2	0	0

EK 3 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (II.Dikim: 17 Mayıs 2011)

Tomurcuk iriği	Şeker dozu (%)	BDS Ortamı					B1 ortamındaki eksplant sayısı	EM ortamındaki bitki sayısı	Haploid bitki sayısı	Dış ortama aktarılan bitki sayısı
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	98	169	187	124	83	0	0	0
		1-1	67	283	126	89	0	0	0	0
		1-2	121	165	133	92	64	0	0	0
		2-1	137	119	189	144	94	0	0	0
		2-2	112	134	202	151	104	0	0	0
	10	0-0	127	164	113	78	59	0	0	0
		1-1	121	92	198	169	137	0	0	0
		1-2	102	147	181	127	101	0	0	0
		2-1	97	135	257	201	118	0	0	0
		2-2	72	185	239	146	93	0	0	0
Orta (3- 4,5 mm)	5	0-0	125	225	91	54	0	0	0	0
		1-1	109	241	102	63	0	0	0	0
		1-2	69	281	163	79	0	0	0	0
		2-1	96	118	214	152	136	0	0	0
		2-2	113	120	227	163	117	0	0	0
	10	0-0	86	264	136	75	0	0	0	0
		1-1	93	257	125	59	0	0	0	0
		1-2	117	97	304	174	136	0	0	0
		2-1	101	64	328	216	185	0	0	0
		2-2	86	96	317	221	168	0	0	0

EK 4 Yakut soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011)

Tomurcuk iriği	Şeker dozu (%)	BDS Ortamı					B1 ortamındaki eksplant sayısı	EM ortamındaki bitki sayısı	Haploid bitki sayısı	Dış ortama aktarılan bitki sayısı
		Ortam bileşimi	Camstlaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	151	199	136	59	0	0	0	0
		1-1	142	136	198	123	72	0	0	0
		1-2	104	165	212	114	81	0	0	0
		2-1	82	181	310	158	87	1	0	0
		2-2	129	128	258	116	93	0	0	0
	10	0-0	101	249	138	27	0	0	0	0
		1-1	98	234	184	64	18	0	0	0
		1-2	110	240	202	38	0	0	0	0
		2-1	121	183	187	69	46	9	0	0
		2-2	86	264	193	29	0	0	0	0
Orta (3- 4,5 mm)	5	0-0	164	186	213	31	0	0	0	0
		1-1	123	166	269	78	61	0	0	0
		1-2	113	237	217	94	0	0	0	0
		2-1	82	120	318	213	148	0	0	0
		2-2	115	108	361	249	127	3	0	0
	10	0-0	80	270	154	87	0	0	0	0
		1-1	112	49	357	218	189	0	0	0
		1-2	81	106	298	179	163	4	0	0
		2-1	103	89	313	195	158	3	0	0
		2-2	97	93	341	241	160	4	0	0

EK 5 Yakut soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (II. Dikim: 17 Mayıs 2011)

omurecek iriliği	Şeker dozu (%)	BDS Ortamı					B1 ortamındaki eksplant sayısı	EM ortamındaki bitki sayısı	Haploid bitki sayısı	Dış ortama aktarılan bitki sayısı
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	128	222	117	0	0	0	0	0
		1-1	122	228	168	15	0	0	0	0
		1-2	139	211	87	3	0	0	0	0
		2-1	128	222	91	0	0	0	0	0
		2-2	89	261	124	21	0	0	0	0
	10	0-0	65	285	27	2	0	0	0	0
		1-1	76	274	65	6	0	0	0	0
		1-2	143	207	152	0	0	0	0	0
		2-1	91	243	201	47	16	0	0	0
		2-2	103	126	148	31	8	0	0	0
Orta (3- 4,5 mm)	5	0-0	84	266	81	0	0	0	0	0
		1-1	72	278	143	0	0	0	0	0
		1-2	91	250	211	56	9	0	0	0
		2-1	112	137	257	129	101	0	0	0
		2-2	142	105	315	141	103	0	0	0
	10	0-0	59	291	49	0	0	0	0	0
		1-1	83	267	78	2	0	0	0	0
		1-2	132	137	219	110	81	0	0	0
		2-1	78	222	311	137	50	0	0	0
		2-2	64	46	328	267	240	4	0	0

EK 6 Bayram 1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011)

Tomurcuk inliği	Şeker Dozu (%)	BDS Ortamı					B1 ortamındaki eksplant sayısı	EM ortamındaki bitki sayısı	Haploid bitki sayısı	Dış ortama aktarılan bitki sayısı
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	92	258	157	30	0	0	0	0
		1-1	78	272	196	31	0	0	0	0
		1-2	91	259	218	20	0	0	0	0
		2-1	123	181	314	100	46	1	0	0
		2-2	118	214	257	92	18	0	0	0
	10	0-0	129	221	187	8	0	0	0	0
		1-1	154	196	219	41	0	0	0	0
		1-2	121	229	259	37	0	0	0	0
		2-1	92	256	201	90	2	0	0	0
		2-2	127	214	213	111	9	0	0	0
Orta (3- 4,5 mm)	5	0-0	87	263	197	27	0	0	0	0
		1-1	72	278	214	75	0	0	0	0
		1-2	133	178	316	131	39	0	0	0
		2-1	129	221	241	76	0	0	0	0
		2-2	137	176	259	88	37	0	0	0
	10	0-0	74	276	312	89	0	0	0	0
		1-1	81	269	278	69	0	0	0	0
		1-2	143	207	291	41	0	0	0	0
		2-1	125	225	185	45	0	0	0	0
		2-2	93	257	247	66	0	0	0	0

EK 7 Bayram 1 soğan çeşidinde yumurtalık kültürü (I. Dikim: 3 Mayıs 2011)

Tomurcuk iriliği	Şeker dozu (%)	BDS Ortamı					B1 ortamındaki eksplant sayısı	EM ortamındaki bitki sayısı	Haploid bitki sayısı	Dış ortama aktarılan bitki sayısı
		Ortam bileşimi	Camsılaşma n (sayı)	Enfeksiyonlu u (sayı)	Şişme görülen n (sayı)	Kallus oluşturma n (sayı)				
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	112	196	157	98	42	0	0	0
		1-1	78	272	114	87	0	0	0	0
		1-2	82	268	136	89	0	0	0	0
		2-1	109	114	246	94	127	0	0	0
		2-2	105	117	281	117	128	0	0	0
	10	0-0	45	305	119	60	0	0	0	0
		1-1	97	253	164	69	0	0	0	0
		1-2	125	225	210	63	0	0	0	0
		2-1	116	234	263	55	0	0	0	0
		2-2	108	242	271	45	0	0	0	0
Orta (3- 4,5 mm)	5	0-0	94	256	126	30	0	0	0	0
		1-1	121	229	248	39	0	0	0	0
		1-2	118	208	251	54	24	0	0	0
		2-1	79	158	324	156	113	0	0	0
		2-2	99	192	341	151	59	0	0	0
	10	0-0	106	244	67	39	0	0	0	0
		1-1	82	268	249	90	0	0	0	0
		1-2	79	170	316	71	101	0	0	0
		2-1	131	196	261	98	23	0	0	0
		2-2	84	210	245	87	56	0	0	0

EK 8 Bayram 1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü

Dikim Zamanı	Tomurcuk İriliği	BDS Ortamı					B1 ortamına transfer edilen	EM ortamına transfer edilen	Haploid Bitki Sayısı	Dış ortama Aktarılan
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
1.Dikim	Küçük (2- 2,5 mm)	0-0	39	336	138	24	0	0	0	0
		2-1	145	228	216	97	2	0	0	0
		2-2	125	250	241	156	0	0	0	0
	Orta (3- 4,5 mm)	0-0	87	288	118	19	0	0	0	0
		2-1	117	258	237	161	0	0	0	0
		2-2	98	277	247	138	0	0	0	0
	Büyük (> 4,5 mm)	0-0	50	325	135	67	0	0	0	0
		2-1	57	318	315	114	0	0	0	0
		2-2	103	272	301	152	0	0	0	0
2.Dikim	Küçük (2- 2,5 mm)	0-0	0	375	116	75	0	0	0	0
		2-1	0	375	267	124	0	0	0	0
		2-2	0	375	286	136	0	0	0	0
	Orta (3- 4,5 mm)	0-0	0	375	214	81	0	0	0	0
		2-1	0	375	315	113	0	0	0	0
		2-2	0	375	139	68	0	0	0	0
	Büyük (> 4,5 mm)	0-0	0	375	124	54	0	0	0	0
		2-1	0	375	301	119	0	0	0	0
		2-2	0	375	259	176	0	0	0	0
3.Dikim	Küçük (2- 2,5 mm)	0-0	0	375	214	79	0	0	0	0
		2-1	0	375	227	157	0	0	0	0
		2-2	0	375	279	201	0	0	0	0
	Orta (3- 4,5 mm)	0-0	0	375	267	112	0	0	0	0
		2-1	0	375	238	98	0	0	0	0
		2-2	13	362	317	138	0	0	0	0
	Büyük (> 4,5 mm)	0-0	0	375	215	76	0	0	0	0
		2-1	0	375	304	111	0	0	0	0
		2-2	0	375	299	137	0	0	0	0

EK 9 Yakut soğan çeşidinde tomurcuk kültürü

Dikim Zamanı	Tomurcuk İriliği	BDS Ortamı					B1 ortamına transfer edilen	EM ortamına transfer edilen	Haploid Bitki Sayısı	Dış ortama Aktarılan
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)				
1.Dikim	Küçük (2- 2,5 mm)	0-0	2	373	117	29	0	0	0	0
		2-1	128	234	201	127	13	2	0	0
		2-2	30	345	234	186	0	0	0	0
	Orta (3- 4,5 mm)	0-0	4	371	87	68	0	0	0	0
		2-1	106	264	198	83	5	0	0	0
		2-2	0	375	224	160	0	0	0	0
	Büyük (> 4,5 mm)	0-0	7	368	187	138	0	0	0	0
		2-1	33	306	321	149	36	1	0	0
		2-2	6	338	296	174	31	0	0	0
2.Dikim	Küçük (2- 2,5 mm)	0-0	103	272	147	65	0	0	0	0
		2-1	114	261	306	215	0	0	0	0
		2-2	48	327	297	197	0	0	0	0
	Orta (3- 4,5 mm)	0-0	108	267	119	84	0	0	0	0
		2-1	59	316	300	202	0	0	0	0
		2-2	140	233	294	195	2	0	0	0
	Büyük (> 4,5 mm)	0-0	25	350	172	84	0	0	0	0
		2-1	15	360	327	210	0	0	0	0
		2-2	29	346	284	209	0	0	0	0
3.Dikim	Küçük (2- 2,5 mm)	0-0	0	375	197	33	0	0	0	0
		2-1	0	375	267	169	0	0	0	0
		2-2	0	375	314	154	0	0	0	0
	Orta (3- 4,5 mm)	0-0	0	375	319	163	0	0	0	0
		2-1	14	361	334	212	0	0	0	0
		2-2	28	347	307	204	0	0	0	0
	Büyük (> 4,5 mm)	0-0	0	375	197	90	0	0	0	0
		2-1	0	375	276	223	0	0	0	0
		2-2	21	354	319	232	0	0	0	0

EK 10 301-OH-SXN-1 soğan çeşidinde tomurcuk kültürü

Tomurcuk İriliği	Şeker Dozu (%)	BDS Ortamı						B1 ortamına transfer edilen	EM ortamına transfer edilen	Haploid Bitki Sayısı	Dış ortama Aktarılan
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)	Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)	Sürgün oluşturan (sayı)				
Orta (3-4,5mm)	5	0-0	69	306	196	58	0	0	0	0	0
		02.Oca	135	208	259	101	5	32	7	1	3
		02.Şub	126	170	233	105	8	79	9	0	0

EK 11 *Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)'da tomurcuk kültürü

Tomurcuk İriliği	Şeker Dozu (%)	BDS Ortamı			Şişme görülen (sayı)	Kallus oluşturan (sayı)	B1 ortamına transfer edilen	EM ortamına transfer edilen	Haploid Bitki Sayısı	Dış ortama Aktarılan
		Ortam bileşimi	Camsılaşan (sayı)	Enfeksiyonlu (sayı)						
Küçük (2- 2,5 mm)	5	0-0	36	464	366	122	0	0	0	0
		1-1	67	354	435	305	79	0	0	0
		1-2	83	366	421	237	51	0	0	0
		2-1	77	437	498	385	36	0	0	0
		2-2	67	354	476	405	129	0	0	0
	10	0-0	98	402	268	185	0	0	0	0
		1-1	95	357	379	199	48	0	0	0
		1-2	89	342	387	323	69	0	0	0
		2-1	156	320	459	277	74	0	0	0
		2-2	127	325	413	326	98	0	0	0

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Faika YARALI

Doğum Yeri : Yusufeli/ ARTVİN

Doğum Tarihi: 06.07.1981

Medeni Hali : Bekâr

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Erzurum Nenehatun Kız Lisesi (1996)

Lisans : Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (2001)

Yüksek Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (2005)

Çalıştığı Kurum/ kurumlar ve Yıl)

Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü (2009-....)

Yayımları (SCI ve diğer)

SCI Yayınlar

1. Kaymak, H.C., **Yaralı F.**, Güvenç I., and Dönmez M. F., 2008. The Effect of Inoculation with Plant Growth Rhizobacteria (PGPR) on Root Formation of Mint (*Mentha piperita* L.) Cuttings. African Journal of Biotechnology, 7(24):4479-4483.
2. Kaymak H.C., Güvenç İ., **Yaralı F.**, Dönmez M.F., 2009. The Effects of Bio-priming with PGPR on Germination of Radish (*Raphanus sativus* L.) Seeds Under Saline Conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 33(2): 173-179.

3. Kaymak, H.C., **Yaralı, F.** and Guvenc, I., 2009. Effect of transplant age on growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* var. italica). The Indian Journal of Agricultural Sciences, 79(12): 972-975.

Hakemli Dergi

1. **Yaralı, F.** and Yanmaz, R. 2012. *Allium* Türlerinin Islahında Haploidi Tekniğinden Yararlanma. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 6(2): 44-50

Uluslararası Kongreler

1. Arpacı B.B., Akıncı, İ.E., Kısakürek, M.N., Gözcü, D., **Yaralı, F.** and Candemir, S. 2014. Effect of Crop Rotation on Yield and Weed Density for Organic Red Pepper Cultivation in Kahramanmaraş. 49th Croatian & 9th International Symposium on Agriculture, 16-21 Şubat 2014, Croatia/Hırvatistan.(Abstract)
2. Arpacı B.B., Balıkçı, T., Gezginç, Y. And **Yaralı, F.** 2014 Morphological Characteristics and Quality Values of Kahramanmaraş Red Pepper Population. 49th Croatian & 9th International Symposium on Agriculture, 16-21 Şubat 2014, Croatia/Hırvatistan.(Abstract)

Ulusal Kongreler

1. **Yaralı, F.** ve Güvenç, İ. 2006. Farklı Dikim Zamanlarının Değişik Brokkoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) Çeşitlerinde Bitki Gelişmesi ve Verime Etkisi. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu, Kahramanmaraş. s: 309-314.
2. **Yaralı, F.**, Güvenç,İ., Kaymak, H.Ç. 2007. Fide Yaşının Değişik Brokkoli (*Brassica oleracea* L. var. Italica) Çeşitlerinde Kuru Madde Miktarı ve Verime Etkisi, V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Erzurum S: 140-143
3. Yanmaz, R. ve **Yaralı, F.** 2010. Türkiye’de Yetiştirilmekte Olan Süs Biberi (*Capsicum* SPP.) Genotiplerinin Toplanması, Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Süs Biberi Değeri Taşıyanların Belirlenmesi. IV. Süs Bitkileri Kongresi, MERSİN, s: 615-621.

4. Yanmaz, R., Tuncer, B. ve **Yaralı, F.** 2010. Çekirdek Kabağı (*Cucurbita pepo* L.) Melezlerinin Çerezlik Performanslarının Belirlenmesi. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, Van, 23-26 Haziran 2010, s: 235-240.
5. **Yaralı, F** ve Güvenç İ., 2010. Farklı Dikim Zamanlarının Değişik Brokkoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) Çeşitlerinde Kuru Madde Miktarı ve Verime Etkisi. VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu, Van, 23-26 Haziran 2010, s: 604-610.
6. Erkan, B., Arpacı, B.B., **Yaralı, F.** ve Güvenç, İ. 2011. Kilis İlinin Tarımsal Üretim ve İhracatının TRC1 Bölgesinin Ekonomik Gelişimine Katkısı. III. Ulusal Yerel Ekonomiler Kongresi, Konya, 26-28 Mayıs 2011, s: 192-206.
7. **Yaralı, F.**, Yanmaz, R., Akan, S. Ve Arpacı, B.B. 2011. Türkiye’de Sebze Tohum uygulamalarına Yönelik Araştırma Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Türkiye IV. Tohumculuk Kongresi- 14-17 Haziran, Samsun, s: 211-216.
8. Erkan, B., Arpacı, B.B., **Yaralı, F.** ve Güvenç, İ. 2011. Türkiye’nin Sebze İhracatındaki Rekabet Gücünün Açıklanmış Karşılaştırmalı Üstünlük Katsayıları Yardımıyla Ölçülmesi. Türkiye Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi- 04-08-Ekim 2011, Şanlıurfa(özet).
9. Arpacı, B.B, Balıkçı, T., Gezinç, Y ve **Yaralı, F.** 2012. Kahramanmaraş Kırmızıbiber Populasyonunun Morfolojik Özellikleri Ve Kalite Değerleri. 9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu, Konya.