

**FARKLI *MUSCARİ* TÜRLERİNDE *IN VITRO* SOĞANCIK ÜRETİMİ**

**Çiğdem Alev ÖZEL**

**DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2008  
ANKARA**

Çiğdem Alev ÖZEL tarafından hazırlanan FARKLI *MUSCARİ* TÜRLERİNDE *IN VITRO* SOĞANCIK ÜRETİMİ adlı bu tezin Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Fatma ÜNAL .....

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma ÜNAL .....

Biyoloji, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Orhan ARSLAN .....

Biyoloji Eğitimi, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN .....

Tarla Bitkileri, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Cafer SEVİMAY .....

Tarla Bitkileri, Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Deniz Yüzbaşıoğlu .....

Biyoloji, Gazi Üniversitesi

16.12.2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nail ÜNSAL .....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Çiğdem Alev ÖZEL

## FARKLI *MUSCARİ* TÜRLERİNİN *IN VITRO* SOĞANCIK ÜRETİMİ

(Doktora Tezi)

Çiğdem Alev ÖZEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2008

### ÖZET

Bu tez kapsamında *M. muscarimi* (endemik), *M. macrocarpum*, *M. neglectum* ve *M. adili* (endemik) türlerinin *in vitro* çoğaltımı çalışılmıştır. Eksplantlar, her türde farklılık göstermekle birlikte ikili pullar, *in vitro*'da elde edilen soğanların ikili pulları ve yaprak ayaları, farklı konsantrasyonlarda BAP-NAA, KIN-NAA ve TDZ-NAA içeren MS ortamında rejenerasyona alınmıştır. *M. muscarimi*'de en fazla soğan 19 adet ile 4 mg/l BAP–2 mg/l NAA içeren MS ortamında, en büyük çapa sahip soğanlar ise 1,24 cm ile 1 mg/l BAP–1 mg/l NAA içeren MS ortamında bulunmuştur. *M. macrocarpum*'da en fazla soğan eksplant başına 6 adetle 2 mg/l KIN–0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında görülmüştür. En büyük çaplar 1,39 cm'de 4 mg/l KIN –2 mg/l NAA içeren MS ortamından alınarak MS ortamına aktarılan soğanlarda gözlenmiştir. *M. neglectum*'da en fazla soğan 8,25 adetle 0,1 mg/l TDZ–2 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmişdir. Ancak; 0,47-0,48 cm ile en büyük çapa sahip soğanlar, 0,15 mg/l TDZ–0,5 ve 2 mg/l NAA içeren MS ortamında bulunmuştur. *M. adili*'de ise, en çok soğan 15,75 adet ile 4 mg/l BAP–0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmişdir. 1 mg/l BAP–1 ve 2 mg/l NAA içeren MS ortamında 0,58-0,54 cm'lik soğanlar en büyük çaplar olarak tespit edilmiştir. Elde edilen *M. muscari* soğanlarının köklendirmesi 1 mg/l IBA içeren MS ortamında, diğer 3 türün köklendirmesi ise MS besin ortamında yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda soğan üretim hızını artırarak bu soruna çözüm getirilebileceği düşünülmektedir.

**Bilim Kodu** : 203.1.048  
**Anahtar Kelimeler** : Endemik, tehlike altında, *M. muscarimi*, *M. macrocarpum*,  
*M. neglectum*, *M. adili*, *in vitro* çoğaltım, rejenerasyon,  
köklendirme, adaptasyon  
**Sayfa Adedi** : 181  
**Tez Yöneticisi** : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

***IN VITRO BULBLET PRODUCTION OF DIFFERENT MUSCARI SPECIES*****(Ph. D. Thesis)****Çiğdem Alev ÖZEL**

**GAZİ UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**  
**December 2008**

**ABSTRACT**

***M. muscarimi* (endemic), *M. macrocarpum*, *M. neglectum* and *M. adili* (endemic)** were studied in this thesis. Explants obtained from different species showed variable behavior; twin scales, twin scales from *in vitro* regenerated bulblets and lower portions of leaves were cultured on MS medium containing different concentrations of BAP-NAA, KIN-NAA and TDZ-NAA. The highest number of 19 bulbs were regenerated on MS medium containing 4 mg/l BAP-2mg/l NAA in *M. muscarimi*. The largest bulbs of 1,24 cm diameter were recorded on MS medium containing 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA. The maximum number of 6 bulbs were noted on MS medium containing 2 mg/l Kinetin-0,5 mg/l NAA in *M. macrocarpum*. The largest bulbs with 1,39 cm diameter were recorded on the bulblets cultured on the MS medium containing 4 mg/l Kinetin-2 mg/l NAA and transferred to MS medium. The highest number of 8,25 bulbs were recorded on 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA in *M. neglectum*. However, the largest bulbs with 0,47-0,48 cm diameter were recorded on MS medium containing 0,15 mg/l TDZ-0,5 and 2 mg/l NAA. Maximum number of 15,75 bulblets were regenerated on MS medium containing 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA in *M. adili*. The maximum diameter of 0,58-0,54 cm was noted down on MS medium containing 1 mg/l BAP-1 AND 2mg/l NAA. *M. muscarimi* bulbs were rooted on MS medium containing 1 mg/l IBA. The bulbs of other three species were rooted on MS medium. It is expected that the results of this study will help in increasing the production speed of the plants.

**Science Code : 203.1.048**  
**Key Words : Endemic, endangred, *M. muscarimi*, *M.macrocarpum*,  
*M.neglectum*, *M. adilii*, *in vitro* propagation, regeneration,  
rooting, acclimatization.**  
**Page Number : 181**  
**Adviser : Prof. Dr. Fatma ÜNAL**

## **TEŞEKKÜR**

Tez çalışmalarım sırasında her konuda beni destekleyen, tecrübe, bilgi ve önerileri ile yönlendiren, Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a; tez izleme komitesinde yer alarak çalışmalarımın her aşamasında yardım ve önerileriyle olduğu kadar, sonsuz hoşgörüleri ile destekleyen ve en önemlisi de yürekldiren Sayın Hocalarım Prof. Dr. Orhan ARSLAN ve Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN'a tezime yaptıkları katkılardan dolayı teşekkür ediyorum. Çalışmalarım boyunca bilgi ve görüşlerinden her zaman yararlandığım, çalışmalarımı yönlendirerek adeta bana ikinci danışmanlık yapan değerli hocam Doç. Dr. Khalid Mahmood Khawar'a ve laboratuvara çalışan tüm proje öğrencilerine, ayrıca doktora çalışmam boyunca maddi, manevi destekleri ile her zaman yanımda olan sevgili aileme en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	Ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xxii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	12
2.1. Kuramsal Temeller.....	12
2.1.1. Bitki materyalinin yüzey sterilizasyonu.....	12
2.1.2. Bitki üretimi.....	12
2.1.3. Bitki Doku Kültürü.....	14
2.2. Kaynak Araştırması.....	18
3. MATERİYAL VE METOT.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.1.1. Bitki Materyali.....	33
3.2. Metot.....	33
3.2.1. Soğan Yüzey Sterilizasyonu.....	33
3.2.2. Bitki Büyüme Ortamları ve Düzenleyicileri.....	34
3.2.3. Kültür Koşulları.....	35
3.2.4. <i>In vitro</i> Çalışmalar.....	36

	Sayfa
3.2.5. Adaptasyon.....	41
3.2.6 İstatistiksel Değerlendirmeler.....	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	42
4.1. <i>M. muscarimi</i> .....	42
4.1.1. <i>M. muscarimi</i> 'nin BAP-NAA içeren MS ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu.....	42
4.1.2. <i>M. muscarimi</i> 'nin KIN-NAA içeren MS ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu.....	75
4.2. <i>M. macrocarpum</i> .....	85
4.2.1. <i>M. macrocarpum</i> 'un BAP-NAA içeren MS ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu.....	85
4.2.2. <i>M. macrocarpum</i> 'un KIN-NAA içeren ortamlarda rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu.....	95
4.3. <i>M. neglectum</i> .....	105
4.3.1. <i>M. neglectum</i> 'un BAP-NAA içeren MS ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu.....	105
4.3.2. <i>M. neglectum</i> 'un TDZ-NAA içeren ortamlarda rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu.....	112
4.4. <i>M. adili</i> .....	119
4.4.1. <i>M. adili</i> BAP-NAA içeren ortamlarda rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu.....	119
4.4.2. <i>M. adili</i> TDZ-NAA içeren ortamlarda rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu.....	126
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	143
KAYNAKLAR.....	165
ÖZGEÇMIŞ.....	174

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Ülkemizde bulunan diğer <i>Muscari</i> türleri, yayılış alanları ve endemizm durumları.....	5
Çizelge 1.2.. Çiçek soğanlarının ihraç durumları.....	10
Çizelge 3.1. Murashige ve Skoog ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları.....	34
Çizelge 3.2. Kullanılan bitki büyümeye düzenleyicileri.....	35
Çizelge 3.3. <i>M. muscarini</i> n farklı BAP-KIN ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı.....	36
Çizelge 3.4. <i>M. macrocarpum</i> 'un farklı BAP-KIN ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı.....	37
Çizelge 3.5. <i>M. neglectum</i> 'un farklı BAP, TDZ ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamları.....	38
Çizelge 3.6. <i>M. adilii</i> 'nin farklı BAP-TDZ ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı.....	39
Çizelge 3.7. Farklı oksin ve MS oranlarında köklendirme.....	40
Çizelge 4.1. BAP-NAA içeren MS besin ortamında iki hafta sonunda <i>M. muscarini</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyon hızına ait varyans analizi .....	42
Çizelge 4.2. BAP-NAA içeren MS besin ortamında iki hafta sonunda <i>M. muscarini</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyon hızına ait Tukey's b testi.....	43
Çizelge 4.3. BAP-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda <i>M. muscarini</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	43
Çizelge 4.4. 10 hafta sonunda <i>M. muscarini</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	44

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.5 <i>M. muscarimi</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	46
Çizelge 4.6 <i>M. muscarimi</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukeys b testi.....	46
Çizelge 4.7 12 hafta sonunda <i>M. muscarimi</i> primer soğanlarının 1. alt kültür sonuçlarına ait varyans analizi.....	49
Çizelge 4.8 12 Hafta Sonunda <i>M. muscarimi</i> primer soğanlarının rejenerasyonunun 1. alt kültüre ait Tukey's b testi.....	50
Çizelge 4.9 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının köklendirilmesine ait varyans analizi.....	51
Çizelge 4.10 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının köklendirilmesine ait Tukey's b testi .....	52
Çizelge 4.11. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında <i>M. muscarimi</i> pul yapraklarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmesine ait varyans analizi.....	54
Çizelge 4.12 BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında <i>M. muscarimi</i> pul yapraklarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	55
Çizelge 4.13 BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen <i>M. muscarimi</i> soğanların sekizhafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait varyans analizi.....	58
Çizelge 4.14 BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen <i>M. muscarimi</i> soğanların sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait Tukey's b testi.....	58
Çizelge 4.15 4 mg/l BAP- 2mg/l NAA içeren MS ortamındaki <i>M. muscarimi</i> soğanlarının farklı oranlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait varyans analizi .....	60

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.16 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdaki <i>M. muscarimi</i> soğanlarının farklı oranlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait Tukey's b testi.....	60
Çizelge 4.17 <i>In vitro</i> da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının ikili pullarından elde edilen adventif soğan oluşumuna ait varyans analizi .....	62
Çizelge 4.18 <i>In vitro</i> da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının ikili pullarından elde edilen adventif soğan oluşumuna ait Tukey's b testi.....	62
Çizelge 4.19 <i>In vitro</i> da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait varyans analizi.....	63
Çizelge 4.20 <i>In vitro</i> da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	64
Çizelge 4. 21 <i>M. muscarimi</i> <i>in vitro</i> soğan pul yapraklarından elde edilen köklü soğanların toprağa alışırlmasına ait varyans analizi .....	65
Çizelge 4.22 <i>M. muscarimi</i> <i>in vitro</i> soğan pul yapraklarından elde edilen köklü soğanların toprağa alışırlmasına ait Tukey's b testi.....	66
Çizelge 4.23. <i>In vitro</i> 'da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının yaprak ayalarından soğan üretimine ait varyans analizi.....	68
Çizelge 4.24. <i>In vitro</i> 'da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarından kesilen yaprak ayalarından soğan üretimine ait Tukey's b testi.....	69
Çizelge 4.25. <i>M. muscarimi</i> soğanlarının yaprakayalarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait varyans.analizi .....	70
Çizelge 4.26. <i>M. muscarimi</i> soğanlarının yaprak ayalarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	71
Çizelge 4.27. 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilen 0,1 cm'lik <i>M. muscarimi</i> soğanlarının	

Çizelge	Sayfa
rejenerasyonu ve çap artışına ait varyans analizi .....	73
Çizelge 4.28. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilen 0,1 cm'lik <i>M. muscarimi</i> soğanlarının rejenerasyonu ve çap artışına ait Tukeys b testi.....	73
Çizelge 4.29. 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında çapı artırılmış <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait varyans analizi.....	74
Çizelge 4.30. 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında çapı artırılmış <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukeys b testi.....	74
Çizelge 4.31 KIN-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda <i>M. muscarimi</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	76
Çizelge 4.32. KIN-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda <i>M. muscarimi</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	76
Çizelge 4.33. <i>M. muscarimi</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	77
Çizelge 4.34. <i>M. muscarimi</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	78
Çizelge 4.35. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1mg/l IBA içeren MS ortamda köklendirilmesine ait varyans analizi.....	80
Çizelge 4.36. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	81
Çizelge 4.37. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait varyans analizi .....	82
Çizelge 4.38. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen <i>M. muscarimi</i>	

Çizelge	Sayfa
soğanların toprakta sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişimlerine ait Tukey's b testi.....	83
Çizelge 4.39. BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda <i>M. macrocarpum</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	85
Çizelge 4.40. BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda <i>M. macrocarpum</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	86
Çizelge 4.41. <i>M. macrocarpum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	87
Çizelge 4.42. <i>M. macrocarpum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanlarının BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	88
Çizelge 4.43. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınan <i>M. macrocarpum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi .....	90
Çizelge 4.44. BAP-NAA içeren besin ortamından alınan <i>M. macrocarpum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	91
Çizelge 4.45. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen <i>M. macrocarpum</i> soğanların sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait varyans analizi .....	93
Çizelge 4.46. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen <i>M. macrocarpum</i> soğanların sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait Tukey's b testi.....	93
Çizelge 4.47. KIN-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda <i>M. macrocarpum</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	95
Çizelge 4.48. KIN-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda <i>M. macrocarpum</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	96

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.49. <i>M. macrocarpum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	97
Çizelge 4.50. <i>M. macrocarpum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	97
Çizelge 4.51. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan <i>M. macrocarpum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi .....	100
Çizelge 4.52. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan <i>M. macrocarpum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait Tukey's b analizi sonuçları.....	101
Çizelge 4.53. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen <i>M. macrocarpum</i> soğanların sekiz hafta sonunda toprakta yeni çıkan köklerin gelişmelerine ait varyans analizi.....	102
Çizelge 4.54. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen <i>M. macrocarpum</i> soğanların 8 hafta sonunda toprakta yeni çıkan köklerin gelişmelerine ait Tukey's b testi.....	103
Çizelge 4.55. Sekiz hafta sonunda BAP-NAA içeren MS besin ortamında <i>M. neglectum</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	105
Çizelge 4.56. Sekiz hafta sonunda BAP-NAA içeren MS besin ortamında <i>M. neglectum</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	105
Çizelge 4.57. <i>M. neglectum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	107
Çizelge 4.58. <i>M. neglectum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	108
Çizelge 4.59. Tüm BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında elde edilen <i>M. neglectum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi .....	109

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.60. Tüm BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında elde edilen <i>M. neglectum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	110
Çizelge 4.61. TDZ-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda <i>M. neglectum</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	112
Çizelge 4.62. TDZ-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda <i>M. neglectum</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	113
Çizelge 4.63. <i>M. neglectum</i> pul yapraklardan elde edilen primer soğanların TDZ-NAA içeren MS besin ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	114
Çizelge 4.64. <i>M. neglectum</i> soğanlarının ikili pul yapraklarından edilen primer soğanların TDZ-NAA içeren MS besin ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	115
Çizelge 4.65. TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan <i>M. neglectum</i> ikili pullarının 1. alt kültürüne ait varyans analizi.....	118
Çizelge 4.66. TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan <i>M. neglectum</i> ikili pullarının 1. alt kültürüne ait Tukey's b testi.....	118
Çizelge 4.67. BAP-NAA içeren MS besin ortamında hafta sonunda <i>M. adilii</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	119
Çizelge 4.68. BAP-NAA içeren MS besin ortamında hafta sonunda <i>M. adilii</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	120
Çizelge 4.69. <i>M. adilii</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	121
Çizelge 4.70. <i>M. adilii</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanların rejenerasyonuna ait Tukey's b . testi.....	122
Çizelge 4.71. BAP-NAA içeren besin ortamında oluşan <i>M. adilii</i> ikili pulların 1. alt kültürüne ait varyans analizi .....	125
Çizelge 4.72. BAP-NAA içeren besin ortamında oluşan <i>M. adilii</i> ikili pulların 1. alt kültürüne ait Tukey's b testi.....	126

Çizelge		Sayfa
Çizelge 4.73.	TDZ-NAA içeren MS besin ortamında hafta sonunda <i>M. adilii</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	127
Çizelge 4.74.	TDZ-NAA içeren MS besin ortamında hafta sonunda <i>M. adilii</i> ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait Tukey's b testi.....	127
Çizelge 4.75.	<i>M. adilii</i> pul yapraklardan elde edilen primer soğanların rejenerasyonu sonuçlarına ait varyans analizi.....	128
Çizelge 4.76.	<i>M. adilii</i> pul yapraklardan elde edilen primer soğanların rejenerasyonu sonuçlarına ait Tukey's b testi .....	129
Çizelge 4.77.	Sekiz hafta sonunda <i>M.adilii</i> primer soğanlarının 1. alt kültür sonuçlarına ait varyans analizi .....	130
Çizelge 4.78.	Sekiz hafta sonunda <i>M.adilii</i> primer soğanlarının 1. alt kültür sonuçlarına ait Tukey's b testi.....	132
Çizelge 4.79.	TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında <i>M. adilii</i> pul yapraklarından elde edilen soğanların MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi .....	135
Çizelge 4.80.	TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında <i>M. adilii</i> pul yapraklarından elde edilen soğanların MS'de köklendirilmesine ait Tukey's b testi.....	136
Çizelge 4.81.	TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan <i>M. adilii</i> ikili pullarının 1. alt kültürüne ait varyans analizi.....	138
Çizelge 4.82.	TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan <i>M. adilii</i> ikili pullarının 1. alt kültürüne ait Tukey's b testi.....	139
Çizelge 4.83.	<i>M.adilii</i> soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait varyans analizi.....	141
Çizelge 4.84.	<i>M.adilii</i> soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait Tukey's b testi.....	141

## RESİMLERİN LİSTESİ

Resim		Sayfa
Resim 4.1.	BAP-NAA içeren MS besin ortamında <i>M. muscarimi</i> ikili pul yapraklarının rejenerasyonu.....	45
Resim 4.2.	<i>M. muscarimi</i> 'nin 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS ortamında sekonder soğan gelişimi.....	47
Resim 4.3.	BAP-NAA içeren MS besin ortamında <i>M. muscarimi</i> ikili pul yapraklardan elde edilen primer soğanların rejenerasyonu ve 1. alt kültürü.....	48
Resim 4.4.	1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının farklı oksin ve MS konsantrasyonlarında köklendirilmesi.....	53
Resim 4.5.	BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında pul yapraklardan elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	56
Resim 4.6.	<i>M. muscarimi</i> soğanlarının dış ortama alıstırılması.....	57
Resim 4.7.	BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak IBA'da köklendirilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının toprağa alıstırılmasından 8 hafta sonraki kök durumu.....	59
Resim 4.8.	4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdaki <i>M. muscarimi</i> soğanlarının farklı oranlarda sukroz içeren ortamlara alınması.....	61
Resim 4.9.	<i>In vitro</i> 'da elde edilen <i>M. muscarimi</i> soğanlarının pul yapraklarından soğan oluşumu.....	67
Resim 4.10.	<i>M. muscarimi</i> soğanlarının yaprak ayalarından elde edilen soğanlar ve köklenmeleri.....	72
Resim 4.11.	<i>In vitro</i> ortamda elde edilen 0,1 cm'lik <i>M. muscarimi</i> soğanlarının 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamında rejenerasyonu.....	75
Resim 4.12.	<i>M. muscarimi</i> 'nin KIN-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu.....	79

Resim	Sayfa
Resim 4.13. <i>M. muscarimi</i> soğan pul yapraklarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi ve adaptasyonu.....	84
Resim 4.14. <i>M. macrocarpum</i> 'un BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda rejenerasyonu.....	87
Resim 4.15. <i>M. macrocarpum</i> pul yapraklarından elde edilen primer soğanlarının BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonu.....	89
Resim 4.16. <i>M. macrocarpum</i> BAP-NAA içeren ortamlardan alınan soğanların MS'de köklendirilmesi.....	92
Resim 4.17. <i>M. macrocarpum</i> soğanlarının MS'de köklendirilmesi ve adaptasyonu.....	94
Resim 4.18. <i>M. macrocarpum</i> 'un KIN-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu.....	99
Resim 4.19. <i>M. macrocarpum</i> 'un KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilmesi.....	104
Resim 4.20. <i>M. neglectum</i> 'un BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklendirme ve adaptasyonu.....	111
Resim 4.21. <i>M. neglectum</i> 'un TDZ-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklenme ve adaptasyonu.....	116
Resim 4.22. <i>M. neglectum</i> Sekonder soğanlarının yaprak ayalarından kallus oluşumu ve bunların üzerinden yeni çıkan sekonder soğanlar.....	117
Resim 4.23. <i>M. adili</i> BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklenme ve adaptasyonu.....	124
Resim 4.24. <i>M. adili</i> 'nin TDZ-NAA içeren ortamında rejenerasyon köklenme ve adaptasyon.....	134
Resim 4.25. <i>M. adili</i> 'nin TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında elde edilen soğanların MS içeren ortamda köklendirilmesi.....	137
Resim 4.26. <i>M. adili</i> 'nin TDZ-NAA içeren besin ortamında ikili pul	

<b>Resim</b>		<b>Sayfa</b>
yaprakların 1. alt kültürü.....		140
Resim 4.27. <i>M. adilii</i> soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınması.....		142

## SİMGELER ve KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
<b>cm</b>	Santimetre
<b>°C</b>	Santigrat derece
<b>d</b>	Dakika
<b>g</b>	Gram
<b>kg/cm<sup>2</sup></b>	Kilogram santimetre kare
<b>l</b>	Litre
<b>ml</b>	Mili litre
<b>N</b>	Normal
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>%</b>	Yüzde
<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>BAP</b>	6-Benzilaminopurin
<b>CITES</b>	Nesli tehlike altındaki olan yabani hayvan ve bitki türlerinin uluslararası ticaretine ilişkin sözleşme
<b>CR</b>	Nesli tükenme tehditi altında
<b>EN</b>	Nesli tehlike altında
<b>HCl</b>	Hidroklorik asit
<b>IBA</b>	Indol 3-butirik asit
<b>IUCN</b>	Doğa ve doğal kaynaklarının korunması için uluslararası birlik

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>KIN</b>	Kinetin (6 Furfurylaminopurin)
<b>MS</b>	Murashige ve Skoog temel besin ortamı
<b>NaOH</b>	Sodyum hidroksit
<b>PPM</b>	Bitki koruma karışımı
<b>S.D</b>	Serbestlik derecesi
<b>TDZ</b>	Thridiazuran (1 Phenil 3-(1,2,3,-thidiazol 5yL urea)
<b>V.K</b>	Varyasyon kaynakları

## 1. GİRİŞ

Türkiye, kuzeyde Orta Avrupa'nın soğuk ve yağışlı iklimi, batıda Akdeniz iklimi doğuda Orta Asya'nın kara iklimi ve güneyde ise sıcak ve kurak bir çöl ikliminin etkisi altında kalan bir bitki coğrafyasının karşılaştığı çok özel bir kuşaktadır. Türkiye'deki bitki örtüsünün zenginliği; jeolojik çağlar boyunca geçirdiği değişiklikler ve yüzey şekillerinden kaynaklanmaktadır. Türkiye bu iklim ve toprak çeşitliliği sayesinde, yabani olarak yetişen bitki türleri açısından oldukça zengindir. Türkiye florası 11 014 tohumlu bitki türünden oluşurken [Güner ve ark., 2000], bunların 3 000 kadarı Türkiye'ye endemikdir. Bu durum Avrupa ile kıyaslandığında Avrupa Kıtası'nda yaklaşık olarak 12 000 bitki türü bulunmaktadır. Endemiklerinin toplamı ise ancak 2 750 kadardır. Endemik bitki bakımından en zengin ülke olan Yunanistan'da bile bu değer 800-1 000 arasındadır [Ekim ve ark., 2000].

Zengin Türkiye Florası'nda 800'den fazla "geofit" bulunmaktadır [Davis, 1984; Davis, 1988; Güner ve ark., 2000]. Geofit (=Geophyta), latince bir kelime olup "yer" anlamına gelen "geo" ile, bitki anlamına gelen "phyta" kelimelerinin birleşmesiyle meydana gelmiş "yer bitkileri, gizli bitkiler" anlamındadır. Bu bitkilerin gövdeleri; soğan, yumru veya rizom şeklinde metamorfoza uğramış olup, toprak seviyesinin altında bulunmaktadır. Patates gibi uzunca olanlara rizom, yemeklik soğan gibi yuvarlak ve etli katmanlardan veya pullardan oluşanlara soğan, mantar şapkası gibi yassı ve yuvarlakça olanlara korm adı verilmektedir. Geri kalamı ise etli kökler ve bazen saçaklara ayrılmıştır ki, bunlara da yumru adı verilmektedir.

Metamorfoza uğramış bu gövdelerden biri olan soğan; bitkiyi oluşturmak için gerekli besinleri ve nemi içinde barındıran, bitkiyi soğuktan ve kuru hava koşullarından koruyan bir barınak olarak görev yapmaktadır. Bu barınağın içinde bitki oluşmakta, buradan toprak üstüne çıkarak, yeserip, çiçek açmakta, daha sonra tohumlarını bırakarak büyümeye mevsimini tamamlandıktan sonra sararıp solmaktadır. Ancak, toprak altındaki soğan yaşamını sürdürmeye devam etmektedir. Soğanlı bitki toprak altında bir süre uykuya düşmeye girip dinlendikten sonra, bir sonraki büyümeye mevsimine yetişecek şekilde, toprak altından toprak yüzeyine çıkarak gün ışığına

ulaşacak olan bitkiyi içinde oluşturmaya başlamaktadır. [De Hertogh, 1989, De Hertogh ve ark., 1990].

Türkiye florası diğer bitkiler yönünden olduğu gibi doğal çiçek soğanları yönünden de oldukça zengin olup, yaklaşık 5 000 kadar soğanlı, yumrulu ve rizomlu geofit türlerinin anavatanıdır. Türkiye geofitlerinin büyük kısmı Zambakgiller (*Liliaceae*), Nergisgiller (*Amaryllidaceae*) ve Süsengiller (*Iridaceae*) familyalarında yer alırlar ve bu familyalar endemik türler bakımından da oldukça zengindir.Çoğu daha ziyade Toros Dağları, Batı Anadolu ve Kuzeydoğu Anadolu bölgelerinde yayılım göstermektedir [Davis, 1984]. Bu geofitlerin yaklaşık 500 kadarı soğanlı bitkidir. Kozmopolit olan *Liliaceae* familyası 250 cins ve 3 500 kadar tür içermektedir. Türkiye'de *Amarylliadaceae* dahil 44 cins ve 426 türü bulunmaktadır [Seçmen ve ark., 1995].

Bu tez kapsamında çalışılan soğanlı bitkiler *Liliaceae* familyasındandır. Bitkilerin morfolojisi çok yıllık otsu, nadiren de odunsu çalışmaları şeklindedir. Gövde dik ve tırmanıcıdır. Yapraklar linear-lanceolat, kaideye veya gövdede alternat dizilişlidir. Çiçekler rasemus, tek veya kimöz durumunda, erdişi, aktinomorf veya zayıf zigomorfstur. Periant iki dairede serbest veya altı parçalı, parçalar birbirine benzer bazen gösterişli korona vardır, bazen de yoktur. Stamenler altı, nadiren 12, 13 tanedir. Pistil 1, ovaryum alt veya orta durumlu üç (1) lokuslu ve karpellidir. Ovuller çok sayıda mesela 3 lokuslu ise, plasentasyon eksensel, tek lokuslu ise plasentasyon peritelidir. Meyve septisid veya lokulusit, kapsula nadiren bakkadır [Seçmen ve ark., 1995].

Birçoğunu endemiklerin oluşturduğu bu familyaya dâhil cinslerden birisi monokotil bir bitki olan *Muscari*'dir. Soğanlı çok yıllık otsu bitkilerden oluşan *Muscari* cinsinde yapraklar kaideye 2 - 7 adet olup, *Muscari* bitkilerinde yaz sonunda sararma görülmektedir. Çiçekler üçlü rasemus veya spika durumundadır, en tepedeki çiçekler genellikle verimsizdir. Periant; urseolat veya kampanulat şeklinde olmaktadır. Soğanlar etli kalın, rasem yoğun ve etli sulu, çiçekler fertil kuvvetli kokulu oblong-urseolat yukarıda iyice daralmaktadır. Antesisten sonra sarı ya da grimsi beyaz, sert kahverengi altı loblu korolla aşağıda küçük terminal dişli olmaktadır. Steril çiçekler

az ince ve menekşe renkli ya da değildir. Kapsül geniş, yarı saphı iyice basık, kanat benzeri valvli dağıldığında açılmamaktadır [Seçmen ve ark., 1995].

Yerel adları dağ sümbülü, müşkülüüm, sümbül arap otu, arap sümbülü, camış memesi (Erzurum), camız memesi, gâvur soğanı (Elmalı-Antalya), morbaş, yalancı sümbülüdür [Baytop, 1997]. Çoğu kokulu olan *Muscari* türlerinde beyaz, mavi, mor, yeşil-mavi ve sarı renk çiçeklere rastlanmaktadır. Bahçe bitkisi olarak yararlanılacak *Muscari* için özel koşullar gerekmektedir [De Hertogh, 1989, De Hertogh ve ark. 1990]. *Muscari*, şubattan haziran sonuna kadar çiçeklenmektedir [Bailey, 1950]. *Muscari* soğanlarında dormansi bulunmamaktadır, buna rağmen tohumdan elde edilen bitkilerden ancak 4-5 yıl sonra çiçeklenme olmaktadır. Fakat yavru soğanların gelişmesiyle oluşan bitkilerde çiçeklenme 1-2 yıl sonunda görülebilmektedir [De Hertogh ve ark. 1990].

*Muscari* bitkisinin anavatanının Akdeniz bölgesi, Güney Asya ve Orta Asya olduğu düşünülmektedir [Chittenden, 1956; Van Scheepen, 1991]. *Muscari* cinsinde 65 den fazla tür bulunmasına rağmen *Muscari alpinum*, *M. armeniacum*, *M. azureum*, *M. botryoides*, *M. comosum*, *M. latifolium*, *M. moschatum*, *M. rasemosum*, *M. szovitsianum* ve *M. tubergenianum* [Bailey, 1950, Chittenden, 1956, De Hertogh ve ark., 1990, PVB/ BKD, 1991, Van Scheepen, 1991] türlerinin kültürü yapılmaktadır. Genel olarak *Muscari* üretimi ana soğanın bazal tabakasından gelişen küçük soğancıklar ile yapılmaktadır [Langeslang, 1989]. Ancak bazı türler tohumdan da üretilibilmektedir. Soğandan üretim yapmak için temmuz ve ağustosta soğanları topraktan söküp bazal tabakaya bitişik gelişen soğanların ayrılması gerekmektedir [Saniewski, 1977a]. Bu türlerin üretiminde özel toprak gerekmemektedir. Ancak, geçirgen topraklarda daha iyi gelişmektedirler.

*Muscari*'nın ticari üretimi Hollanda merkezlidir [PVB/ BKD, 1991]. Dayanıklı bir bitki olması nedeniyle Kuzey Amerika'da da 4-10. klimatik bölgede ticari amaçlı kolayca yetiştirilebilmektedir [De Hertogh ve ark., 1990]. Genel olarak *Muscari* üretimi, kesme çiçek veya bahçe çiçeği şeklindedir. Üretim amacı kesme çiçek ise, soğanların büyük olması gerekmektedir. Üretim amacı bahçe çiçeği ise küçük

soğanlar da kullanılabilmektedir. *Muscari* türleri kayalık alanlardaki bahçelerde ve çit bitkisi olarak ağaçlarla ve çalılarla birlikte kullanılabilmektedir.

Elde edilen soğanların bir sonraki yıl kullanılabilmesi için depolamaya özen gösterilmelidir. Özellikle hastalıklar ve böceklerden korumak için soğanların zedelenmemesi gerekmektedir. Aksi takdirde soğanlar zarar görerek çoğaltımda zorluklarla karşılaşmaktadır [Hogue, 1988]. Ayrıca, *Muscari* soğanlarının depolanması sırasında çürümelerini engellemek amacıyla etilen içermeyen ortamlarda depolanması gerekmektedir.

Türkiye'de doğal olarak yetişen 20 *Muscari* türü [Davis 1984] bulunmaktadır. Bu sayıya 1984'den sonra 5 yeni tür daha eklenmiştir. Bunlar; *M. sandrasicum* Sandras Dağı (Muğla)'nda [Karlen, 1987], *M. mcbeathianum* Yalak (Adana)'ta [Tan, 1988], *M. mirum* Çameli (Denizli) ve Dirmil (Burdur)'de, [Speta, 1989], *M. anatolicum* ise İçel'de [Cowley ve Özhatay, 1994] ve *M. adilii* Doğandede Tepesi, Beypazarı (Ankara)'nda [Güner ve Duman, 1999]. Çizelge 1'de Türkiye'de bulunan diğer *Muscari* türleri, yayılış alanları ve endemizm durumları verilmiştir.

Çizelge 1.1. Türkiye'de bulunan diğer *Muscari* türleri, yayılış alanları ve endemizm durumları

Tür	Endemizm	Türkiye Dağılımı	Türkiye Dışı Dağılımı
<i>M. muscarimi</i>	+	Güney Batı Anadolu	-
<i>M. macrocarpum</i>	-	Güney Batı Anadolu	Güney Doğu Yunanistan, Ege
<i>M. comosum</i>	-	Türkiye	Güney Batı ve Orta Avrupa, Akdeniz Ülkeleri, Batı Suriye, İran, Arabistan, Kafkasya
<i>M. weissii</i>	-	Güney Batı Anadolu	GD. Yunanistan ve Ege
<i>M. caucasicum</i>	-	Karasal Anadolu	Kafkasya, Batı., Kuzey Batı ve Kuzey İran
<i>M.tenuiflorum</i>	-	Türkiye	Orta ve Güney Doğu Avrupa, Rusya, Kafkasya, Batı Suriye, Kuzey Irak, Batı İran
<i>M. longipes</i>	-	Karasal Anadolu	Kafkasya, Batı Suriye, Kuzey Irak, İran
<i>M.massayanum</i>	+	Güney ve Doğu Anadolu	-
<i>M.aucherii</i>	+	Dış ve Orta Anadolu	-
<i>M.armeniacum</i>	-	Türkiye	Bulgaristan, Yunanistan, Kafkasya, Kuzey Batı İran
<i>M. neglectum</i>	-	Türkiye	Kuzey Afrika, Güney Doğu İngiltere, Orta Rusya, Batı Suriye, Kıbrıs, Kafkasya, İran
<i>M. discolor</i>	+	Doğu Anadolu	-
<i>M.inconstrictum</i>	-	Güney Anadolu	Kıbrıs, Batı Suriye, Kuzey Irak, İran
<i>M.latifolium</i>	+	Batı ve Güney Anadolu	-
<i>M.bourgaei</i>	+	Kuzeybatı ve Güney Anadolu	-
<i>M.microstomum</i>	+	Orta Anadolu	-
<i>M.azureum</i>	+	Anadolu	-
<i>M.coeleste</i>	+	Doğu Anadolu	-
<i>M.parviflorum</i>	+	Dış Anadolu	Akdeniz Ülkeleri

[Tubives, değiştirerek] + = endemik - =endemik olmayan

Bu tez kapsamında çalışılan türlerin isimleri ve özellikleri aşağıda verilmiştir:

1. *Muscari muscarimi* Medikus 10-20 cm yüksekliktedir. Çiçekleri kirli menekşe renginde ve kuvvetli kokulu bir türdür. *M. muscarimi* mayısta çiçeklenmeye başlayıp

haziranda son çiçeklenmesi gerçekleşmektedir. Bu bitki Güney Batı Anadolu'da Antalya ve Denizli'de 800-1 920 m yükseklikte bulunan endemik bir türdür [Tubives, 2007]. Süs bitkisi olarak önemli bir değere sahiptir. Yerel adları dağ misgisi, Misk soğanı, müskürüm ve dağ sümbülü'dür [Baytop, 1997].

2. *M. neglectum* Guss, mor renk çiçeklere sahiptir. *Pinus* korulukları, maki çalılık, çayırlık, kalkerli kayalı yamaçlar ve kumullarda yayılış göstermektedir. *M. neglectum* Martta çiçeklenmeye başlayıp son çiçeklenmesi mayısta gerçekleşmektedir. Bu bitki Adana, Amasya, Ankara, Antalya, Aydın, Balıkesir, Çanakkale, Elazığ, Eskişehir, Hatay, İstanbul, İzmir, Konya, Samsun, Sivas, Zonguldak ve Karaman illerinde 0-2 300 m yükseklikte bulunur. Yerel adı gavurbaşı'dır [Baytop, 1997].
3. *M. macrocarpum* Sweet, kayalık alanlar, makilikler, serpantin ve deniz kenarındaki kalkerli yamaçlarda, yayılış göstermektedir. Sarı renk çiçekleri martta çiçeklenmeye başlayıp, nisanda son çiçeklenmesi gerçekleşmektedir. Daha ziyade Doğu Akdeniz'de Muğla ilinde 10-800 m yükseklikte bulunan bir türdür. Genel olarak Güney Doğu Yunanistan ve Ege adalarında dağılım göstermektedir [Tubives, 2007].
4. *M. adilii* Güner ve Duman, Ankara- Beypazarı 900-950 m yüksekte yer alan endemik bir türdür. Marnlı arazide yayılış göstermektedir. Martta çiçeklenmeye başlayıp son çiçeklenmesi nisan ayındadır. Bitki yüksekliği 4-15 cm'dir. Steril çiçekler uçuk mavi, steril olmayan çiçekler ise koyu mavi-siyah renktedir [Güner ve Duman, 1999].

*Muscari* cinsi doğada orta vadeli, gelecekte ise yüksek tehdit altında olan taksonlar grubuna girmiştir ve Türkiye'de doğadan sökümü yasaklanmıştır [Ekim ve ark., 2000]. Türkiye'de bulunan endemik bitkilerin tamamı ile endemik olmayıp (non-endemik) soyu tehdit altında olan türler ilk kez 1980'li yıllarda kabul edilen uluslararası IUCN tehlke kategorilerine göre sınıflandırılmıştır [Ekim vd., 2000]. Bu sınıflandırmada;

aşağıdaki kategoriler belirlenmiştir. Bu tez kapsamında çalışılan türlerin bazıları da bu tehlike kategorilerine girmektedir. Aşağıda tehlike kategorileri verilmiştir.

*EX- Extinct- Tükenmiş:* Şayet taksonun son ferdin öldüğü konusunda hiçbir şüphe yoksa EX kategorisindedir.

*EW- Extinct in the wild - Doğada tükenmiş:* Takson bulunabileceği ortamlarda ve yılın farklı zamanlarında yapılan ayrıntılı araştırmalarda bulunamamış, yani doğada kaybolmuş fakat kültüre alınmış bir şekilde yaşamaya devam ediyorsa bu grupta yer alır.

*EN- Endangered - Tehlikede:* Bir takson oldukça yüksek risk altında ve yakın gelecekte yok olma tehlikesiyle karşı karşıya, ancak henüz CR grubunda değilse EN grubuna konulur.

*VU- Vulnerable - Zarar görebilir:* CR ve EN gruplarına konamamakla birlikte doğada orta vadeli gelecekte yüksek tehdit altında olan taksonlar bu gruba girer.

*LR- Lower risk - Tehdit altında:* Populasyonları iyi ve en az 5 lokaliteden bilinenler bu kategoriye konulmuştur. Gelecekteki durumlarına göre 3 alt kategorisi vardır.

a- (cd) *Conservation dependent - Koruma önlemi gerektiren:* 5 yıl içinde yukarıdaki kategorilerden birisine girebilecek taksonlar. Hem tür, hem de habitat açısından özel bir koruma statüsü gerektirenler.

b- (nt) *Near threatened - Tehdit altına girebilir:* Bir evvelki kategoriye konamayan ancak VU kategorisine konmaya yakın adaylar.

c- (lc) *Least deficient - En az endişe verici:* Herhangi bir koruma gerektirmeyen ve tehdit altında olmayanlar.

*DD- Data deficient - Veri yetersiz:* Bir taksonun dağılım ve bolluğu hakkındaki bilgi yetersiz ise, takson bu gruba konur.

*CR- Critically endangered - Çok tehlikede:* Bir takson çok yakın gelecekte yok olma riski altında ise bu gruba konur.

*NE- Not evaluated – Değerlendirilemeyen:* Yukarıda ki herhangi bir kriter ile değerlendirilemeyenler bu gruba konur.

Bu çalışma kapsamına giren bitkilerin tehlike grubu aşağıda verilmiştir.

*M. adilii* Güner ve Duman : CR

*M. muscarimi* Medicus : VU

*Muscari* cinsine dahil doğal çiçek soğanları, hızlı şehirleşme ve sanayileşmenin etkisiyle ve yapılan aşırı sökümler nedeniyle azalmış, nesilleri tehlike altındaki bitkiler grubuna girmiştirlerdir.

Doğal çiçek soğanlarındaki tahribatı önlemek amacıyla Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından 1989 yılında doğal çiçek soğanlarının sökümü, üretimi ve ihracatı konularında bir yönetmelik yayınlanmıştır. Yönetmelik 1991 ve 1995 yıllarında yeniden düzenlenmiştir. Bu yönetmelikle birçok doğal çiçek soğanının ihracatı yasaklanmıştır. İhracatına izin verilenlere de doğadan toplama ve üretim kontenjanları getirilmiş ve ihraç edilecek soğan büyülüklükleri belirlenmiştir. Yönetmeliğe göre ihracatı yapılan doğal çiçekler 3 ana başlık altında değerlendirilmektedir. Bunlar;

1. İhracatı üretim yapılarak serbest olan doğal çiçek soğanları
2. İhracatı kontenjanla veya başka herhangi bir kayıtla sınırlandırılan doğal çiçek soğanları
3. Doğadan toplanarak ihracatı yasak olan doğal çiçek soğanlarıdır.

İhracatının, kotayla veya başka herhangi bir kayıtla sınırlandırılan çiçek soğanları ve serbest olan çiçek soğanlarının yaptığı tür sayısı yaklaşık 20 olup bunların en önemlileri şunlardır;

Sınırlı *Leucojum aestivum* (Göl soğanı)

Sınırlı *Galanthus elwesii* (Toros kardeleni)

*Sternbergia lutea* (Karaçığdem) (Üretimden Serbest)

- Sınırlı *Arum italicum* (Yılan fistığı)
- Sınırlı *Geranium tuberosum* (Devetabanı)
- Sınırlı *Anemone bland* (Yoğurt çiçeği)
- Sınırlı *Cyclamen hederifolrum*
- Sınırlı *Cyclamen coum*
- Sınırlı *Cyclamen cilicium*
- Sınırlı *Fritillaria persica* (Adiyaman lalesi)
- Sınırlı *Fritillaria imperialis* (Ağlayan gelin)
- Sınırlı *Eranthis hyemalis* (Sarı kar çiçeği)
- Lilium candidum* (Mis zambağı) (Üretimden Serbest)
- Sınırlı *Dracunculus vulgaris* (Yılan bıçağı)

*Muscari*, 2006 yılında Tarım Bakanlığı tarafından yayınlanan yönetmeliğe göre doğadan toplanarak ihracatı yasak olan doğal çiçek soğanları grubuna girmektedir [Rega, 2006].

Çizelge 1.2. Çiçek Soğanlarının ihraç durumları

(I) Doğadan Toplanarak İhracatı Yasak Olan Çiçek Soğanları		(II) İhracatı Kotayla Veya Başka Herhangi Bir Kayıtla Sınırlandırılan Çiçek Soğanları				(III) İhracatı Üretimden Serbest Olan Çiçek Soğanları	
Tür İsmi	Tür İsmi	Yıllık Limit (Adet)			Çevre Geniş. (cm)	Tür İsmi	
		Doğa	Büyütme	Üretim			
1. <i>Allium</i> (Yabani soğan) türlerinin hepsi	1. <i>Anemone blanda</i> (Yoğurt çiçeği)	6.000.000	-	-	4	1. <i>Lilium candidum</i> (Miszambacı)	
2. <i>Crocus</i> (Çiğdem) türlerinin hepsi	2. <i>Arum italicum</i> (Yılan yastığı)	150.000	-	150.000	6	2. <i>Sternbergia lutea</i> (Karaçiğdem)	
3. <i>Fritillaria</i> türleri ( <i>F. persica</i> , <i>F. imperialis</i> hariç)	<i>Arum dioscorides</i>	100.000	-	150.000	6	3. <i>Iris tuberosum</i> (Süsen)**	
4. <i>Lilium</i> (Zambak) türleri ( <i>L.candidum</i> , <i>L. ciliatum</i> ve <i>L. martagon</i> hariç)	3. <i>Cyclamen cilicum</i> (Sıklamen) <i>Cyclamen coum</i> (Sıklamen) <i>Cyclamen hederaefolium</i> (Sıklamen)	250.100*	-	-	8	4. <i>Calla aethiopica</i> (Kalla)**	
5. <i>Muscari</i> (Muskarı) türlerinin hepsi	4. <i>Dracunculus vulgaris</i> (Yılan bıçağı)	500.100*	-	250.000	8	5. <i>Polyanthus tuberosa</i> (Sümbülteber)**	
6. <i>Sternbergia</i> (Kara ciğdem) türleri ( <i>S.lutea</i> hariç)	5. <i>Eranthis hyemalis</i> (Sarı kar çiçeği)	800.100*	-	1.000.000	10		
7. <i>Tulipa</i> (Lale) türlerinin hepsi	6. <i>Galanthus elwesii</i> (Toros kardeleni) <i>Galanthus woronowii</i> (Karadeniz kardeleni)	200.000	-	200.000	10		
8. <i>Eminium</i> türlerinin hepsi	7. <i>Leucojum aestivum</i> (Göl soğanı)	3.500.000	-	-	3,5		
9. <i>Biarum</i> türlerinin hepsi	8. <i>Scilla bifolia</i> (Silla)	4.000.100*	1.600.000	500.000	4		
10. <i>Nymphaeaceae</i> (Nilüfer) türlerinin hepsi	9. <i>Urginea maritima</i> (Ada soğanı)	1.500.100*	500.000	-	4		
11. <i>Orchidaceae</i> (Salep) türlerinin hepsi	10. <i>Ornithogalum nutans</i> (Tükruk otu)	2.000.000	-	2.000.000	7,5		
12. <i>Arum</i> (Yılan yastığı) türlerinin hepsi ( <i>Arum italicum</i> , <i>Arum dioscorides</i> hariç)	11. <i>Geranium tuberosum</i> (Deve tabanı)	100.000	-	-	4		
13. <i>Pancratium maritimum</i> (Kum zambacı)	12. <i>Fritillaria persica</i> (Adiyaman lalesi) <i>Fritillaria imperialis</i> (Ters lale)	150.000	-	200.000	20		
14. <i>Hyacinthus orientalis</i> (Şark sümbülü)	13. <i>Lilium martagon</i> (Türk zambacı)	1. Geranium tuberosum (Deve tabanı)	-	75.000	10+		
15. <i>Gentiana lutea</i> (Censiyan)		2. <i>Fritillaria persica</i> (Adiyaman lalesi) <i>Fritillaria imperialis</i> (Ters lale)	-	-	10+		
16. <i>Cyclamen</i> (Sıklamen) türleri ( <i>C. coum</i> , <i>C. cilicum</i> ve <i>C. hederaefolium</i> hariç)		3. <i>Lilium ciliatum</i> (Tüylü zambak)	-	2.500	14+		
17. <i>Galanthus</i> (Kardelen) türleri ( <i>G. elwesii</i> ve <i>G. woronowii</i> hariç)			-	1.000			
18. <i>Iris</i> (Süsen) türleri							
19. <i>Paeonia</i> (Şakayık) Türleri							
20. Diğer yumrulu ve soğanlı türler							

\* İl numaralı sütunda yer alan ve Nesli Tehlike Altında Olan Yabani Hayvan ve Bitki Türlerinin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme (CITES) kapsamındaki doğal çiçek soğanı türlerine ilave edilen 100'er adet çiçek soğanı, araştırma amaçlı talepler için tahsis edilecek olup firmalar tarafından ticari amaçlı kullanılmaz.      \*\* Üretimi yapılan egzotik türler.

Doğadan sökülkerek ihraç edilen doğal çiçek soğanlarından Türkiye her yıl 2-2,5 milyon \$ civarında bir gelir sağlamaktadır. Bu miktar 1996 yılında 2,86 milyon \$, 1997 yılında 2,28 milyon \$ ve 1998'de ise 2 milyon \$ olarak gerçekleşmiştir [Gürsan ve Erkal, 1998]. Türkiye dışarıya bitki ihraç eden tek ülke olmamakla birlikte, dünya çiçek soğanı ihracatında birinci sıradadır. Hollanda ise yabani çiçek soğanı ithal ederek, bunların reexport yaparak kazanç sağlayan ülkelerin başında yer almaktadır. Hollanda, bizden aldığı soğanları ambalajlayarak doğrudan veya bazılarına basit bir ıslah işlemi uyguladıktan sonra diğer ülkelere süs bitkisi olarak pazarlamaktadır. Böylece Hollanda ana materyali dışarıdan aldığı halde bu bitkiden önemli ölçüde gelir sağlayan bir ülkedir. *Muscari* cinsinin hem Türkiye için bir gen kaynağı olması, hem de gelecekte milli ekonomiye büyük oranda katkı sağlama nedeniyle, doğal yetişme alanlarında korunması ve çoğalmasının sağlanması yanında bu bitkilerin hızlı, etkili ve kısa sürede sonuç veren, *in vitro* yollarla kültüre alınma çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Son yıllarda ortaya atılan ‘Sürdürülebilir Kalkınma’ stratejisi ile doğal kaynakların kullanılmasını yasaklamak yerine, bu kaynaklara zarar vermeden uzun yıllar kullanma yollarının araştırılması hedeflenmiştir. Soğanların hem tohumdan üreyebilmesi, hem de yavrulayabilmesi için en az 4-5 yıl sökülmemesi gerekmektedir. Hatta üreme gelişme için daha uzun yıllara ihtiyaç duymaları ve bir kısmının da tohum oluşturamaması sebebiyle sadece vejetatif olarak çoğalabildiği göz önünde alındığında, bu tez kapsamında bir takım *in vitro* hızlı çoğaltma tekniklerinin bu bitkiler üzerinde geliştirilmesi ve bu sayede üretim ve ticareti için etkili hızlı ve güvenli bir yol bulunması hedeflenmektedir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Kuramsal Temeller

#### 2.1.1. Bitki materyalinin yüzey sterilizasyonu

Yüzey sterilizasyonu doku kültürü işlemleri arasında en önemli aşamalardan biridir. Doku kültüründe en uygun eksplant kaynağını, daha önceden sterilize edilmiş tohumlardan elde edilen aseptik fideler oluşturur. Çünkü bu şekilde elde edilen fidelerin sterilizasyona ihtiyacı olmamakta ve yüzey sterilizasyon işleminin zararlı etkilerinden sakınılmaktadır. Eğer böyle bir şans yoksa dış şartlardan (tarla, sera vb.) alınan eksplantlar (tohum, yumru, yaprak, gövde, sürgün ucu vb.) öncelikle musluk suyu altında yarı saat tutulurlar. Tohum ve yumru gibi kaba parçalar 1- 20 saniye alkol içinde tutulduktan sonra gerçek yüzey sterilizasyonu ortamında bekletilebilir. Yüzey sterilizasyonu için en fazla kullanılan maddeler sodyum veya kalsiyum hipoklorit, civa klorür, gümüş nitrat ve hidrojen peroksittir. Endojen kontaminasyonu elemine etmek için ise genellikle PPM gibi biyositler de kullanılmaktadır [Babaoğlu ve ark., 2001].

#### 2.1.2. Bitki üretimi

Bitki üretiminde üstün kaliteli ve verimli çeşitler geliştirmek amacıyla binlerce yıldır bitki ıslahı yöntemleri kullanılmaktadır. Bitki ıslah yöntemlerini klasik ve modern ıslah metodları olarak ikiye ayırmak mümkündür.

##### Klasik yöntem

Bugün klasik bitki ıslahının tarım üretimini artırmasındaki payı büyük olmasına rağmen bu yöntemler yavaştır ve sonuca ulaşmak zaman alıcıdır. İslahı yapılan bitkinin kalitesi ve miktarının artırılması seleksiyonda öncelikli olduğu için, bu bitkiler hastalık ve zararlılara karşı dayaniksız olmaktadır. İstenilen özelliklerle istenmeyen özellikler de melez döllere geçebilmektedir. Klasik yöntemlerde eşyesel ve eşeyesel olmayan yöntemlerden yararlanılmaktadır.

Bu yetişirme tekniklerinden bir tanesi eşyelşer üretimdir. Bunun için ya yapay polenleme ya da tohum kullanılmaktadır. Yapay yolla döllenmeyi gerçekleştirebilmek için kendine döllenmeyen bir bitkinin tohumları kullanılmaktadır.

#### *Vejetatif çoğaltma*

Bu çoğaltma tekniği süs bitkileri üretiminde en yaygın kullanılan üretim tekniktir. Vejetatif çoğaltma; kök sürgünü, yaprak, yumru, dal, rizom gibi vejetatif bitki kısımlarından alınan parçalarla yapılan üretim şeklidir.

#### *Çelikle çoğaltma*

Çelikle çoğaltma tekniği üretilerek bitkiden alınan ve çelik adı verilen bir gövde, kök veya yaprak parçası ile yeni bir bitki oluşturma tekniğidir. Bu yöntemle çoğaltma çok çeşitli iğne yapraklı, yapraklı, herdem yeşil ve yaprağını döken süs bitkilerinde seralara sahip fidanlıklarda yıl boyu devam ettirebilmektedir. Özellikle herdem yeşil ve yarı yeşil yapraklı türlerin hemen hemen hepsinde tohumla çoğaltım zaman aldığı ve buna rağmen istenilen nitelikler genellikle sağlanamadığı için bu türler çelikle çoğaltılmaktadırlar. Süs bitkilerinde en çok gövde çelikleri ile üretim yöntemi kullanılmaktadır.

#### *Aşı ile Çoğaltma*

Aşı ile çoğaltma tekniği çoğaltılması istenilen bitkinin bir parçasını anaç olarak kullanacağımız başka bir bitki ile kaynaştırarak tek bir bitki olarak geliştirme tekniğidir. Bitkinin toprak üstü kısmını yani gövde ve dalları oluşturacak kısma kalem veya göz denir. Bunlardan kalem üzerinde birkaç uyur göz bulunan dal parçasıdır. Bu parçanın göz olarak alınması halinde tek bir gözden oluşan bir parça söz konusudur. Yeni bitkinin kök kısmını oluşturacak olan aşı kısmına ise anaç denir. Aşılama yöntemleri kalem aşları ve göz aşlarıdır. Türlere göre aşılama başarı alanları çok farklılık gösterir.

### Modern yöntem

Bitki doku kültürleri, bitkilerin doku, organ, hücre ya da hücre kısımlarının bitkiden ayrılarak (izole edilerek) kapalı ve cam kaplarda '*in vitro*', suni besin ortamında ve steril şartlar altında yetiştirlerek bütün organları tam bitkilerin elde edilmesi işlemidir [Biondi, 1982].

Doku kültürleri ile vegetatif üretimin esası sürgün meristemlerinin oluşmasını ve çoğalmasını sağlamaktır. Bir bitkinin vegetatif olarak çoğaltılmaması, koltuk altı (aksiller) ve adventif olmak üzere iki şekilde bulunan sürgün meristemlerinin oluşumuna bağlıdır.

Klasik yollarla bitki üretiminde karşılaşılan problemlere çözüm olarak günümüzde modern ıslah metodları uygulanmaya başlamıştır. Bunların başında da doku kültürleri, organogenezis, somatik embriyogenezis, protoplast kültürü, protoplast füzyonu, haploid bitki üretimi, hastalıksız bitki üretimi, sekonder metabolit üretimi, mikro çoğaltım, embriyo kültürü, germplazm depolanması ve somaklonal varyasyon gelir.

#### **2.1.3. Bitki Doku Kültürü**

Bitkiler; izole edilmiş bir sürgün, kök, yaprak, çiçekler ve hatta organize olmamış kallus gibi dokulardan bütün bir organizmayı rejenerasyon edebilme kapasitesine sahiptirler [Gönülşen ve Özcan, 1983]. *In vitro*'da hücre ve dokulardan sürgün rejenerasyonunu başarabilmek için uygun eksplantın seçilmesi, büyümeye aktif maddeleri içeren uygun ortamın belirlenmesi ve fiziksel çevre koşullarının uygun olması gerekmektedir [Murashige, 1974; Evans ve ark., 1981].

### Adventif sürgün rejenerasyonu

Adventif sürgün rejenerasyonu izole edilmiş bir sürgün, kök, yaprak, çiçek ve hatta organize olmamış kallus gibi dokulardan bütün bir organizmanın rejenerere olabilme kapasitesitesidir. [Gönülşen, 1987]. *In vitro*'da hücre ve dokulardan sürgün rejenerasyonunu başarabilmek için uygun eksplantın seçilmesi, büyümeye aktif

maddeleri içeren uygun ortamın belirlenmesi ve fiziksel çevre koşullarının uygun olması gerekmektedir [Murassige, 1974; Evans ve ark., 1981; Ammirato, 1983].

Doku kültüründe en çok kullanılan temel ortam Murassige and Skoog (1962)'un geliştirdiği besin ortamıdır. Bitki rejenerasyonunda kullanılan besin ortamları bitki büyümesi için gerekli olan makro ve mikro elementler ile enerji kaynağı şekeri içerir. Bu ortamlar agar ilave edilerek katılaştırılır. Besin ortamına eklenen bitki büyümeyi düzenleyiciler de bitki rejenerasyonunda en önemli faktörlerdir. Genelde, yüksek oranda oksin (IAA, IBA, NAA, 2,4-D) bulunan ortamlar kallus ve kök gelişimini teşvik etmektedir. [Miller and Skoog, 1953; Paulet, 1965; Nitsch, 1968]. Sitokinlerin (BAP, TDZ, 2İP, Zeatin, Kinetin) bulunduğu ortamlar ise adventif sürgün rejenerasyonu teşvik edilmektedir.

#### Hızlı çoğaltım (mikro çoğaltım)

Sürgün ucu ve koltuk altı meristemler, kotiledon boğumu gibi eksplantlar izole edilerek kültüre alınmaktadır. Gelişmiş bitkilerin çoğunda, her yaprağın koltuğunda meristem (axillary meristem) bulunmaktadır. Ana uç meristemlerinin bir kopyası olan bu meristemler, yan sürgün veya dal meydana getirme potansiyeline sahiptir [Gönülşen, 1987]. Bu sistem, meristem sayılarının artırılması bakımından önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Mikro üretimde bu özellikten yararlanılmaktadır. Örneğin; hormonsuz bir ortamda kültüre alınan sürgün uçları, dallanmadan tek bir sürgün şeklinde gelişmektedir [Gönülşen ve Özcan, 1983]. Oysa sitokinin içeren gıda ortamında kültüre alındığında, sürgün uçları çok sürgünden oluşan küçük bir demet şeklinde gelişmektedir. Besin ortamında sitokinin bulunması, kök oluşumunu genelde engellemektedir. Bu nedenle sürgün sayısının çoğaltılması arzu edildiği sürece gıda ortamında bulunması istenen sitokinin, kök oluşumu istendiğinde ortama ilave edilmemelidir. Sürgünler bitkinin özelliğine göre ya sitokininsiz ya da köklenmeyi uyarıcı hormonları içeren bir gıda ortamına transfer edilir.

Doku kültürü tekniklerini kullanarak yapılan çoğaltım (mikro üretim) pahalı olmasına karşın, kısa sürede fazla sayıda bitki ekonomik olarak elde

edilebilmektedir. 1991 yılı verilerine göre dünyada saksılı çiçekler, kesme çiçekler, meyve ağaçları ve geofitlerde mikroçoğaltım yöntemleri kullanılarak yaklaşık 600 milyon bitki elde edilmiştir [Werbrouck ve Debergh, 1994].

Hızlı çoğaltımın avantajları;

Bu teknikle bitkilerin *in vitro* şartlarda kısa bir sürede, fazla sayıda çoğaltılabilmesi mümkün olmaktadır. Bu sayede ekonomik önemi olan pekçok bitkinin kısa bir zamanda ticari amaçlara uygun miktarda çoğaltılması başarılılmaktadır.

Virüs ve diğer sistemik hastalıklar, vegetatif çoğalma yoluyla bitkiden bitkiye kolaylıkla geçmektedir. Bu tip hastalıklar, ürünün kalite ve kantitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Yine bu teknik sayesinde, hastalıklardan arındırılmış olan stoklardan üretim mümkün olabilmektedir.

Bu teknikle yıl boyu üretim yapılmaktadır.

Kültür aşamasında olan bitkiler kolaylıkla ülkeler arasında transfer edilebilmektedir.

Mutasyonlar, organ ve somatik embriyo oluşumu, organ ve somatik embriyoların rejenerasyon yeteneklerini kaybetmesi, köklenme problemleri (çalı ve odunsu bitkilerde), toksik bileşiklerin ortamda birikmesi, vitrifikasyon (camlaşma) kontaminasyon ve bitkilerin kültür tüplerinden toprağa aktarılmasında karşılaşılan zorluklar mikro çoğaltımda ortaya çıkan başlıca sorunlardır.

*In vitro* teknikleri bitkisel materyalin hızlı çoğaltılması için ideal bir sistem olarak ortaya çıkmış olup, orkide gibi soğanlı bitkilerden çok kısa sürede çok sayıda bitki üretilebilmektedir. Türkiye'de ise bu soğanların çögünün yaşamı insan kaynaklı nedenlerle tehdit altındadır. Bazı geofitler güzel ve nadir çiçekleri nedeni ile veya gıda ve ilaç olarak kullanmak üzere yasadışı yollarla toplanmakta ve ticari amaçlarla kullanılmaktadır. Bu geofitlerin birçoğu üretime veya kültüre alınamadığı için toplayıcılar doğaya yönelmekte ve aşırı miktarlarda soğan sökümü yapmaktadır. Bu çalışmanın amacı da *Muscaria*'ye ait türlerde *in vitro* yöntemiyle hızlı

çoğaltımıdır. İhracat potansiyeli bulunan bu türde hızlı çoğaltım ve aynı zamanda doku kültürü ile yüksek frekansta bir soğan eldesi için güvenli etkili bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

Bu nedenle bu çalışmada, Türkiye için bir gen kaynağı olan soyu tükenmekte ve tehdit altında olan türlerin hızlı çoğaltımları ile yok olmalarını engellemek ayrıca güzel kokulu çekici çiçeklerinden dolayı kesme çiçek, saksı, bahçe çiçeği olarak süs bitkisi olarak ticari öneme sahip bu *Muscari* türlerinin *in vitro* çoğaltımı ve soğan rejenerasyonu amaçlanmıştır.

## 2.2. Kaynak Araştırması

*Muscari botryoides* Mill. bitkisinde, epidermal ve alt epidermal eksplantlar kullanılarak farklı konsantrasyonlarda IBA ve BAP içeren besin ortamlarında morfolojik değişiklikleri incelenmiştir. Çalışmada, sezona bağlı olarak ekplantların rejenerasyon kabiliyetinin değiştiği görülmüştür. Eylül ayında toplanan bitkilerden alınan eksplantlarında rejenerasyon %10 iken, Mayıs ayında toplanan bitkilerden alınan ekplantlarda %56 rejenerasyon ve eksplant başına 1-2 soğancık gözlenmiştir. Rejenerasyon ve soğan sayısı bakımından en iyi ortam 0,2-2 mg/l IBA ve 1-2 mg/l BAP kombinasyonlarında elde edilmiştir. Soğan çapları oksin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmiştir. IBA konsantrasyonun yükseltilmesi ile oransal olarak soğan çapı, yaşı ve kuru ağırlık artmıştır. Yeni gelişen soğanlardan çıkan yaprakların uzaması, köklenmesi ve kallus oluşumunda oksinin belirgin bir etkisi olduğu görülmüştür. Ortamda BAP ve IBA birlikte bulunduklarında soğan rejenerasyonunda etkili olmuştur ancak; bu kombinasyon kök oluşumunu durdurmuştur. Ortamda sadece oksin (2 mg/l IBA) bulunduğu zaman hem soğan rejenerasyonu sağlanmış, hem de kök oluşumunun durdurucu etkisinin önüne geçilmiştir [Kromer ve Kukulczanka, 1992].

*Muscari racemosum* L. Mill. bitkisinin pul yapraklarında, *in vitro* koşullarda karanlık ve aydınlikta rejenerasyon kabiliyeti incelenmiştir. Karanlıkta ve MS besin ortamında % 8 oranında adventif soğan oluşumu ve kök oluşumunda artış bulunmuştur. Bunun yanı sıra soğanlardan çıkan yaprak gelişimlerine bakıldığından ortamlar arasında fark gözlenmiştir. *Muscari racemosum*'de endogen bitki büyümeye düzenleyici maddelerin faaliyetleri biyoassay ile incelenmiştir. Aydınlık ve karanlık ortamındaki ekplantlardan alınan örneklerde ait ilk inceleme dokular kültüre alınırken, ikinci inceleme ise 4 ay sonunda yapılmıştır. Bu inceleme sonucunda karanlık muamelesi yapılan ekplantlarda dokularda oksin ve gibberelin gibi maddelerin düşük sitokinlerin ise yüksek oranda olduğu görülmüştür. Aydınlık muamelesi eksplantlarda oksinlerin aktivitesinde çok az artışa sebep olurken, gibberelinin aktivitesinde ise düşüşe sebep olmuştur. Aydınlıkta kültüre alınmış eksplantlarda sitokinin aktivitelerinde belirgin artış gözlenmiştir [Kromer, 1989].

*Tulipa* ve *Muscari botryoides* soğanları, değişik oranlarda GA<sub>3</sub> ile 1 atmosfer basınç altında muamele edilmiştir. Çalışma sonucunda GA<sub>3</sub>'ün her iki türde de bitki morfolojisine ve gelişiminde etkisi tespit edilmiştir. *Tulipa* bitkisinde 51 gün soğuk muamelesi sonucunda ekim ayında GA<sub>3</sub> ile aşılanmış soğanlarda çiçeklenmede artış görülmüştür. *Muscari botryoides*'te ise 51 gün soğuk muamelesi sonucunda ve ekim ayında GA<sub>3</sub> ile muamelesinde aşılanması ile çiçeklenmede artış görülmüş olmasına rağmen, çiçek sapında ve yapraklarda inhibisyon gözlenmiştir [Tymoszuk ve ark., 1979].

BAP muamelesi ile oluşan soğanların *Muscari spp.*'de elektrotometrik analizi üzerine yapılan çalışmada, tek soğandan çoğaltılmış soğancıklardan glukoz 6 fosfat di hidrogenezin değişik formlarının olduğu görülmüştür. Bu çalışmada; sitokinin, pentoz fosfat yolu ve *Muscari* rejenerasyonu arasında ilişki incelenmiştir. Çalışmada *Muscari* soğanlarına dışarıdan sitokinin muamelesinin hem organogenesis hem de glukoz 6 fosfat di hidrogenezin değişik formlarının oluşmasına neden olduğu tespit edilmiştir [Puchalski ve ark., 1979].

Bir otomatik balon tipi reaktörde (BTBB) Lili (zambak) soğancıklarından çok sayıda soğan üretilmesi amaçlanmıştır ve reaktörde zambak soğancıklara etkileyen faktörler araştırılmıştır. Materyal olarak *Lilium* oriental hibrid Casablanca çeşidi kullanılmıştır. Her alt kültür sonucunda toplam yeşil soğan ağırlığında ve soğan çapında artış gözlenmiştir. En fazla soğan oluşumu 2-4,1 g ile 16 hafta sonunda elde edilmiştir. 16 haftalık çalışmanın ilk alt kültürü 4 hafta sonra 2. alt kültür ise 12 hafta sonunda yapılmıştır. Ortamda sukroz miktarı soğan çapına etkisi olduğu da tespit edilmiştir. En büyük soğanlar 90 g/l sukroz içeren ortamda görülmüştür [Lian ve ark., 2003a].

Nepal'de çok yaygın olarak kullanılan *Lilium nepalense* D. Don tıbbi bitkisinde hızlı çoğaltım protokolü geliştirilmiştir. Uygun soğanlardan elde edilen çift pul yapraklardan yan soğanlar oluşmuştur. 20 µM içeren MS ortamda dikey kesilmiş pul yapraklardan çoğaltım meydana gelmiştir. 4 haftalık kültür sonunda 1 ekplant üzerinde ortalama 7 soğan çıktıgı gözlenmiştir. Soğanlar köklenmeye alındıktan

sonra *ex vitro* koşullara adapte olmuşlardır. Bu çalışma sonucunda oluşan soğanların tarla ekimi için uygun olduğu görülmüştür [Wawroshch ve ark., 2001].

Nergis bitkisinin sürgünlerinden elde edilen soğancıklar bitki büyümeye düzenleyici madde içermeyen ortamlarda soğan elde etmek üzere 20 °C'de aydınlık ve karanlıkta kültüre alınmıştır. Soğan çoğaltım ortamına aktif kömürde ilave edilmiştir. Tüm soğancıklar 5 °C'de soğuk muamele yapılmıştır. Çeşide bağlı olarak % 47,8 – 81,2 oranında şaşırtma da başarı elde edilmiştir. En iyi sonuçlar 0,2 g'dan daha ağır olan soğancıklardan bulunmuştur. Yüksek oranda şeker kullanımı soğan çaplarında artış sebebi olmuştur. Ancak sukroz miktarının yükseltilmesi ile soğanlardan çıkan yapraklıarda erken sararma ve fazla dormansi gözlenmiştir. Karanlık ortamda rejenere olan soğancıkların, ağırlık artışı ve tarlada da şaşırtmada olumlu etkisi olmadığı tespit edilmiştir [Wendy ve ark., 1991].

*Lilium longiflorum* bitkisinde soğan uçlarından alınan ince hücre tabakası kullanılarak somatik embriogenesis çalışılmıştır. Ekplantlar üzerinde 45 gün sonunda yuvarlak şekilli embriolar oluşmuştur. Somatik embriyo oluşumu için 4 µM NAA ile 1,1 µM TDZ içeren ortamlarda embriyo benzeri yapılar ekplantlar üzerinden alınıp 5,4 µM NAA ve 0,4 µM TDZ içeren ortamda büyümeye bırakılmıştır. En iyi somatik embriyo oluşumu; 0,8-1 mm kalınlığındaki eksplantlarda gözlenmiştir. Oluşan somatik embriyoları bitkiye dönüştürmek için, 30 g/l sukroz içeren MS ortama aktarılmıştır. Tüm embriyolardan, 90 gün sonunda bitki oluşumu gözlenmiştir [Duong ve ark., 2002].

*Crinum spp.* bitkisi tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Ancak geleneksel yöntemlerle çoğaltım pahalı ve yavaş olmaktadır. Bu çalışmada *Crinum* Ellen Bosanquet çeşidine doku kültürü ile çoğaltım yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonu için soğan pulları % 0,525 sodyumhipoklorit içerisinde 1 saat bekletilmiştir. Soğan oluşumu için 0-22,2 µM BAP ve 0-5,3 µM NAA içeren MS besin ortamında 3 çift pul yaprak eksplant olarak kullanılmıştır. En fazla soğan oluşumu 22,2 µM BAP içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Bir sonraki denemedede eksplantlar 35,5- 80,8 µM BAP içeren ortamlarda kültüre

almıştır bu eksplantlar 3 ay sonra bitki büyümeye düzenleyici madde içermeyen ortama alınmıştır.  $35,5 \mu\text{M}$  BAP eksplant üzerinde ortalama 2,8 adet soğan oluşmuştur. Bitkicikler başarı ile köklenerek adaptasyon sağlanmıştır [Melanie ve ark., 1999].

*In vitro* koşullarda *Cryanthus spiralis* bitkisinin ikili pul yapraklarından en iyi adventif ve yan soğan oluşumu, 6 hafta sonunda 5 g aktif kömür içeren sıvı besin ortamında elde edilmiştir. Benzer sonuçlar 1 mg/l NAA-2 mg/l BAP ve 0,1 mg/l 2,4-D-1 mg/l BAP içeren MS besin ortamında da gözlenmiştir. Soğanlar üzerinde gelişen sürgünlerin boyu karşılaştırıldığında, 1 mg/l NAA-2 mg/l BAP içeren ortamda gelişen soğanların daha uzun olduğu görülmüştür. En iyi sürgün gelişimi 1 mg/l NAA- 2 mg/l BAP içeren ortamda elde edilmiştir. Elde edilen soğanlar köklenme için % 6- 9 sukroz içeren ortamlara aktarılmıştır. % 6 sukroz içeren ortamda hem köklenme hem de yapraklarda gelişme gözlenmiş, fakat % 9'luk sukroz içeren besin ortamında gelişen soğanlarda hacim ve ağırlık artışının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ortamlarda gelişen soğanlar 1 yıl sonra çiçeklenmiştir [Moran ve ark., 2003].

*Muscari comosum* bitkisinde yaprak eksplantlarından bitki büyümeye düzenleyici madde içermeyen MS ortamda rejenerasyon elde edilmiştir. MS ortamına 1 mg/l NAA ilave edildiğinde somatik embriyolardan bitkiciklerin oluştuğu görülmüştür. Ortama BAP ilave edildiğinde rejenerasyona durdurucu etki yaptığı tespit edilmiştir [Saniewskii ve Pytlewski, 1979].

*M. armeniacum* soğanlarının bazal tabakasında BAP içeren lanolin macunu ile muamele edildiğinde soğan oluştuğu görülmüştür [Saniewski, 1979 ].

*M. comosum* ve *M. botryoides* soğanlarının bazal tabakasında oksin içeren lanolin macunu ile muamele edildiğinde soğan oluşmadığı görülmüştür [Saniewski ve Puchalski, 1982].

*M. armeniacum*un soğanının infloresans yapraklarından 1 g/l aktif kömür içeren MS ortamında rejenera olduğu gözlenmiştir [Cumming ve Peck, 1984].

1 g/l aktif kömür içeren MS ortamında *Muscaria armeniacum* bitkisinde pul yapraklardan adventif soğan oluşumu gözlenmiştir. Eksplantlar üzerinde kallus oluşumu gözlenmemiştir. Elde edilen soğanlar seraya aktarılmıştır [Peck ve Cumming, 1986].

*M. comosum* soğanlarında, soğan dikim ve soğuk muamelesinden önce GA<sub>3</sub> muamelesinin çiçeklenmede önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Bu muamele ile gövde çapında da artış görülmüştür [Saniewski, 1977 a,b].

Metil jasmonat içeren lanolin macunu muamelesi, soğan oluşumunda durdurucu etki yaparken, BAP içeren lanolin macunu muamelesinin soğan oluşumuna olumlu tesir yaptığı tespit edilmiştir [Saniewski ve Pochalski, 1987].

Mis zambak (*Lilium candidum L.*) bitkisinin yaprak eksplantlarından MS içeren BAP-IBA'nın değişik konsantrasyonlarında, adventif soğan rejenerasyonu elde edilmiştir. Soğanlar seraya aktarılarak 2 sene sonunda tüm soğanlarda çiçeklenme gözlenmiştir [Khawar ve ark., 2005].

Mis zambak bitkisinin pul yapraklarının alt kısmından ve *in vitro*'da gelişen yapraklarından, 2,22 µM BAP ve 2,69 µM NAA içeren MS ortamında adventif soğan oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen soğanlar 2,69 µM NAA içeren MS besin ortamında köklendirilerek büyümeye odalarında adaptasyonları sağlanarak seraya aktarılmıştır. Bitkiler 2 sene sonra çiçeklenmiştir [Sevimay ve ark., 2005].

*Stenbergia candida* bitkisinde *in vitro* koşullarda olgunlaşmamış tohum kullanılarak somatik embryogenesis için bir protokol geliştirilmiştir. *Stenbergia candida* bitkisi Muğla ve Antalya illerinde doğal olarak yetişen endemik bir türdür. En iyi sonuçlar 2 mg/l BAP- 0,50 mg/l NAA (Potasyum tuzu) içeren MS besin ortamında gerçekleşmiştir. Elde edilen soğanlar 5 g/l aktif kömür içeren MS besin ortamında

köklendirilmiştir. Ortama aktif kömür ilavesi bitki gelişmesinde etkili olmuştur. Soğanlar seraya aktarılmış daha sonra tarlaya şasırtılmıştır [Parmaksız ve Khawar, 2006].

*Ornithogalum oligophyllum* bitkisinde ikili pul yaprak kullanılarak 1-2 mg/l BAP ve 0,5-1,0 mg/l IBA içeren ortamında adventif soğan oluşumu elde edilmiştir. Gelişen primer soğanların çapını artırmak için alt kültüre alınmıştır. Alt kültüre alınmış primer soğanların çapında artış gözlenmiştir. Soğan başına 0-4,42 sekonder soğan oluşumu elde edilmiştir. Her soğanda değişik uzunlukta kökler görülmüştür. En fazla adventif soğan oluşumu 2 mg/l BAP 0,5 mg/l IBA içeren MS besin ortamında gözlenmiştir. Bitkiler iklim dolaplarına adapte edilmiştir. Soğanların morfolojik olarak normal olduğu gözlenmiştir ve adaptasyonda % 85 başarı elde edilmiştir. Elde edilen protokolün *O. oligophyllum*'un ve farklı *Ornithogalum* türlerinde soğanlı bitkilerin çoğaltımında mevsimsel üretme bağlı kalmaksızın başarı ile kullanılabileceği düşünülmektedir [Özel ve Khawar, 2007].

*Galanthus elwesii* Hook bitkisi ülkemizden ihraç edilen çiçek soğanları listesinde ilk sıralarda yer almaktadır. Bu nedenle bu bitkinin *in vitro* çoğaltımı hem gen kaynaklarının korunması, hem de ticari üretim için büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada kullanılan *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinin mevveleri nisan ayının ilk haftası içerisinde doğal yetişme ortamı olan Antalya ilinin Akseki ilçesi civarından toplanmıştır. Meyveler yüzey sterilizasyonu için % 80'lik ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika tutulduktan sonra üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlardan çıkarılan olgunlaşmamış embriyolar 1-4 mg/l 6-benzilaminopurin (BA) ve 0,5 mg/ l α- naftalen asetik asit (NAA) içeren Murashige-Skoog (MS) ortamında kültüre alınmıştır. En yüksek soğancık oluşumu 1 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilmiş olup, bu ortamda elde edilen soğancık sayısı eksplant başına 7,7 adet olarak bulunmuştur [Nasırcılar ve Karagüzel, 2006].

*Galanthus ikariae* bitkisinin doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması için en uygun eksplant tipinin belirlenmesi, ortam pH'sı, karbonhidrat cinsi ve dozunun

belirlenmesi 0 amaçlanmıştır. Eksplant tipi olarak değişik şekillerde hazırlanan soğan dokuları (soğan parçası ve soğan pul yaprakları) kullanılmıştır. Besin ortamına katılan farklı şeker cinsi (sakkaroz, glukoz, maltoz, laktوز ve fruktoz) ve dozlarının (%2,3 ve 6), ortam pH değişimlerinin adventif soğancık oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bazal dokuya sahip soğan parçaları ve soğan pul yapraklarının *G. ikariae*'nin doku kültürüyle çoğaltılmrasında uygun eksplant tipleri olduğu tespit edilmiştir. En uygun ortam pH'sı, 5,5 olarak belirlenmiştir. En fazla soğan oluşumu, % 6 sakkaroz içeren ortamdan elde edilmiştir [TİPİRDAMAZ ve ark., 1999].

Kırmızı ada soğanı *Urginea maritima*'da *in vitro* da pul yapraklardan 0,5-1,6  $\mu\text{M}$  NAA ve 0,4-1,3  $\mu\text{M}$  BAP içeren ortamda adventif soğan oluşumu gözlenmiştir. *In vitro* da gelişen soğanlar 0,5-1,6  $\mu\text{M}$  NAA'de köklendirilmiş olup vermiculit içerisine aktarılmıştır. Gelişen soğanları 4,4-13,2  $\mu\text{M}$  BAP içeren ortamlara aktarıldığında adventif soğan oluşumu gözlenmiştir. Ancak bu soğanlar köklenmemiştir. Köklenmiş soğanlar üzerinde yaprak oluşumu teşvik etmek amacıyla soğanlar 5 °C de 3-4 hafta soğuk muamelesine tabi tutulmuştur [Ramadan ve Ralph 1987].

*Calochortus nuttallii* Batı Amerika'da doğal olarak yetişen güzel çiçekleri olan bir süs bitkisidir. Bu çalışmada 8,9  $\mu\text{M}$  BAP ve 88  $\mu\text{M}$  sukroz içeren SH ortamında yüksek oranda soğan oluşumu gözlenmiştir. Soğanlar her 28 günde bir 88  $\mu\text{M}$  sukroz 2,2  $\mu\text{M}$  BAP ve 1  $\mu\text{M}$  IBA içeren ortamlara alt kültüre alınmıştır. Köklendirme için soğanlar 2,7  $\mu\text{M}$  NAA ve 88  $\mu\text{M}$  sukroz içeren ortama aktarılmıştır [Hou ve ark., 1997].

*Chirita heterotricha* bitkisinin yaprak eksplantlarından 0,1 mg/l NAA-0,1 mg/l BAP içeren MS ortamda yüksek oranda (39,5 adet) sürgün elde edilmiştir. Elde edilen bitkiler 5 mg/l aktif kömür ve 30 g/l sukroz içeren  $\frac{1}{2}$  MS ortamında köklendirilmiştir. Köklenen bitkilerin % 95 başarı ile dış koşullara adapte edilmiştir [Tang ve ark., 2007].

Tehlike altındaki *Sternbergia fischeriana*'da *in vitro* ticari çoğaltımı için bitkinin pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyolarından adventif soğan rejenerasyonu

yapılmıştır. Eksplantlardan, 4 mg/l BAP ve 0,5 mg/l NAA veya 2 mg/l 2,4-D içeren ortamda 14 ay sonunda yüksek oranda soğan elde edilmiştir. Elde edilen soğanlar 5 °C de soğuk muamelesine tabi tutulup saksılara aktarılmıştır [Mirici ve ark., 2005].

Kuzey Akdeniz kıyı ve sahil bölgelerde bulunan *Limonium cordatum* bitkinin bazal tabakası kullanılarak *in vitro* çoğaltımı yapılmış ve elde edilen soğanların *ex vitro* koşullarda adaptasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmada düşük BAP konsantrasyonları soğan çoğaltımında olumlu etki yaparken, köklenmede olumsuz etki yaptığı görülmüştür. Buna karşı ortama yüksek oranda oksin muamelesi kök oluşumunda olumlu, soğan oluşumunda ise olumsuz etki yaptığı gözlenmiştir. Bu yüzden soğan çoğaltımı için düzenleyici madde içermeyen MS ortamın en uygun ortam olduğu tespit edilmiştir [Casazza ve ark., 2002].

*Scilla natalensis* bitkisinin soğanlarından soğan oluşumu gözlenmiştir. Bu soğanlarda sekonder yaprakları ve soğan eksplantları kullanılmıştır. Sekonder eksplantlardan da ana soğanlar gibi adventif soğanlar gözlenmiştir. Soğan oluşumu için yalnız KIN veya TDZ'nin ortamda bulunmasının olumlu etki yaptığı görülmüştür. Ancak; bu ortamlara IAA ya da NAA ilave edildiğinde soğan oluşumun da olumsuz etkisi olduğu görülmüştür. En iyi soğan oluşumu 1- 2mg/l KIN içeren ortamda gözlenmiştir. Soğanlar 1 mg/l IAA içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir. Bitkiciklerin gölgede adaptasyonu sağlanmıştır [McCartan ve Van Staden, 1998].

Doğu İspanya'da tehlike altında *Limonium cavanillesii*'nin 20 mm'lik çiçek sapı eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlar değişik konsantrasyonlardaki sitokinin içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. En iyi sürgün oluşumu 2-5 mg/l KIN, 5 mg/l 6 gamma- gamma- dimetilalilaminopurin veya 0,1 mg/l BAP içeren MS ortamında görülmüştür. Soğanlardan oksin içermeyen MS ve 0,1-0,5 mg/l IBA veya IAA içeren MS ortamına alınarak, yüksek oranda köklenmiş bitkiler elde edilmiştir. Bitkilerin %90'sı sera koşullarında canlılığını sürdürmüştür ve doğaya adapte edilmiştir [Amo-Marco JB ve Ibanez MR., 1998].

Siklopamin olarak bilinen anti kanserojen madde içeren *Veratrum californicum* monokotil bitkisinde olgunlaşmamış embriyolardan somatik embryogenesis için değişik konsantrasyonda bitki büyümeye düzenleyicisi içeren beş farklı besin ortamı kullanılmıştır. En fazla embryogenik kallus 4 mg/l picloram içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Bu çalışmada süspansiyon kültürü yapmak için elde edilen embryogenik kalluslar AA ve L2 besin ortamlarında kültüre alınmıştır. 4 mg/l NAA içeren AA ortamında gelişen hücreler sarı renk almış olup hızlı bir gelişme göstermiştir. Bu hücreler kryo muhafazası ile uzun süre saklanmıştır. 27 ay sonra bu hücrelerden %73 rejenerasyon gözlenmiştir. Elde edilen tüm bitkilerde Siklopamin ve verateramin bulunmuştur. Bu çalışmada doku kültürü yolu ile yüksek oranda tıbbi olarak önemli sekonder metabolit elde edilmesi sağlanmıştır [Ma ve ark., 2006].

*Lilium longiflorum* bitkisinin *in vitro* koşullarda gelişen sap ucundan elde edilen adventif soğancıklar kullanılarak adventif soğan oluşumu incelenmiştir. Dormant soğanlardan koltuk altı meristemler alarak 1 µM BAP içeren ½ MS ortamında kültüre alınmıştır. Her koltuk altından 1 ay sonra ortalama 32 adet adventif soğancık çıktıgı gözlenmiştir. Adventif soğanların 2,3 µM BAP içeren ½ MS'te daha fazla soğancık oluşturduğu gözlenmiştir. Soğancıklar 1,1 µM NAA MS içeren ortamda köklendirilmiştir. Elde edilen 80 bitkinin, 3 ay serada adaptasyonları sağlanıp deneme tarlalarına aktarılmıştır [Nhut, 1998].

*Ornithogalum umbellatum* bitkisinden alınan pul yapraklarından adventif soğan oluşumu elde etmek amacıyla değişik oranlarda NAA ve BAP içeren MS ortamı kullanılmıştır. En iyi adventif soğan oluşumu, 2 ay sonra 2 mg/l NAA ve 0,5 mg/l BAP içeren MS ortamında gözlenmiştir. Elde edilen soğanların pul yapraklarından 0,5 mg/l BAP içeren MS ortamında adventif soğan oluşumu gözlenmiştir ve bu soğanlar 1/2 MS ortamında köklendirilmiştir [Nayak ve Sen, 1995].

Güney Afrika'da önemli bir tıbbi bitki olan *Bowiea volubilis* (*Liliaceae*) makro ve mikro çoğaltım yöntemi ile çiçek sapi eksplantlarından organogenesis yapılmıştır. 10 mm uzunluğundaki çiçek sapi eksplantları 1 mg/l 2,4-D ve 1 mg/l BAP 30 g/l sukroz ve 10 g/l agar içeren ortamda 6-8 hafta karanlıkta kültüre alınmıştır. Bu eksplantlar bitki büyümeye düzenleyicisi içermeyen ortamda, soğan oluşumu, sürgün oluşumu ve

köklenme için alındığında 4-5 hafta sonra bitkilerde kök oluşumu gözlenmiştir [Hannweg ve ark., 1996].

*Blandfordia grandiflora* bitkisinin sürgün ucu eksplantları farklı konsantrasyonlarda KIN, BAP, 2iP içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen sürgünler NAA, IBA ve IAA içeren ortamlarda köklendirilmiştir. En iyi köklenme 8 µM IBA ve 32 µM IAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Bitkiler seraya aktarıldığında en iyi adaptasyon 2 µM IBA ve 0,5 µM IAA içeren ortamlardan elde edilmiştir [Johnson ve Burchett, 1991].

*Doryanthes excelsa* bitkisinde IBA, NAA, 2,4-D, TDZ ve BAP'ın fizyolojik gelişmeye etkisi incelenmiştir. Eksplant olarak dikey kesilmiş olgunlaşmamış çiçek sapı kullanılmıştır. En iyi (% 46,2) kallus oluşum oranı 50 µM NAA ve 0,5 µM TDZ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Ancak; en yüksek soğan oluşumu (%56,8) 0,5 µM NAA ve 50 µM TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Köklendirme için gelişen sürgünler 6 hafta sonra 50 µM NAA ile muamele edilmiştir. Gelişen bitkiciklerin iklim odasında adaptasyon sağlanmıştır [Dimech ve ark., 2007].

*Muscari armeniacum*'da etkili bir genetik transformasyon için yaprak eksplantlarından kallus elde edip organogenesis ve embriyogenesis başarılı olmuştur. Rejenere olan bitkilerin histolojik ve morfolojik analizinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır [Suzuki ve Nanako, 2001].

*M. racemosum*'da ışık şiddetinin ve endojen kaynaklı büyümeye faktörlerinin etkisi üzerine yapılan çalışmada üç farklı ışık kaynağı ve karanlıkta MS besin ortamında kültüre alınmıştır. 4. hafta sonunda ışıkta kültüre alınan örneklerde adventif sürgün sayısı % 8 artmıştır ancak eksplant sayısına bölündüğünde herhangi bir etkisi olmamıştır. Karanlıkta kültüre alınanlara oranla ışıkta kültüre alınanlarda yaprak ve kök oluşumu daha fazla olmuştur. Ayrıca bu köklerin daha kalın olduğu da gözlenmiştir. Büyümeye faktörleri açısından ise; soğan dokusunda oksin ve giberelin aktivitesi düşük, sitokinin aktivitesi ise bunlara oranla yüksektir. ışıkta kültüre alma,

oksin ve sitokinin seviyesini artırmış, giberellin seviyesini ise düşürmüştür [Kromer, 1989].

*Lilium formosanum*, *Agapanthus praecox ssp. orientalis* ve *M. armeniacum*'da yer aldığı Liliaceae'ye ait türler de *Agrobacterium* aracılığı ile gen aktarım çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Agrobacterium*'un T-DNA bölgesinde *NptII*, *Hpt* ve *GUS* intron genlerini taşıyan binary vektör bulunduran üç hat kullanılmıştır. *L. formosanum*'un *A. tumefaciens*'le enfekte edilmiş kalluslarında ko-kültüvasyon sonrası hiçbir transgenik bitki elde edilememiştir. *A. praecox* ve *M. armeniacum*'da embriyonik kültürler higromisin içeren ortama alındığında çok sayıda higromisine dayanıklı hücre ve daha sonra gelişen kalluslarda somatik embriyogenesisle, transgenik bitkiler gözlenmiştir. Southern blot analizinin her türde de genin 1- 5 kopyasının genoma entegre olduğu tespit edilmiştir [Suzuki ve Nanako, 2002].

*Galanthus elwesii* ve *G. ikariae*'nin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılması için en uygun eksplant tipi ve besin ortamı araştırılmıştır. Soğan parçası ile tek veya çift yapraklı soğan pul yapraklı eksplantların en iyi soğancık oluşturma yeteneğinde oldukları belirlenmiştir. *Galanthus*'un doku kültürüne uygun olduğu, % 6 oranında kullanılan sukroz ve Gamborg MS ortamının ortamının soğancık oluşumuna önemli düzeyde olumlu etki yaptığı belirlenmiştir [Çakırlar ve ark., 1994].

*Eucomis zambesiaca*, *E. comosa*, *E. autumnalis*' in ikili pul yaprakları *in vitro*'da sürgün oluşumu için 4,4-11,1 ve 22,2  $\mu\text{M}$  BA ve 5,4  $\mu\text{M}$  NAA içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Her üç türden de elde edilen sürgünler 0-2,7-5,4 ve 10,8  $\mu\text{M}$  NAA içeren ortamda köklenmeye alınmıştır ve % 95, % 98, % 100 köklenme başarısı elde edilmiştir [Ault, 1995].

*Crocus sativus* L.'un ovaryum eksplantından direk adventif sürgün rejenerasyonu yapılarak, besin ortamının etkisi, inkübasyon koşulları ve eksplant yaşıının etkisi incelenmiştir. *Crocus sativus* 53,7  $\mu\text{M}$  NAA ve 4,4  $\mu\text{M}$  BAP içeren MS ortamında

karanlıkta 20 °C'da kültüre alındığında ovaryum başına 1,5 adet kallus ve sürgün oluşturduğu bildirilmiştir [Bhagyalakshmi, 1999].

*Narcissus confusus*'un iki hattının olgunlaşmamış tohumlarının alkaloid üretim kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Bu iki hattın, olgunlaşmış embriyo eksplantlarında kallus oluşumu, somatik embriyogenesis ve organogenesis kapasiteleri araştırılmıştır. Alkaloid içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Kallusların az miktarda galanthamin ürettiği ve galanthamin miktarının doku farklılaşmasının derecesiyle arttığı bildirilmiştir. Rejenere olan bütün bitkilerin morfolojik karakterler bakımından normal olduğu da belirtilmiştir [Selles, 1999].

Lalenin Merry Widow çeşidinin gövde eksplantlarından 1 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonu yapılmıştır. Eksplantlar bu ortamda 12 veya 16 hafta 20 °C de inkübe edildiğinde, eksplantın taban kısmında soğan primordiumları oluşmaya başlamıştır. Primodiumların gelişmesi ve artırılması için kültür kaplarına 1 ve 10 ppm etilen veya 1, 10 ve 100 µM ACC (1-aminocyclopropane-carboxylic acid) eklenmiştir. Gövde eksplantlarında endogenous ACC'nin düzeyi 7 günlük inkübasyondan sonra artmıştır [Taebe ve Alderson, 1990].

*Narscissus*'un hızlı çoğaltımında toprağa şşırtma safhaları araştırılmıştır. Çalışmada, hormon içermeyen ortamda alt kültüre alınan sürgünlerin oluşturduğu soğanlar kullanılmıştır. Şşırtmada en başarılı olan ortam aktif karbon içeren ortam olarak belirlenmiştir. Sürgünler önce 20 °C de kültüre alınmış oluşan soğancıklar dış ortama aktarılmadan önce dormansının kırılması için 5 °C'de depolanmıştır. Transplantasyon başarısının büyük çapta çeside bağlı olduğu ve % 47,8 ile %81,2 arasında başarı sağlandığı bildirilmiştir. En yüksek başarı 0,2 g'dan daha ağır olan soğancıklardan elde edilmiş, ancak soğancıkların boyutlarındaki artış çok düşük bulunmuştur [Squires ve ark., 1991].

*In vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia candida* ve *S. fischeriana* türlerin öncelikle soğan pul yaprak eksplantları farklı oranlarda büyümeye düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Soğancık oluşturan eksplant oranı (%75,99) ve

eksplant başına soğancık sayısı (3,30 adet) birlikte düşünüldüğünde en yüksek soğancık oluşumu *S. candida* türünde 4 mg/l BAP ve 0,50 mg/l KNA içeren besin ortamında 2 pul yapraklı soğan eksplantlarından elde edilmiştir. *S. fischeriana*'da ise en yüksek soğancık oluşumu (% 76,67 ve 2,59 adet) 2 mg/l BAP ve 0,50 mg/l KNA içeren ortamda yine 2 pul yapraklı eksplantlardan üretilmiştir. Öte yandan, *S. candida*'nın olgunlaşmamış zigotik embryolarının 6 mg/l piclaram içeren besin ortamında kültüre alınmasıyla 1,5 yıl sonunda eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar büyülüklüklerine göre sınıflandırılarak 5 hafta süre ile 5 °C de muhafaza edilerek toprağa aktarılmıştır [Arslan ve ark., 2002].

Sarımsak (*Allium sativum* L.) dışlarından alınan gövde disklerinin, hızlı çoğaltım için uygun bir eksplant olduğu bildirilmiştir. Bu eksplantlar hem fitohormon içermeyen LS (Linsmaier ve Skoog) ortamına hem de 0,1 mg/l NAA ve 0,1 mg/l BA içeren ortamda kültüre alındığında 2 hafta sonra her eksplanttan çok sayıda sürgün ucu geliştiği belirtilmiştir. Ancak, hormon içermeyen ortamın belirgin şekilde hormon içeren ortamdan daha fazla (bir eksplanttan 15'den fazla sürgün) sürgün verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, sürgünlerin %90'nından fazlasının soğan oluşturduğu ve rejenerasyon çalışmasından önce soğanların yaklaşık 8 hafta sonra 4 °C de ön muamele yapılması hem sürgün oluşumu hem de soğan oluşumunda olumlu etki yaptığı bildirilmiştir [Ayabe ve Sumi, 1998].

*Lilium longiflorum* (zambak)'un genetik materyal olarak uzun dönem korunması için *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Rejenere olan 10 zambak genotipinin soğanlarını 28 ay –2 C° ve 25 C° de farklı dört ortamda (1/4 MS veya tam MS, % 9 veya % 6 sukroz) filiz büyümeli ile soğan büyümeye bakılmıştır. Tüm zambak genotiplerinde filizlenme ve soğan büyümeli açısından en iyi sonucun ¼ MS ve % 9 sukroz içeren ortamda 25 °C de 28 ay depolanan uygulamadan elde edildiği bildirilmiştir [Bonnier ve Van Tuyl, 1997].

*Lilium longiflorum* hibritlerinde çalışmada genotip farklılığının soğanların ürettiği biomas ve sayısında geniş bir farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Aynı değişiklik TA

(traumatic acid) ile muamele edildikten sonra da tespit edilmiştir. TA uygulaması soğan sayısını % 20'den % 40'a ve soğanların ağırlığını da % 20'den % 60'a çıkarmıştır. Düşük kaliteli soğanların kullanılması soğanların biomasına ve sayısına olumsuz etki yapmış ve TA kullanımı bu olumsuzluğu ortadan kaldıramamıştır [Marinangeli ve Curvetto, 1997].

*In vitro* hızlı çoğaltım için *Sternbergia fischeriana* türü farklı oranlarda büyümeye düzenleyicileri içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Soğancık oluşturan eksplant sayısı 4 mg/l BA ve 0,25 mg/l NAA ya da 2 mg/l 2,4-D içeren besin ortamında eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlanmıştır. Üretilen soğancıklar büyüklüklerine göre sınıflandırılarak, 5 hafta 5 °C de muhafaza edilmiş daha sonra toprağa aktarılmıştır [Mirici ve ark., 2005].

Orkide (*Acampe praemorsa* Roxb.)'nın sürgün tomurcuklarından alınan foliar eksplantların bazal kısımlarını MS ortamında BA, KIN veya TDZ içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. TDZ içeren ortamda oluşan sürgünler 2 mg/l NAA ve 0,5 mg/l BA içeren ortama transfer edilmiştir. Araştırmacılar BA, KIN veya TDZ içeren MS ortamlarına düşük konsantrasyonlarda NAA eklenmesinin sürgün rejenerasyonuna olumlu bir etkisinin olmadığını ancak, sürgün uzamasına ve yaprakların gelişmesine olumlu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Elde edilen sürgünler 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmiştir [Nayak ve ark., 1997].

Zambak (*Lilium longiflorum*)'ın gövde nodlarından çıkarılan sürgün uçlarını  $\frac{1}{2}$  MS içeren ortamda kültüre aldığında oluşan sürgünlerin, nodül içeren gövde segmentleri 1,0  $\mu\text{M}$  BA içeren  $\frac{1}{2}$  MS ortamına alındıktan 1 ay sonra her bir nod üzerinde adventif soğancıklar olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, adventif soğanları 2,3  $\mu\text{M}$  BA içeren ortama aldığında çok sayıda sürgün olduğunu ve bu sürgünlerin 1,1  $\mu\text{M}$  NAA içeren ortamda köklendiğini ifade etmişlerdir [Nhut, 1998].

*Fritillaria thunbergii*'nın soğan pul yaprakları ile yapılan rejenerasyon çalışmasında en iyi sonucun 1,62  $\mu\text{M}$  NAA ve 4,65  $\mu\text{M}$  KIN içeren MS ortamından (%13,7) elde edildiği bildirilmiştir. Elde edilen 10 mm çapındaki soğanlar beş hafta süreyle 5

°C'de organik madde içeren, vermiculit ve perlit (1:1:1) içeren ortamda soğanların %100 sürgün verdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, rejenerasyon çalışmasına başlamadan önce soğanları 10 °C de 6 hafta bekletmenin rejenerasyonu olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir [Paek ve Murty, 2002].

*Narcissus pseudonarcissus* "Golden Harvest" çeşidinin yaprak eksplantlarından sürgün rejenerasyonu ve soğan eksplantlarından somatik embriyo elde edilmiştir. Denemelerde somatik embriyogenesis için yaprak laminası, yaprak tabanı, soğan pul yaprakları ve sap gibi eksplantlar kullanılmıştır. Somatik embriyogenesis için 5 µM 2,4-D ve 0,5 µM 2,4-D veya 5 µM BAP içeren ortamların başarılı olduğu ve sap eksplantının diğer eksplantlardan daha erken somatik embriyogenesis oluşturduğu bildirilmiştir. Ayrıca, yaprak eksplantlarında 2,4-D'nin etkili olduğunu, picloramın ise etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Somatik embriyolar 4 °C' de 4,9 µM IBA içeren ortamda bitkiciklere dönüştürülmüş ve bu bitkiler *ex vitro* koşullara transfer edilmiştir [Sage ve ark., 2000].

Önemli bir tıbbi bitki olan Nepal zambağı (*Lilium nepalense* D.Don) için bir hızlı çoğaltım protokolü geliştirilmiştir. Çalışmada, olgunlaşmamış soğanlardan hazırlanan ikili soğan pul yaprak eksplantlarından 20 µM Zeatin içeren MS ortamında sürgünler elde edilmiştir. Araştırcılar, bir eksplanttan dört hafta sonra yedi sürgünden fazla sürgün oluştuğunu bildirmiştirlerdir. Ayrıca, köklendirmenin ½ MS ortamında MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği rapor etmişlerdir [Wawrosch ve ark., 2001].

*Allium*, *Dichelostemma*, *Eucrosia*, *Gladiolus*, *Haemanthus*, *Hyacinthus*, *Narcissus*, *Nerine* ve *Ornithogalum* cinslerine ait soğanlarla yapılan çalışmada çiçek kısımlarının, soğan pul yaprakları ve corm'lardan alınan apikal meristem uçlarının rejenerasyon kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Tüm türlerde genel olarak çiçekten alınan eksplantların soğan ve corm eksplantlarından daha başarılı olduğu bildirilmiştir [Ziv ve Lilien-Kip, 2000].

### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Bitki Materyali**

Çalışmalarda materyal olarak kullanılan, *M. muscarimi* ve *M. macrocarpum* soğanları A.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme parsellerinden, *M. adilii* ve *M. neglectum* soğanları Doğandede Tepesi (Beypazarı Ankara) doğal yetişme alanından temin edilmiştir. Soğanların teşhisi, Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde yapılmıştır.

#### **3.2. Metot**

##### **3.2.1. Soğanların yüzey sterilizasyonu**

Tüm soğanlar deterjanlı su ile yıkandıktan sonra iki ay süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Soğanların yüzey sterilizasyonu için en iyi sonucun alınacağı en düşük dezenfektan dozu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla soğanlar, 1/100 ml/ml olacak şekilde Tween 20 içeren %80 ticari çamaşır suyu (Ace-Türkiye, %5 NaOCl) ile 20 dakika manyetik karıştırıcıda yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra steril saf su ile 3 kez durulanmıştır.

*M. adilii* ve *M. neglectum* türlerinde % 80 ticari çamaşır suyu ile 20 dakika muamele edildiğinde eksplantlar üzerinde 1 hafta sonunda fungus gözlenmiştir. Soğanlar pul yapraklarına ayrılarak 2 saat süre ile %1 v/v'lik PPM'de bekletilmiştir.

Soğanlar laminar flow içinde, steril bistüri ve pens ile kesilerek pul yapraklarına ayrılmıştır.  $24 \pm 1$  °C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyodunda içerisinde %3 sukroz ve % 0,7 agar (Type A) ile katılaştırılan MS besin ortamında steril petri kapları bir hafta süreyle bekletilmiş, daha sonra oksin-sitokinin içeren rejenerasyon ortamlarına alınmıştır.

### 3.2.2. Bitki büyümeye ortamları ve düzenleyicileri

Denemelerde, MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige and Skoog 1962) (Çizelge 3.1), farklı oranlarda sukroz ile katılaştırma amacıyla agar (type A, Sigma) içeren besin ortamları kullanılmıştır. Ortam hazırlığında çift distile su kullanılmış olup, besin ortamına, farklı kombinasyonlarda bitki sitokinin ve oksin ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1. Murashige and Skoog ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

Ortamda Bulunan Maddeler	Konsantrasyonlar (mM)
$\text{KNO}_3$	18,79
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	20,61
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,26
$\text{CaCl}_2$	2,99
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,50
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,11
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,10
FeNa EDTA	0,10
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,10
KI	5,00
$\text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,10
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,03
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	29,91
Glycine	26,64
Nicotinic acid	4,06
Pyridoxin-HCl	2,43
Thiamine-HCl	0,30
Myo-inositol	0,56

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, Sigma Aldrich Chemical Co.'dan temin edilmiştir. Bitki büyümeye düzenleyicileri uygun çözüçülerde Çizelge 3.2.'de verildiği

gibi çözüldükten sonra istenilen miktarda ve oranda stok solusyonları hazırlanmıştır. Isı muamelesi ile bozulmayan bitki büyümeye düzenleyicileri otoklavlanmadan önce besin ortamına ilave edilirken, KIN ve IBA ısı muamelesi ile bozulabileceğinden filtre sterilizasyonu yapılarak -20 °C'de muhafaza edilmiştir ve gerektiğinde besin ortamları içerisine otoklavdan sonra ilave edilmiştir. Hazırlanan bitki büyümeye düzenleyicileri stok solusyonları iki ay süreyle muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 3.2. Kullanılan bitki büyümeye düzenleyicileri**

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Çözücü	Saklama Koşulları (°C)
Oksinler NAA IBA	1N NaOH Etanol	+4 -20
Sitokininler BAP Kinetin TDZ	1N NAOH 1N NAOH Etanol	+4 -20 +4

### **3.2.3. Kültür koşulları**

Besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da HCl kullanılarak 5,6-5,8'e ayarlandıktan sonra otoklavda (Hirayama Hıclave Hv-110 Japon) 1,4 kg/cm<sup>2</sup> basınç altında 121 °C'de 20 dakika sterilizasyon sağlanmıştır. Tüm kültürler iklim dolaplarında (Sanyo Japon) beyaz floresans ışığı altında 16 saat ışık 8 saat karanlık periyodunda 24 °C bekletilmiştir.

### **3.2.4. *In vitro* çalışmalar**

#### Soğan Rejenerasyonu

##### *M. muscarimi*

*M. muscarimi* soğan rejenerasyonu için, tüm eksplantlar (ikili pul, yaprak ayası, *in vitro* soğan ve pullar) Çizelge 3.3.'de verilen bitki büyümeye düzenleyicilerinin tamamı ya da bir kısmı kullanılarak, petri yada magentalarda 4'er eksplant ve 3'er tekerrür olacak şekilde kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.3. *M. muscarimi*'nin farklı BAP-KIN ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı

Ortamlar	
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)
1	0,5
1	1
1	2
2	0,5
2	1
2	2
4	0,5
4	1
4	2
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)
1	0,5
1	1
1	2
2	0,5
2	1
2	2
4	0,5
4	1
4	2
MS (Kontrol)	

*M. macrocarpum*

*M. macrocarpum* pul yaprakları ve bunlardan elde edilen primer soğanlar Çizelge 3.4'de verilen bitki büyümeye düzenleyicisi içeren MS besin ortamlarına petri ya da magentalarda 4'er eksplant ve 3'er tekerrür olacak şekilde kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.4. *M. macrocarpum*'un farklı BAP-KIN ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı

Ortamlar	
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)
1	0,5
1	1
1	2
2	0,5
2	1
2	2
4	0,5
4	1
4	2
KIN(mg/l)	NAA (mg/l)
1	0,5
1	1
1	2
2	0,5
2	1
2	2
4	0,5
4	1
4	2
MS (Kontrol)	

*M. neglectum*

*M. neglectum* soğan rejenerasyonunda ikili pul yaprak eksplantları ve primer soğanları Çizelge 3.5'de verilen bitki büyümeye düzenleyicileri içeren MS besin ortamlarına petri, ya da magentalarda 4'er eksplant ve 3'er tekerrür olacak şekilde kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.5. *M. neglectum*'un farklı BAP, TDZ ve NAA büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)
1	0,5
1	1
1	2
2	0,5
2	1
2	2
4	0,5
4	1
4	2
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)
0,1	0,5
0,1	1
0,1	2
0,15	0,5
0,15	1
0,15	2
0,2	0,5
0,2	1
0,2	2
MS (Kontrol)	

### *M. adilii*

*M. adilii* soğan rejenerasyonu için, tüm eksplantlar (ikili pul, *in vitro* soğan ve pullar, soğan dip kısımları) Çizelge 3.7'de verilen bitki büyümeye düzenleyicilerinin tamamı, ya da bir kısmı kullanılmıştır. Eksplantlar petri ya da magentalarda 4'er eksplant ve 3'er tekerrür olacak şekilde kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.6. *M. adilii*'nin farklı BAP-TDZ ve NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamı

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)
1	0,5
1	1
1	2
2	0,5
2	1
2	2
4	0,5
4	0,1
4	2
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)
0,1	0,5
0,1	1
0,1	2
0,15	0,5
0,15	1
0,15	2
0,2	0,5
0,2	1
0,2	2
MS (Kontrol)	

### Köklenme

#### *M. muscarimi*

1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar Çizelge 3.8'de verilen, MS ve  $\frac{1}{2}$  MS içeren besin ortamında farklı konsantrasyonlarda oksin (IBA ve NAA) içeren ortamlarda köklenmeye alınmıştır. Her magentaya iki eksplant konularak altı tekerrürlü olarak hazırlanmıştır.

Çizelge 3.7. Farklı oksin ve MS oranlarında köklendirme

MS Ortamın Oranı	IBA (mg/l)
MS	0,25
MS	0,5
MS	1
$\frac{1}{2}$ MS	0,25
$\frac{1}{2}$ MS	0,5
$\frac{1}{2}$ MS	1
	NAA (mg/l)
MS	0,25
MS	0,5
MS	1
$\frac{1}{2}$ MS	0,25
$\frac{1}{2}$ MS	0,5
$\frac{1}{2}$ MS	1
MS (Kontrol 1)	-
$\frac{1}{2}$ MS (Kontrol 2)	-

Çizelge 3.8'de verilen ortamlar içerisinde köklenme 1 mg/l IBA'da gerçekleşmiştir. Bu nedenle BAP-NAA ve KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınan tüm soğanlar 1 mg/l IBA'da köklendirilmiştir.

4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlar 30-45-60 g/l sukroz içeren MS ortamda köklendirilmeye alınmıştır.

#### *M. macrocarpum*

BAP-NAA ve KIN-NAA içeren besin ortamından alınan soğanlar magentalar içerisinde her magentada dört eksplant olacak şekilde üçer tekerrür olacak şekilde MS'de köklenmeye alınmıştır.

#### *M. neglectum* ve *M. adili*

BAP-NAA ve TDZ-NAA içeren besin ortamından alınan soğanlar magentalar içerisinde her magentada dört eksplant olacak şekilde üçer tekerrür olacak şekilde MS'de köklenmeye alınmıştır.

Soğan çapının ve köklendirmeyi artırmak amacıyla 0,1 mg/l TDZ-0,5-1-2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlar, köklendirilmek üzere 30-60-90 g/l sukroz içeren MS besin ortamı içeren magentalara konulmuştur. Bu magentalar altı hafta sonunda soğanlar +4 °C'de 2 hafta süre ile bekletilmiştir.

### **3.2.5. Adaptasyon**

Köklenen bitkiler üçer tekerrürlü olacak şekilde çiçek toprağı içeren 15 cm boyundaki saksılara konularak üzerlerine 1 hafta süre ile şeffaf torbalar geçirilmiştir. İlkinci günden itibaren şeffaf poşetlerin üzerlerine küçük delikler açılmıştır. Açılan delik sayısı her gün artırılarak 1 hafta sonunda saksıların üzerindeki torbalar çıkarılmıştır. Bu süre zarfında, 1 hafta % 80 nem içeren 16 saat fotoperiyodunda 24 °C'de iklim dolaplarında her gün sulanarak dış ortama alıştırılmıştır. Daha sonra 16 saat ışık fotoperiyodunda ve 24 °C'de adapte olmaları sağlanmıştır. Soğanlar 8 hafta sonunda saksılardan çıkarılarak kökleri incelenmiştir.

### **3.2.6. İstatistiksel değerlendirmeler**

Denemeler, tesadüf deneme parselleri veya tesadüf deneme desenine göre kurulmuş olup her muamele, içerisinde 4 adet eksplantın bulunduğu 3 tekerrürlü 100 x 10 mm'lik petri kutularından veya magenta kutularından oluşmuştur. Elde edilen veriler "SPSS for Windows" one way anova veya univariate analysis ile varyans analizine tabi tutulmuştur, muamele ortamlarını karşılaştırmak amacıyla M-STAT C bilgisayar programı kullanılarak Tukeys b testi uygulanmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor and Cochran 1967).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. *M. muscarimi*

#### 4.1.1. *M. muscarimi*'nin BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu

İki hafta sonunda ikili pul yapraklardan rejenerasyon hızının belirlenmesi:

Farklı kombinasyonlarda BAP-NAA içeren MS besin ortamında ikili pul yapraklardan iki hafta sonunda eksplantların kallus ve pullar üzerinden çıkan soğan uçlarının oluşumuna bakılarak rejenerasyon hızı belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. BAP-NAA içeren MS besin ortamında iki hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyon hızına ait varyans analizi

V.K.	S.D	Kallus Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Uçlarının Oluşumu (adet)	
		K.O	F	K.O	F
İkili Pullardan Rejenerasyon	9	0,61	6,11**	1,91	57,33**
Hata	20	0,10		0,03	
Toplam	29				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Tüm ortamlarda soğan uçları oluşmuştur.

Çizelge 4.2. BAP-NAA içeren MS besin ortamında iki hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyon hızına ait Tukey's b testi

Ortam		Kallus Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Ucu Oluşumu (adet)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	30,00b	2,00b
1	1	100,00a	2,00b
1	2	100,00a	2,00b
2	0,5	100,00a	2,00b
2	1	0,00c	2,00b
2	2	30,00b	1,00c
4	0,5	30,00b	2,00b
4	1	100,00a	3,00a
4	2	0,00c	3,00a
MS (Kontrol)		0,00c	0,33d

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir.

Çizelgede 4.2'de görüldüğü gibi iki hafta sonunda kallus oluşumu % 0-100 arasında değişmiştir. Eksplant başına soğan ucu sayısının 0,33-3 adet arasında değiştiği ve en iyi ortamın 4 mg/l BAP-1 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren besin ortamları olduğu gözlenmiştir.

#### 10 hafta sonunda ikili pul yapraklardan soğan rejenerasyonu:

*M. muscarimi* soğan pullarının 10 hafta sonunda, eksplantların soğan oluşum yüzdeleri, kallus oluşum yüzdeleri, eksplant başına soğan sayısı, soğan çapları ve köklenme yüzdelerine ait veriler, varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. BAP-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K	S.D	Soğan Oluşumu (%)		Kallus Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)		Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
İkili Pullardan Rejenerasyon	9	1687,50	9,00**	6854,17	329,0**	97,54	139,34**	0,10	38,319**	17,82	3,56**
Hata	20	187,50		20,83		0,70		0,00		5,01	
Toplam	29										

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

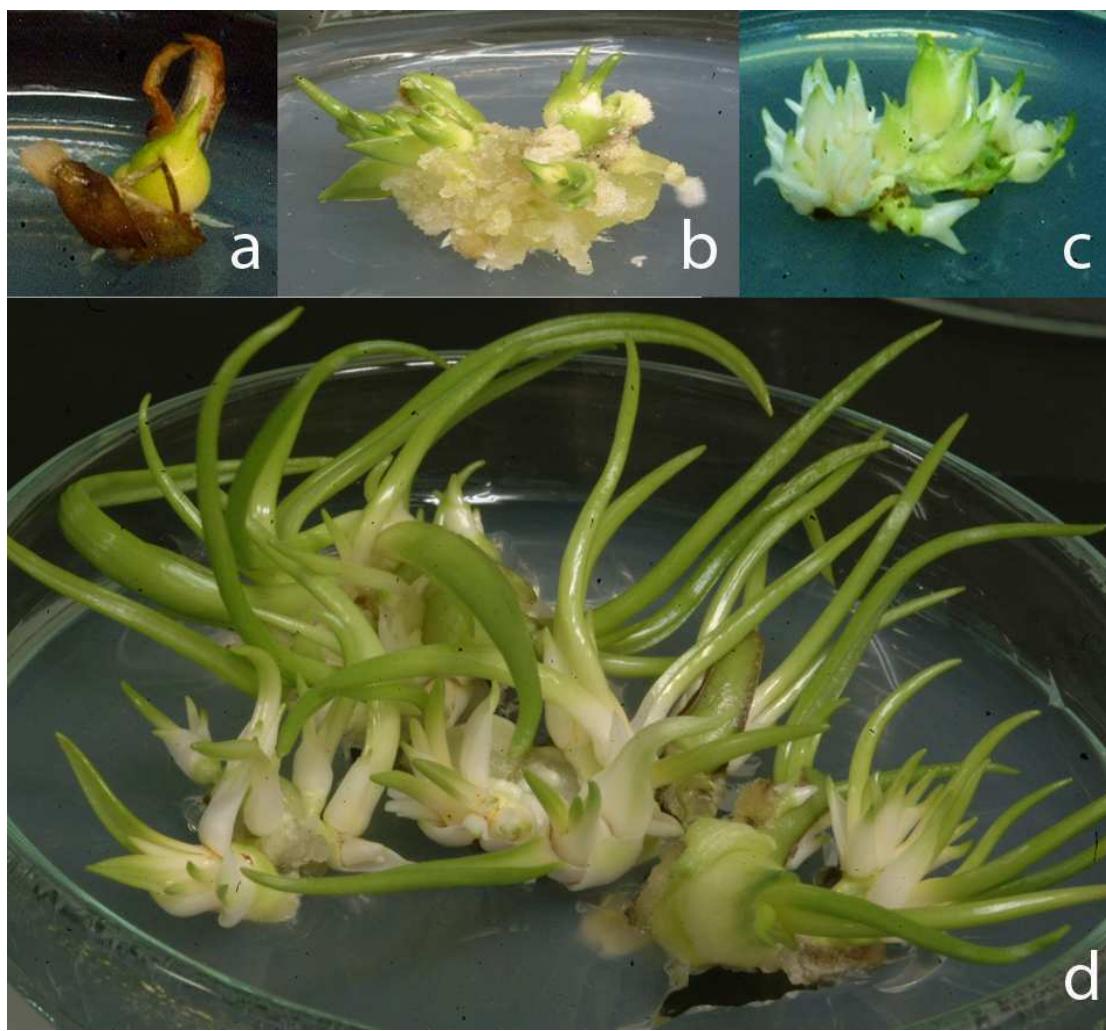
Tüm parametrelerde ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b Testi sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

**Çizelge 4.4. 10 hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi**

Ortam		Soğan Oluşumu(%)	Kallus Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	100,00a	100,00a	10,33d	0,40b	0,00b
1	1	100,00a	100,00a	8,00e	0,44a	0,00b
1	2	66,67b	100,00a	13,00c	0,28d	0,00b
2	0,5	50,00b	0,00b	5,33f	0,34c	0,00b
2	1	41,67b	100,00a	6,00f	0,41ab	0,00b
2	2	66,67b	100,00a	4,67f	0,36c	0,00b
4	0,5	100,00a	100,00a	16,00b	0,41ab	0,00b
4	1	100,00a	100,000a	14,00c	0,28d	0,00b
4	2	100,00a	0,00b	19,00a	0,36c	0,00b
MS (Kontrol)		100,00a	0,00b	1,00 g	0,30d	100,00a

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir.

Soğan oluşumu % 41,67-100 arasında değişirken, 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA, 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında ve MS (kontrol) ortamında kallus oluşumu gözlenmemiştir (Resim 4.1.a). 1 mg/l BAP- 0,5-1-2 mg/l NAA, 2 mg/l BAP-1 mg/l NAA (Resim 4.1.b), 2 mg/l BAP- 2 mg/l NAAve 4 mg/l BAP- 0,5-1 mg/l NAA içeren MS ortamlarında %100 kallus oluşumu gözlenmiştir. Eksplant başına soğan sayılarına bakıldığından, en fazla soğan 5. haftadan itibaren soğanlardan biri ve diğerlerine göre büyük olmak üzere 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Resim 4.1.c). Bu besin ortamında 10. hafta sonunda da 19 adet soğan elde edilmiştir (Resim 4.1.d). Soğan çaplarına bakıldığından ise en büyük çaplar; 0,44 cm ile 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamda gözlenirken; 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren besin ortamında ise, 0,36 cm olarak bulunmuştur. Sadece MS (Kontrol) besin ortamında %100 köklenme görülmüştür.



Resim 4.1. BAP-NAA içeren MS besin ortamında *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyonu  
 (a) MS (Kontrol) (b) 2 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında 5 hafta sonunda kallus üzerinden çıkan soğan oluşumu (c-d) 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamda 5. ve 10. hafta da soğan gelişimi

Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

Pul yapraklardan elde edilen primer soğanların her ortam için en büyük çapa sahip soğanlardan 12 adeti seçilerek, yine aynı ortamlarda sekiz hafta süreyle rejenerasyona tabi tutulmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *M. muscarimi* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapları (cm)		Primer Soğanların Son Çapları (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	0,02	0,63	0,02	0,81	0,01	1,16
Hata	20	0,04		0,03		0,16	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Sekonder Soğanların Ortalama Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	6687,15	53,50**	19,99	19,32**	0,13	4,85**
Hata	20	125,00		1,04		0,03	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

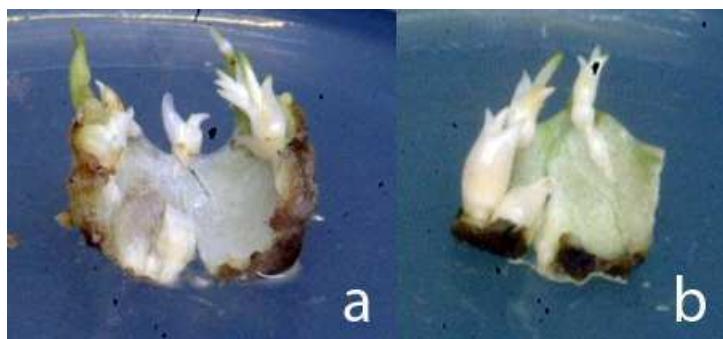
Varyans analizi sonuçlarına göre sekonder soğan oluşumu, çapı ve sayıları bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.6' da verilmiştir.

Çizelge 4.6. *M. muscarimi* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukeys b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapları (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	Eksplant Başına Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Sekonder Soğanların Ortalama Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)						
1	0,5	0,82	0,89	0,07	0,00c	0,00d	0,00c
1	1	0,99	1,17	0,17	0,00c	0,00d	0,00c
1	2	0,88	0,97	0,09	100a	4,67ab	0,30abc
2	0,5	0,70	0,87	0,17	100a	4,33ab	0,12bc
2	1	0,83	0,88	0,05	50bc	0,75d	0,54a
2	2	0,93	1,04	0,11	100a	1,03cd	0,41ab
4	0,5	0,97	1,02	0,05	100a	2,58ab	0,43ab
4	1	0,95	0,99	0,04	25bc	0,50d	0,32ab
4	2	0,92	0,95	0,09	100a	8,08a	0,47a
MS (Kontrol)		0,30	0,95	0,08	0,00c	0,00c	0,00d

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir.

4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS ortamından gelişen sekonder soğanlar diğer ortamlardan farklı olarak, primer soğanın en dışındaki pul yaprağın açılması ile oluşmaktadır (Resim 4.2.a).

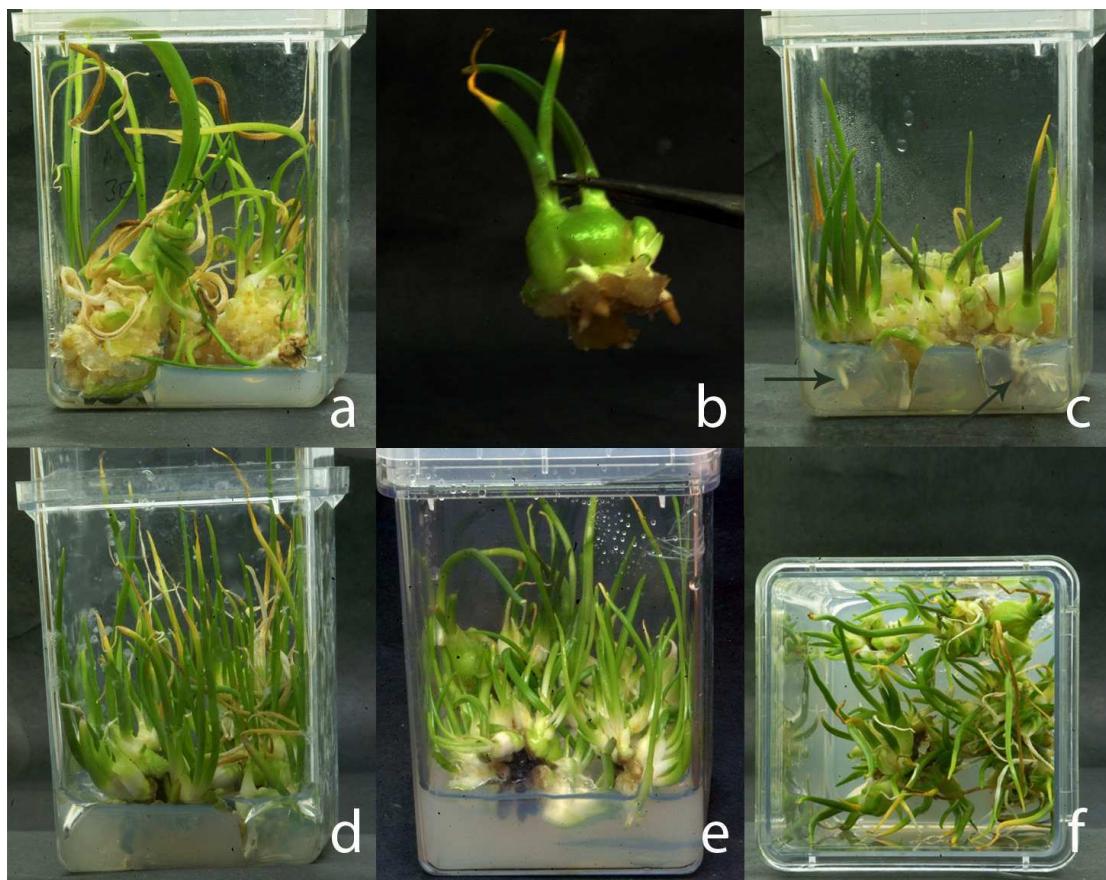


Resim 4.2. (a-b) *M. muscarimi*'nin 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS ortamında sekonder soğan gelişimi

2 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında 4,33 adet sekonder soğan oluşmuş, oluşan soğanların yaprak ayalarının diğer ortamlara göre geniş ancak yapraklarda anormal kıvrılmalar olduğu görülmüştür (Resim 4.3.a). Rejenerasyon için seçilen primer soğanların çapları, yaklaşık olarak aynı büyüklükte soğanlar seçilmiş ve ilk çap arasında istatistiksel olarak bir farkın olması engellenmiştir. Bu sayede soğan son çaplarında ortamlar arasında istatistiksel bir fark olmadığı görülmüştür. En büyük çap 1,17 cm ile 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamda bulunmuştur (Şekil 4.3.b). 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında soğanların köklendiği görülmüştür. (Şekil 4.3.c). Çaplar arası farkın 0,04-0,17 cm arasında değiştiği fakat istatistiksel olarak önemli bir çap farkının oluşmadığı gözlenmiştir. Sekonder soğan sayılarında 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamının 8,08 adet ile en iyi ortam olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3.d). 1 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS ortamları kontrol grubunda, sekonder soğan oluşumu gözlenmemiştir. En büyük sekonder soğan çapları 0,54 cm ile 2 mg/l BAP- 1 mg/l NAA ve 0,47 cm ile 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında tespit edilmiştir. Bu iki ortam arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilen soğanların diğer ortamlardan elde edilenlerden daha yeşil ve canlı olduğu görülmüştür. 1 mg/l BAP- 2

mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında kallus oluşumu gözlenmemiştir. 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA ortamında çok miktarda kallus oluşumu gözlenirken, diğer ortamlarda daha az kallus oluşumuna rastlanmıştır.



Resim 4.3. BAP-NAA içeren MS besin ortamında *M. muscarimi* ikili pul yapraklardan elde edilen primer soğanların rejenerasyonu ve 1. alt kültürü (a) 2 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında oluşan anormal yaprak ayası (b) 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamda 1,17 cm'lik soğan (c) 1 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS içeren ortamda soğanlarda köklenme (d) 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında soğan gelişimi (e-f) 12 hafta sonunda 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında primer soğanların 1. alt kültür rejenerasyonu

#### Primer soğanların rejenerasyonunun 12 hafta sonunda 1. alt kültür sonuçları:

Primer soğanların (Bknz. Çizelge 4.6 3. sütun) yanında gelişen sekonder soğanlar uzaklaştırılarak 1. alt kültüre alınmıştır. 12 hafta sonra ana soğanda meydana gelen

son çaplar, çaplar arası fark primer soğanın yanında oluşan sekonder soğan çapları ve yavru soğanlar sayılmıştır (Çizelgen 4.7.).

Çizelge 4.7. 12 hafta sonunda *M. muscarimi* primer soğanlarının 1. alt kültür sonuçlarına ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapı (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu 1. Alt Kültür	8	0,01	0,50	0,03	1,84*	0,09	0,46
Hata	18	0,03		0,01		0,02	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Oluşan Sekonder Soğanların Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu 1. Alt Kültür	8	1342,59	12,59**	18,35	13,89**	1,03	28,60**
Hata	18	106,67		1,32		0,04	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\*\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizi sonucunda sekonder soğan sayısı, sekonder soğan oluşumunda ve çaplarında ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları da Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. 12 Hafta sonunda *M. muscarimi* primer soğanlarının rejenerasyonunun 1. alt kültürüne ait Tukey's b testi

Ortam		Primer Soğan İlk Çapı (cm)	Primer Soğan Son Çapı (cm)	Primer Soğan Çap Farkı (cm)	Eksplant Başına Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Ortalama Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)						
1	0,5	0,80	0,90b	0,10	83,33a	0,83c	0,27
1	1	1,02	1,24a	0,22	33,33b	0,33c	0,09
1	2	0,92	1,06ab	0,14	100,00a	3,75b	0,25
2	0,5	0,83	1,06ab	0,23	100,00a	1,17c	0,20
2	1	0,88	1,10ab	0,19	100,00a	4,92b	0,22
2	2	0,92	1,03ab	0,11	100,00a	1,33c	0,21
4	0,5	0,94	1,12ab	0,16	100,00a	4,67b	0,23
4	1	0,99	1,06ab	0,07	100,00a	4,00b	0,23
4	2	0,95	0,98b	0,11	100,00a	7,83a	0,21

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir.

Tüm soğanlar 1. alt kültüre alındıktan sonra da sekonder soğan oluşturmuştur. Bir önceki primer soğanların rejenerasyonu denemesinde yeterli sonuç alınamadığından kontrol grubu için deneme kurulmaya gerek duyulmamıştır. 12 hafta sonunda primer soğanların son çapında 0,9-1,24 cm'lik bir değişiklik meydana gelse de, genel olarak çaplar arasında önemlilik olmadığı ve çap farklarının 0,07-0,23 cm arasında değiştiği gözlenmiştir. Ana soğanın yanından çıkan yavru soğan sayılarında en iyi sonuçlar, 7,83 adet soğanla 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Resim 4.3.e-f). 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilen soğanlar etli ve geniş bir yaprak ayasına sahip olmuşlardır. 4 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamındaki primer soğanların yapraklarında sararma olması nedeniyle, köklendirmede sekonder soğanlar kullanılmıştır.

1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen soğanların değişik oksin ve MS konsantrasyonlarında köklendirilmesi:

Primer soğanlar ve 1. alt kültür soğan son çapları (Bknz. Çizelge 4.6 ve 4.8) sonuçlarına bakıldığından en büyük çapa sahip soğanlar 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Elde edilen bu soğanlar Çizelge 4.10'da gösterilen farklı oksinlerde (NAA-IBA),  $\frac{1}{2}$  MS ve MS içeren ortamlarda köklendirmeye alınmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğanlarda Meydana Gelen Çap Farkı (cm)		Kök Oluşturan Eksplant Nispeti (%)		Eksplant Basına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Farklı Oksin ve MS Dozlarında Köklenme	13	0,02	1,78	2053,83	31,04**	8,74	1733,76**	41,84	505,16**
Hata	28	0,12		66,17		0,00		0,08	
Toplam	41								

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

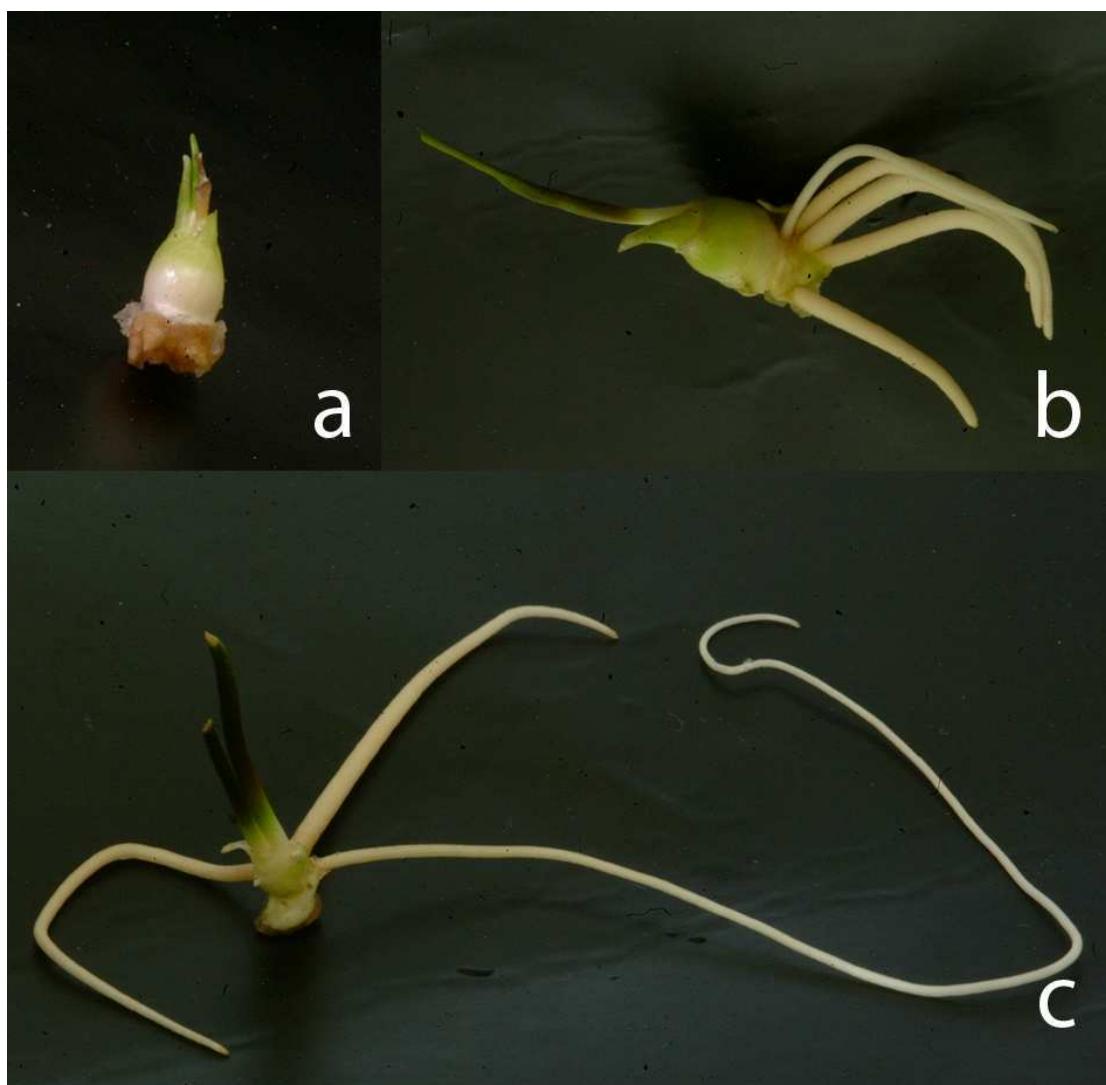
Soğanların ilk çapları yaklaşık olarak eşit büyüklükte seçilmiştir. 10 hafta sonunda yapılan varyans analizinde köklenme yüzdesi, ekplant başına kök sayısı ve eksplant başına kök uzunluğu farkı ortamlar arasında 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.10' da verilmiştir.

Çizelge 4.10. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının köklendirilmesine ait Tukey's b testi

Ortam	Soğanlarda Meydana Gelen Çap Farkı (cm)	Kök Oluşturan Eksplant Yüzdesi (%)	Eksplant Basına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)
½ MS+0,25 mg/l IBA	0,22	88,88ab	2,21d	5,30c
½ MS+0,5 mg/l IBA	0,22	100,00a	1,15g	3,62e
1/2MS+1 mg/l IBA	0,14	22,22i	0,18j	0,26g
MS +0,25 mg/l IBA	0,23	61,11cde	2,73c	10,65a
MS +0,5 mg/l IBA	0,37	72,22bcd	3,49b	6,46bc
MS +1 mg/l IBA	0,37	100,00a	6,68a	4,25 d
½ MS+0,25 mg/l NAA	0,21	38,89hi	0,37i	0,09g
½ MS+0,5 mg/l NAA	0,11	33,33ghi	0,36i	0,17g
½ MS+1 mg/l NAA	0,09	94,44a	2,25d	0,28g
MS+0,25 mg/l NAA	0,03	83,33ab	1,86e	0,19g
MS+0,5 mg/l NAA	0,14	44,44fgh	1,00g	0,17g
MS+1 mg/l NAA	0,12	44,44fgh	1,62f	0,46g
MS	0,17	77,77abc	0,98g	4,53d
½ MS	0,08	55,56efg	0,62h	1,15f

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Köklenme yüzdesi bakımından en iyi ortamların 1 mg/l IBA içeren ½ ve 1 MS ile 0,25 mg/l NAA içeren ½ MS ortamı olduğu tespit edilmiştir. 0,25 ve 0,5 mg/l NAA ½ MS içeren ortamda kökler gelişmemeyip, sadece küçük kök uçları şeklinde kalmıştır (Resim 4.4.a). Eksplant başına, en fazla köklenme 1 mg/l IBA içeren MS ortamında tespit edilirken (Resim 4.4.b), eksplant başına en uzun kökler 0,25 mg/l IBA içeren MS ortamından elde edilmiştir (Resim 4.4.c).



Resim 4.4. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının farklı oksin ve MS konsantrasyonlarında köklendirilmesi

(a) 0,25 mg/l NAA içeren  $\frac{1}{2}$  MS ortamında köklenme (b) 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklenme (c) 0,25 mg/l IBA içeren MS ortamında köklenen soğan

BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında pul yapraklardan elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi:

Rejenerasyon ortamının köklendirmeye yan etkisi olup-olmadığını belirlemek amacıyla Çizelge 4.4'de belirtilmiş 9 farklı ortamda elde edilen tüm soğanlar,

optimize edilerek en fazla kök sayısının alındığı 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında (Bknz. Çizelge 4.10.) köklendirilmiştir (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında *M. muscarimi* pul yapraklarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğanların İlk Çapı (cm)		Soğanların Son Çapı (cm)		Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
1 mg/l IBA İçeren Ortamda Köklendirme	8	0,02	2,27**	0,05	4,08**	0,02	1,86**
Hata	18	0,01		0,01		0,01	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Yavru Soğanların Oluşum Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Yavru Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Yavru Soğanların Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
1 mg/l IBA İçeren Ortamda Köklendirme	8	1093,75	1,89*	7,60	7,42**	0,02	0,91
Hata	18	578,70		1,067		0,02	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Kök Oluşum Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
1 mg/l IBA İçeren Ortamda Köklendirme	8	2106,48	5,35**	9,76	12,46**	7,40	5,51**
Hata	18	393,52		0,78		1,34	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

10 hafta sonunda yapılan varyans analizinde ilk çap, son çap, ortamlar arasındaki çap farkı, köklenme yüzdesi, ekplant başına kök sayısı ve eksplant başına kök uzunluğu, sekonder soğan çapı, 0,01 ve oluşum yüzdeleri 0,05 önemli çıkmıştır. Bu

farklılıkların önem düzeylerini belirleyen Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir.

**Çizelge 4.12.** BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında *M. muscarimi* pul yapraklarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmesine ait Tukey's b testi

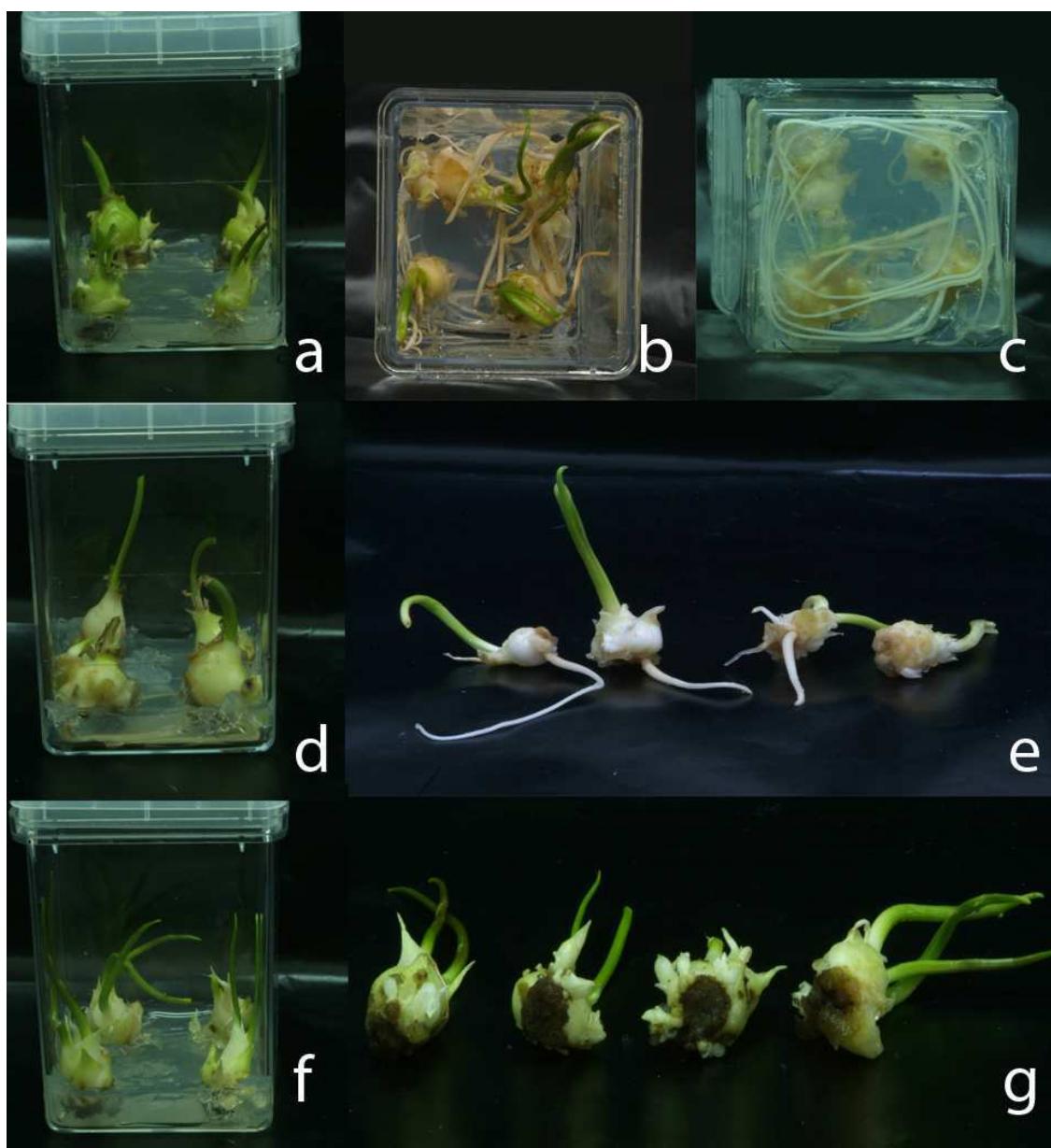
Soğanların Rejenerere Oldukları Ortamlar		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğan Çap Farkı (cm)	Eksplant Başına Yavru Soğan Oluşum Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Yavru Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Yavru Soğan Çapı (cm)	Eksplant Başına Kök Oluşum Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)									
1	0,5	0,95ab	1,11d	0,16b	58,33ab	1,50b	0,18	41,67cd	1,00b	2,87ab
1	1	1,11 a	1,42ab	0,31ab	75,00ab	2,00bc	0,39	100,00a	5,25a	8,00a
1	2	1,02ab	1,26bcd	0,24ab	75,00ab	1,75bc	0,18	100,00a	4,14a	0,58c
2	0,5	0,98ab	1,40abc	0,43a	41,67b	1,17b	0,25	91,67ab	3,67a	1,43bc
2	1	0,99ab	1,26bcd	0,24ab	100,00a	2,42bc	0,38	50,00cd	0,77b	0,31c
2	2	0,84b	1,15d	0,32ab	91,67a	2,67bc	0,26	33,33d	0,72b	0,64c
4	0,5	1,08a	1,50ab	0,43a	83,33ab	1,17b	0,26	75,00 abc	1,67b	2,32ab
4	1	0,87b	1,19cd	0,32ab	75,00ab	2,42bc	0,24	41,67cd	0,42b	0,13c
4	2	1,03ab	1,26bcd	0,24ab	100,00a	4,00a	0,26	0,00d	0,00c	0,00c

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Soğanlar köklendirilirken 9 değişik ortamdan alındığı için, rejenerasyon ortamına bağlı olarak ilk çapları farklıdır bu nedenle de BAP-NAA içeren MS denemesinin sonundaki son çaplar ve çap farkları da anlamlı çıkmıştır. İlk en büyük çaplar ve en iyi kök oluşumu 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA (Şekil 4.5.a-b-c) içeren ortamdan elde edilmiştir. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan sonra en büyük soğan çapları ise, 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda bulunmuştur (Şekil 4.5.d-e). Son çaplar da yine aynı ortamlarda en fazla artış göstermiştir. 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren besin ortamında en fazla çap soğan çap artışı meydana gelmiştir. Eksplant başına en fazla kök sayısı 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA, 1 mg/l BAP-2 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren ortamlardaki soğanlarda gözlenmiştir. En uzun köke sahip soğanlar ise, 1 mg/BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda gözlenmiştir (Şekil 4.5.a-b-c).

Köklenme ortamında da tüm rejenerasyon ortamlarında olduğu gibi ana soğanın yanında sekonder soğanlar oluşmuştur. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlarda % 100 sekonder soğan oluşmuştur. Sekonder soğan çaplarında, önemli bir fark gözlenmemiştir. En fazla soğan, 4 mg/l

BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamından alınan soğanlarda gözlenmiştir. Fakat, bu ortamda da köklenme olmamıştır (Şekil 4.5.f-g).



Şekil 4.5. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında pul yapraklardan elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi (a-b-c) 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS ortamda en büyük en fazla ve en uzun kökler (d-e) 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar ve kökleri (f-g) sonuçlar 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS ortamından alınarak 1mg/l IBA'da köklendirilemeyen soğanlar

BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak IBA'da köklendirilen soğanların toprağa alışırlaması:

Köklü soğanlar (Bknz. Çizelge 4.12) önce bir hafta süreyle % 80 nemli ortamda üzerlerine poşet geçirilerek dış ortama alışırlmış (Resim 4.6.a) daha sonra seraya adaptasyonu sağlanmıştır (Resim 4.6.b).



Resim 4.6. *M. muscarimi* soğanlarının dış ortama alışırlaması

- (a) köklü soğanlar öncelikle 1 hafta süreyle % 80 nem ile üzerlerine poşet geçirilerek dış ortama alışırlaması (b) serada adaptasyonun sağlanması

Sekiz hafta sonra, adaptasyonun köklenme üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla, saksılardan çıkarılarak kök sayıları ve kök uzunlukları incelenmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen *M. muscarimi* soğanlarının sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F
Adaptasyon Etkisi	8	4,43	6,28**	70,72	1,39
Hata	18	0,70		50,79	
Toplam	26				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamından alınan soğanlar dışında tüm ortamlarda % 100 kök bulunmaktadır bu nedenle köklenme nispetleri için analiz yapılmamıştır. Diğer iki özellik için yapılan varyans analizinde kök sayısı ve kök uzunluğuna bakılmıştır. Kök sayısında ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.14' de verilmiştir.

Çizelge 4.14. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen *M. muscarimi* soğanlarının 8 hafta sonunda topraktaki kök gelişimlerine ait Tukeys b testi

Adaptasyonu Yapılan Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	1,33bc	6,42
1	1	4,00a	1,67
1	2	1,33bc	11,70
2	0,5	3,33ab	3,69
2	1	2,00abc	3,55
2	2	1,00bc	1,50
4	0,5	1,33bc	13,40
4	1	2,00abc	11,44
4	2	0,00c	0,00

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Kök sayısı bakımından en iyi ortam 4 adet kök ile 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS ortamıdır. Sadece 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS ortamında köklenme görülmemiştir. *In vitro* 'da elde edilen köklerin öldüğü, yerlerine 0-4 adet arasında ve 1,50-13,40 cm uzunluğunda değişen yeni köklerin oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.7.a-b).



Resim 4.7. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak IBA'da köklendirilen *M. muscarimi* soğanlarının toprağa alışırlamasından sekiz hafta sonraki kök durumu  
 (a) 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA'de kökler (b) 4 mg/l BAP- 1 mg/l NAA'de oluşan yan dallı kökler

4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdaki soğanların farklı oranlarda sukroz içeren ortamlara alınması:

Soğan oluşumu bakımından en iyi sonuçlar, 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA bitki büyümeye düzenleyicilerini içeren MS besin ortamından alınmıştır. Fakat bu ortamdan alınan soğanların (Bknz. Çizelge 4.12.) köklenmediği gözlenmiştir. Bu nedenle, soğanlar farklı oranlarda sukroz içeren MS besin ortamlarına alınarak sukrozun soğan çap ve köklenme üzerine etkisine bakılmıştır (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. 4 mg/l BAP- 2mg/l NAA içeren MS ortamındaki *M. muscarimi* soğanlarının farklı oranlarda sukroz içeren ortamlardaki varyans analizi

V.K.	S.D	Soğanların İlk Çapı (cm)		Soğanların Son Çapı (cm)		Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Sukrozun Köklenmeye Etkisi	8	0,004	0,43	0,03	4,05*	0,06	5,94*
Hata	18	0,01		0,01		0,01	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Magenta Başına Köklenme Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Sukrozun Köklenmeye Etkisi	8	1111,11	1,46	0,66	1,12	6,51	4,60*
Hata	18	763,89		0,59		1,42	
Toplam	26						

\*\* 0,05 düzeyinde önemli

8 hafta sonunda yapılan varyans analizinde, sukroz miktarına bağlı olarak soğan son çapları, soğanların çaplarındaki oluşan fark ve eksplant başına kök uzunluğu bakımından ortamlar arasındaki farklar 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.16'de verilmiştir.

Çizelge 4.16. 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdaki *M. muscarimi* soğanlarının farklı oranlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait Tukey's b testi

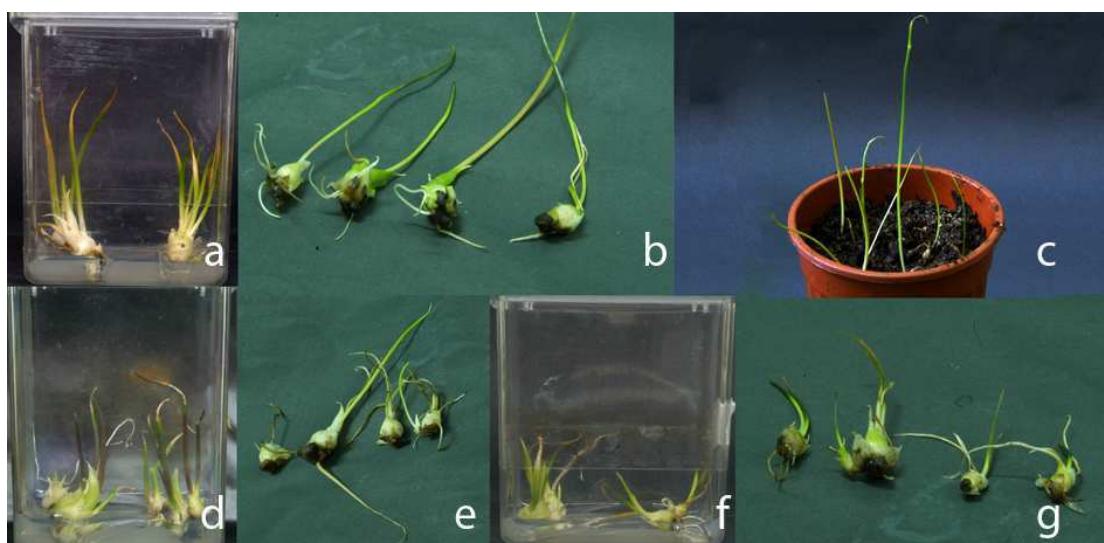
Sukroz (g/l)	Soğanların İlk Çapı (cm)	Soğanların Son Çapı (cm)	Soğanların Çap Farkı (cm)	Magenta Başına Köklenme Nispeti (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
30	0,48	0,77a	0,29a	100,00	1,60	3,57a
45	0,54	0,58b	0,04b	41,67	0,83	1,52ab
60	0,56	0,60ab	0,04b	41,67	0,75	0,71b

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.16 incelendiğinde 4 mg/l BAP- 2mg/l NAA içeren MS ortamından alınan soğanlar için, en fazla çap artışı, en iyi köklenme, en fazla kök sayısı ve en uzun kök

30 g/l sukroz içeren MS ortamında gözlenmiştir (Şekil 4.8.a-b). Elde edilen soğanlar %100 canlılıkla seraya adapte edilmiştir (Şekil 4.8.c).

Bu denemeden elde edilen sonuç, 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında rejenere olan soğanlar için, 1 mg/l IBA'da köklenmeye göre (Bknz. Çizelge 4.12.) 30 g/l sukroz içeren MS'te köklenmenin daha uygun olduğunu söyleyebiliriz. 45 g/l (Şekil 4.8.d-e) ve 60 g/l (Şekil 4.8.f-g) sukroz içeren MS ortamında ise, köklenmenin daha düşük olduğu bulunmuştur, buradan da yüksek sukrozun köklenmeyi olumsuz etkilediği sonucuna varılabilir.



Resim 4.8. 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda *M. muscarimi* soğanlarının farklı oranlarda sukroz içeren ortamlara alınması  
(a- b-c-) 30 g/l sukrozda köklenme ve saksılarla adaptasyon (d-e) 45 g/l sukrozda köklenme (f-g) 60 g/l sukrozda köklenme

#### In vitro da elde edilen soğanların pul yapraklarından soğan oluşumu:

*In vitro* koşullarda dokuz farklı BAP-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta süre sonunda gelişen soğanlar ikili pul yapraklar şeklinde kesilerek alt kültüre alınmış ve 10 hafta sonunda oluşan soğanlar varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. *In vitro* da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının ikili pullarından elde edilen soğan oluşumuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	İkili Pul Başına Soğan Yüzdesi (%)		İkili Pul Başına Soğan Sayısı (adet)		İkili Pul Başına Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
<i>In vitro</i> Elde Edilen İkili Pul Yapraklardan Rejenerasyon	9	1194,44	2,39*	13,49	9,42**	0,01	4,24**
Hata	20	500,00		1,43		0,003	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli \* 0,05 düzeyinde önemli

Eksplant başına soğan oluşum yüzdesi 0,05, eksplant başına soğan sayısı ve soğan çapları bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.18' de verilmiştir.

Çizelge 4.18. *In vitro*'da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının ikili pullarından elde edilen soğan oluşumuna ait Tukeys b testi

Ortam		İkili Pul Başına Soğan Nispeti (%)	İkili Pul Başına Soğan Sayısı (adet)	İkili Pul Başına Soğan Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	83,33a	1,92cde	0,35bc
1	1	66,67ab	3,00bcde	0,44a
1	2	66,67ab	3,42bc	0,32bc
2	0,5	58,33ab	2,67cde	0,31c
2	1	83,33a	2,50cde	0,40ab
2	2	58,33ab	1,25de	0,33bc
4	0,5	83,33a	5,17b	0,39abc
4	1	41,67ab	4,17bc	0,44a
4	2	83,33a	8,17a	0,33bc
MS (Kontrol)		25,00b	1,00e	0,32bc

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda bulunan pul yapraklardan 8,17 adet soğan oluşmuştur (Resim 4.9.a). Soğan çaplarında, 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamlarda en iyi sonuçlar alınmıştır. En yeşil ve canlı

soğanlar da yine bu ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına en fazla soğan oluşumu %83,33 ile 1 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA, 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir.

Elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesi:

Elde edilen soğanlar (Bknz. Çizelge 4.18) 1 mg/l IBA içeren MS ortamda köklendirilmiştir. Sekiz hafta sonunda yapılan varyans analizi Çizelge 4.19'da verilmiştir.

Çizelge 4.19. *In vitro*'da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğan İlk Çapı (cm)		Soğan Son Çapı (cm)		Soğan Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Köklenme	8	0,02	5,15**	0,03	3,15*	0,06	9,82**
Hata	18	0,004		0,01		0,01	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Eksplant Basına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Basına Kök Sayısı (Adet)		Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Köklenme	8	2936,67	46,37 **	2,73	13,34**	5,91	1,27
Hata	18	63,33		0,20		4,65	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Soğanların ilk çap, meydana gelen çap farkı, eksplant başına kök oluşumu ve kök sayısı bakımından ortamlar arasındaki farkı 0,01 düzeyinde önemli çıkarken, soğan son çapı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.20. *In vitro*'da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukey's b analizi testi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğan Çap Farkı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	0,54a	0,72ab	0,18bc
1	1	0,40 bc	0,93a	0,52a
1	2	0,36bc	0,64b	0,28b
2	0,5	0,34bc	0,60b	0,26b
2	1	0,36bc	0,59b	0,22b
2	2	0,37bc	0,62b	0,24b
4	0,5	0,36bc	0,75ab	0,39ab
4	1	0,42ab	0,65b	0,23b
4	2	0,24c	0,67ab	0,43ab
Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Basına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Basına Kök Sayısı (Adet)	Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	100,00a	1,50b	2,00
1	1	100,00a	1,41b	2,37
1	2	83,33a	0,83bc	0,23
2	0,5	100,00a	3,50a	0,46
2	1	100,00a	1,20b	0,10
2	2	80,00a	0,80bc	0,12
4	0,5	100,00a	1,27bc	4,03
4	1	100,00a	1,01bc	0,48
4	2	0,00b	0,00c	0,00

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

1 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda bulunan soğanların ilk çapları en büyük olarak bulunmuştur. Son çap ve en büyük soğan çapı farkı 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamdan alınmıştır. En büyük çaplı soğanlar (0,93 cm) ve eksplant başına en fazla kök oluşumu 3,5 adet kök ile 2 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren ortamda gerçekleşmiştir. Bir önceki ortamda en büyük köklerin elde edildiği ortamda (Bknz

Çizelge 4.18.) 4 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS ortamında sadece 0,48 cm'lik 1 kök oluşmuştur (Resim 4.9.b). Dolayısıyla, denemede kök sayısı-uzunluğu ile çap büyülüğu arasında bir orantı kurulamamıştır. Aynı şekilde, 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamda köklenme gerçekleşmemiştir.

In vitro soğan pul yapraklarından elde edilen köklü soğanların toprağa alıstırılması:

Çizelge 4.20'de elde edilerek serada köklendirilmiş soğanların adaptasyonu sağlandıktan (Resim 4.9.c) 10 hafta sonra, tüm soğanlar saksılardan çıkarılarak kök sayıları ve kök uzunluklarına bakılmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. *M. muscarimi* in vitro soğan pul yapraklarından elde edilen köklü soğanların toprağa alıstırılmasına ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F
Adaptasyon Etkisi	8	4,60	10,57**	99,39	7,32**
Hata	18	0,43		13,58	
Toplam	26				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

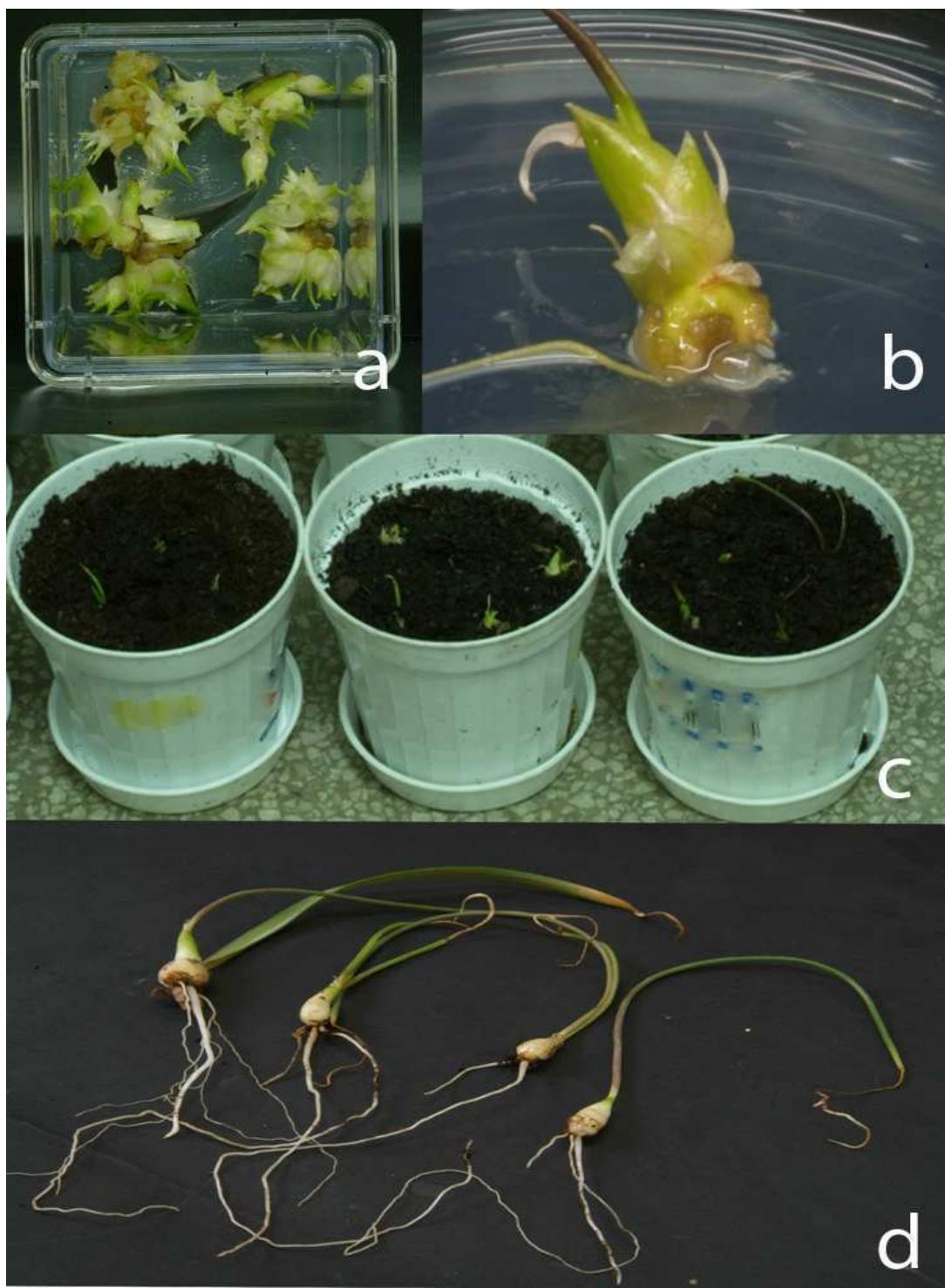
4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar hariç tüm ortamlarda köklenme % 100 olmuştur. Yapılan varyans analizinde kök sayısı ve kök uzunluğunun ortamlar arasındaki fark, 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Ancak, aktarılan tüm soğanların in vitro'da ki eski köklerinin kaybolduğu, yerlerine yeni kökler çıkardıkları gözlenmiştir. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22. *M. muscarimi* *in vitro* soğan pul yapraklarından elde edilen köklü soğanların adaptasyouna ait Tukeys b testi

Adaptasyonu Yapılan Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	2,2bc	6,98bc
1	1	4,00a	18,92a
1	2	1,83bc	4,30bc
2	0,5	1,50cd	13,50ab
2	1	2,00bc	7,50bc
2	2	0,00d	0,00c
4	0,5	2,75abc	9,00bc
4	1	3,50ab	11,00ab
4	2	0,00d	0,00c

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.22 incelediğinde en iyi sonuçlar kök sayısı ve kök uzunluğu 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamda gözlenmiştir (Resim 4.9.d).



Resim 4.9. *In vitro*'da elde edilen *M. muscarini* soğanlarının pul yapraklarından soğan oluşumu

(a) 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda soğan oluşumu (b) 4 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamda kök oluşumu (c) Soğanların saksılara aktarılması (d) 10 hafta sonunda 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamdan rejenere olup IBA'da köklendirilen adaptasyonu sağlanmış soğanlar

In vitro'da elde edilen soğanlardan kesilen yaprak ayalarından soğancık eldesi:

*In vitro*'da elde edilen soğanların yaprak ayalarının taban kısmı 1 cm uzunluğunda kesilerek rejenerasyona bırakıldıktan 4-5 hafta sonra soğancık oluşumu başlamıştır (Resim 4.10.a) 10 hafta süre sonunda yapılan varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.23.).

Çizelge 4.23. *In vitro*'da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının yaprak ayalarından soğan üretimine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Magenta Başına Canlılık Nispeti (%)		Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)		Magenta Başına Kallus Oluşumu (%)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
<i>In vitro</i> Soğanların Yaprak Ayası Tabanından Rejenerasyon	9	2875,56	71,89**	2223,70	8,33**	6413,33	26,72**
Hata	20	40,00		266,27		240,00	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)			Ortalama Soğan Çapı (cm)		
		K.O	F	K.O	F		
<i>In vitro</i> Soğanların Yaprak Ayası Tabanından Rejenerasyon	9	3,10		6,54**		0,02	5,03**
Hata	20	0,47				0,001	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

Tüm parametrelerde ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.24' de verilmiştir.

Çizelge 4.24. *In vitro*'da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarından kesilen yaprak ayası soğan eldesine ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Canlılık Nispeti (%)	Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Ortalama Soğan Çapı (cm)	Magenta Başına Kallus Oluşumu (%)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	73,33b	66,67abc	3,06ab	0,22ab	0,00 b
1	1	100,00a	73,33ab	3,07ab	0,18b	100,00 a
1	2	73,33b	40,00cd	3,08 ab	0,17b	100,00a
2	0,5	100,00a	53,33bcd	3,17 ab	0,17b	100,00a
2	1	93,33a	73,33ab	3,20 ab	0,15b	93,33 a
2	2	80,00b	73,33ab	2,08 b	0,15b	93,33a
4	0,5	100,00a	93,33a	4,50 a	0,21ab	0,00b
4	1	100,00a	53,33bcd	2,33 ab	0,23ab	73,33a
4	2	100,00a	26,67de	2,83ab	0,32a	100,00a
MS (Kontrol)		00,00c	0,00e	0,00 c	0,00c	0,00b

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

MS'de gelişen soğanların yaprak ayalarının öldüğü; diğer ortamlardaki soğanlardan alınarak yine kendi ortamlarına rejenerasyona bırakılan yaprak ayalarının ise canlı kaldığı görülmüştür. Eksplant başına soğan sayısı bakımından en iyi ortamın 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA olduğu, elde edilen soğanların sağlıklı, yeşil ve 2-3 cm'lik yapraklara sahip olduğu gözlenmiştir. En büyük çaplar ise 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA ortamından elde edilmiştir. 1 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA ortamlarında kallus oluşmamıştır. Eksplant başına soğan oluşumunda da en iyi ortamın 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren besin ortamı olduğu görülmüştür (Resim 4.10.b). Bu ortamda yeşil soğan uçları şeklinde gelişimini tamamlayamayan soğancıklara da rastlanmıştır.

#### Yaprak ayalarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesi:

Elde edilen soğanlardan en büyük çaplı olanları seçilerek (Bknz. Çizelge 4.24'de 4. sütun) 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında köklenmeye alınmıştır. Soğanlar sekiz hafta sonunda sayılmıştır (Çizelge 4.25.).

Çizelge 4.25. *M. muscarimi* soğanlarının yaprak ayalarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğan İlk Çapı (cm)		Soğan Son Çapı (cm)		Soğan Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Köklenme	8	0,01	2,52*	0,02	2,36	0,02	3,44
Hata	18	0,004		0,008		0,008	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Köklenme	8	3208,33	29,33	0,71	2,54	0,86	5,18**
Hata	18	146,30		0,28		0,17	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

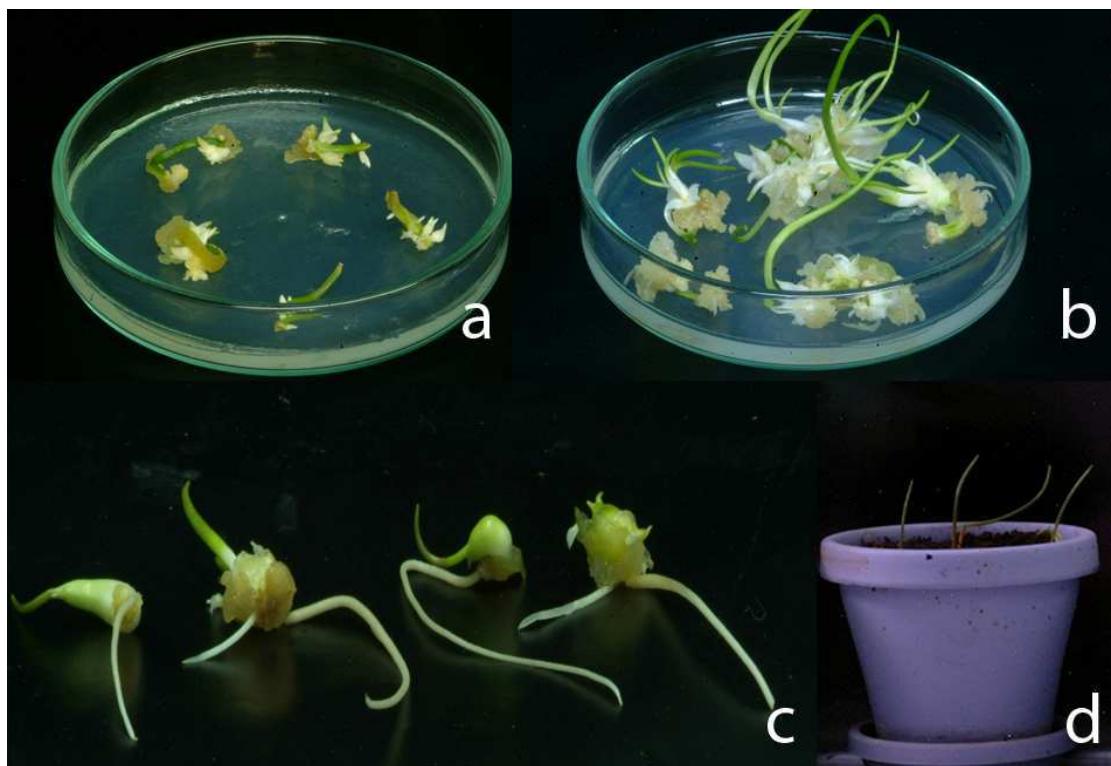
Tüm soğanlarda kök oluşumu gözlenmiştir. Eksplant başına kök uzunlığında ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkarken, ilk çap bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.26'da verilmiştir.

Çizelge 4.26. *M. muscarimi* soğanlarının yaprak ayalarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukey's b testi

Ortam		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğan Çap Farkı (cm)
BAP (mg/l)	NAA ( mg/l)			
1	0,5	0,27b	0,59	0,32
1	1	0,24b	0,49	0,25
1	2	0,40a	0,62	0,22
2	0,5	0,21b	0,43	0,22
2	1	0,30ab	0,67	0,37
2	2	0,24b	0,47	0,23
4	0,5	0,29ab	0,64	0,35
4	1	0,32ab	0,56	0,24
4	2	0,33ab	0,57	0,24
Ortam		Eksplant Basına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Basına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA ( mg/l)			
1	0,5	0,00c	0,00b	0,00
1	1	100,00a	1,65a	1,27
1	2	0,00c	0,00b	0,00
2	0,5	36,67b	0,37b	0,75
2	1	3,33c	0,03b	0,17
2	2	0,00c	0,00b	0,83
4	0,5	10,00a	0,10b	0,73
4	1	10,00a	0,10b	1,08
4	2	5,00c	0,05b	0,25

İlk çapların en büyükleri 1 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamda belirlenmiştir. Son çaplar 0,43-0,67 cm arasında bulunmuş ve ilk çap ile son çap arasındaki soğan farkı 0,22-0,37 cm arasında değişmiştir. Eksplant başına en fazla kök sayısı ve uzun kök 1,65 adet ve 1,27'cm ile 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından

elde edilmiştir (Şekil 4.10.c). Soğanların 8 hafta sonunda % 100 canlılıkla toprağa adaptasyonu sağlanmıştır (Şekil 4.10.d).



Resim 4.10. *M. muscarimi* soğanlarının yaprak ayalarından elde edilen soğanlar ve köklenmeleri

(a) 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren ortamda yaprak ayaları üzerinde soğancık oluşumunun başlangıcı (b) 10 hafta sonunda 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren ortamda yaprak ayaları üzerinde soğancık oluşumu (c) 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamından alınarak köklendirilen soğanlar (d) 8 hafta sonunda saksılardaki görüntüsü

In vitro ortamda elde edilen 0,1 cm'lik *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamında rejenerasyonu:

En büyük soğan çapları 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir (Bknz. Çizelge 4.4.). Bu nedenle farklı ortamlardan alınan 0,1 cm'lik soğanların çaplarını artırmak amacıyla ile 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamına alınmışlardır. Soğanlar 12 hafta sonunda alt kültüre alınmış ve 32 hafta sonunda varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.27). Geriye kalan üç ortamda ise 0,1 cm çapa sahip soğanlar gözlenmediğinden bu ortamlara ait deneme kurulmamıştır.

**Çizelge 4.27.** 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilen 0,1 cm'lik *M. muscarimi* soğanlarının rejenerasyonu ve çap artışına ait varyans analizi

V.K.	S.D	Ana Soğan Son Çapı (cm)		Ana Soğan Çap Farkı (cm)		Sekonder Soğan Oluşum Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Çap Artışı	5	0,13	3,23*	0,14	0,02*	3558,82	6,26**	7,98	9,81**	0,30	10,51**
Hata	11	0,04		0,03		568,18		0,81		0,03	
Toplam	16										

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizinde soğanların ilk ve son çapları arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli, yavru soğan çapları, sayısı ve yavru soğan oluşum yüzdesi bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukeys b testi sonuçları Çizelge 4.28' de verilmiştir.

**Çizelge 4.28.** 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilen 0,1 cm'lik *M. muscarimi* soğanlarının rejenerasyonu ve çap artışına ait Tukeys b testi

Ortam		Ana Soğan Son Çapı (cm)	Ana Soğan Çap Farkı (cm)	Sekonder Soğan Oluşum Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	0,49c	0,39c	91,67ab	3,92a	0,13b
1	1	0,64bc	0,53bc	33,33c	0,92bc	0,11b
1	2	0,64bc	0,53bc	50,00bc	2,67ab	0,10b
2	1	1,12a	1,02a	25,00c	1,12bc	0,10b
4	1	0,89ab	0,79ab	16,67c	0,58c	0,10b
4	2	0,79abc	0,69abc	100,00a	4,42a	0,32a

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

Sekonder soğan oluşumu, yalnızca 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA' den alınan soğanlarda % 100 oranında görülmüştür. Son çaplar açısından en iyi ortam 8 ay sonunda 1 cm'lik çap artışı ile 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir (Şekil 4.11.a). Eksplant başına en fazla sekonder soğan oluşumu 1 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Sekonder soğan çapları 0,32-0,10 cm arasında

değişmektir. 1 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından alınan soğanların dip kısmında kararma, 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamından alınan soğanlarda da, bol miktarda kallus oluşumu gözlenmiştir.

Çapı artırılmış soğanların 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmesi:

Elde edilen soğanlar (Bknz Çizelge 4.28) 1 mg/l IBA da köklendirilmişlerdir Sekiz hafta sonunda yapılan varyans analizi Çizelge 4.29'da verilmiştir.

Çizelge 4.29. 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında çapı artırılmış *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Magenta Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Köklenme	3	3940,97	9,46**	2,15	5,51*	1,49	34,47**
Hata	8	416,67		0,391		0,04	
Toplam	11						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

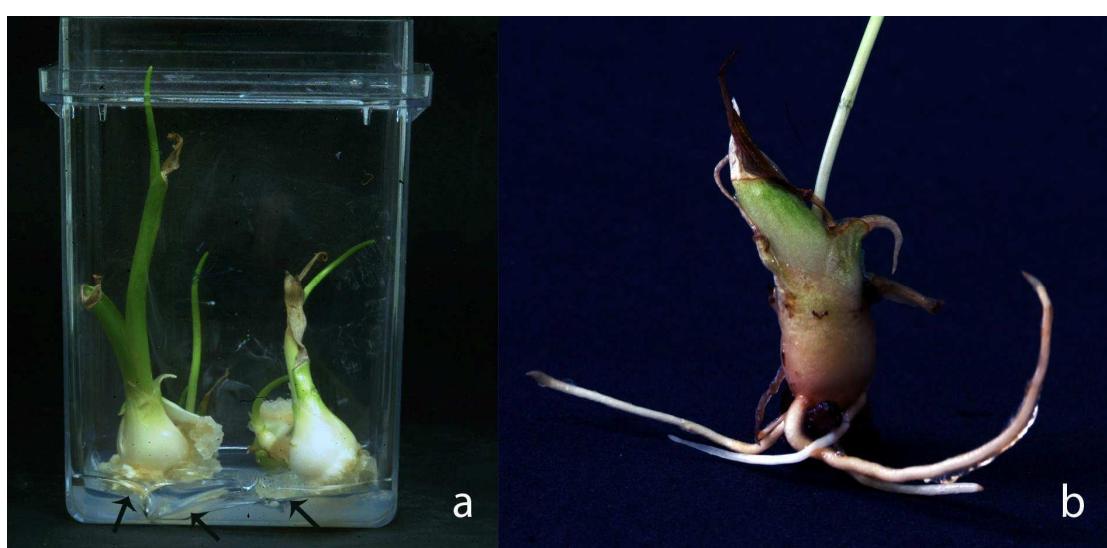
Magenta başına kök oluşum yüzdesi ve eksplant başına kök uzunlukları açısından ortamlar arasındaki fark 0,01, eksplant başına kök sayısı bakımından 0,05; düzeyinde farklılık çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.30' da verilmiştir.

Çizelge 4.30. 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında çapı artırılmış *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukeys b testi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Magenta Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	16,67 b	0,50b	0,20b
1	1	100,00a	2,00ab	1,67a
4	1	83,33a	2,00ab	0,38b
4	2	75,00a	2,43a	0,25b

Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda % 100 kök oluşumu gözlenmiştir (Resim 4.11.b). Eksplant başına en fazla kök sayısı 2,43 adet ile 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Eksplant başına en uzun kökler, 1,67 cm ile 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlardan elde edilmiştir. 2 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamdan alınıp rejenerasyona bırakılan soğanların ise, IBA'ya alınmasına gerek kalmadan köklendiği görülmüştür.



Resim 4.11. *In vitro* ortamda elde edilen 0,1 cm'lik *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamında rejenerasyonu  
 (a) 1 cm'lik çap artışı ile 2 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar ve dip kısımlarında çıkan kökler (b) 1 cm'lik çap artışı ile 2 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların kökleri

#### **4.1.2. *M. muscarimi*'nin KIN-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu**

##### 10 hafta sonunda ikili pul yapraklardan soğan rejenerasyonu:

KIN-NAA içeren MS besin ortamında, 10 hafta sonunda ikili pulları üzerinden çıkan soğanların sayıları ve çapları incelenmiştir (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. KIN-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Ortalama Çap (cm)	
		K.O	F	K.O	F
İkili Pullardan Rejenerasyon	9	3,30	5,36**	0,01	2,05
Hata	20	0,62		0,003	
Toplam	29				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

Tüm eksplantlarda soğan oluşumu gözlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre soğan sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.32'de verilmiştir.

Çizelge 4.32. KIN-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Ortalama Çap (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	2,33ab	0,27
1	1	4,08a	0,31
1	2	1,17b	0,26
2	0,5	3,00ab	0,28
2	1	3,00ab	0,27
2	2	3,00ab	0,35
4	0,5	1,00b	0,34
4	1	2,67ab	0,30
4	2	1,42ab	0,37
MS (Kontrol)		1,25b	0,36

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Kontrol hariç tüm besin ortamlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Ancak, en az kallus oluşumu 1 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren ortamda gözlenmiştir. 2 mg/l KIN- 1 mg/l NAA ve 2 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren MS ortamlarında kallus içine gömülü kök uçları görülmüştür (Çizelgede verilmemiştir). Soğan çaplarına bakıldığından en fazla

soğan oluşumu sırasıyla 4,08 adet soğan ile 1 mg/l KIN- 1 mg/l NAA içeren ortam (Resim 4.12.a) ile 3 adet soğan ile 2 mg/l KIN- 0,5-1-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Ortalama soğan çapı bakımından ve soğan ucu bakımından ortamlar arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir.

Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

Elde edilen en büyük çapa sahip *M. muscarimi* soğanları (Bknz. Çizelge 4.32 2. sütun) aynı ortamlarda alt kültüre alınmıştır (Çizelge 4.33.).

Çizelge 4.33. *M. muscarimi* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapı (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	0,01	1,51	0,04	10,20**	0,03	3,44**
Hata	20	0,01		0,001		0,01	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Sekonder Soğan Oluşum Oluşumu (%)		Sekonder Soğanların Sayısı (adet)		Sekonder Soğanların Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	126,850	325,00*	0,35	0,96	0,04	2,10
Hata	20	19,21		0,37		0,001	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

20 hafta sonunda, primer soğanların yanında oluşan sekonder soğan oluşum yüzdesi bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Primer soğanların son çapları ve 20 hafta sonunda meydana gelen çap farkı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Diğer parametrelerde ise ortamlar arasında istatistiksel bir farka rastlanmamıştır.

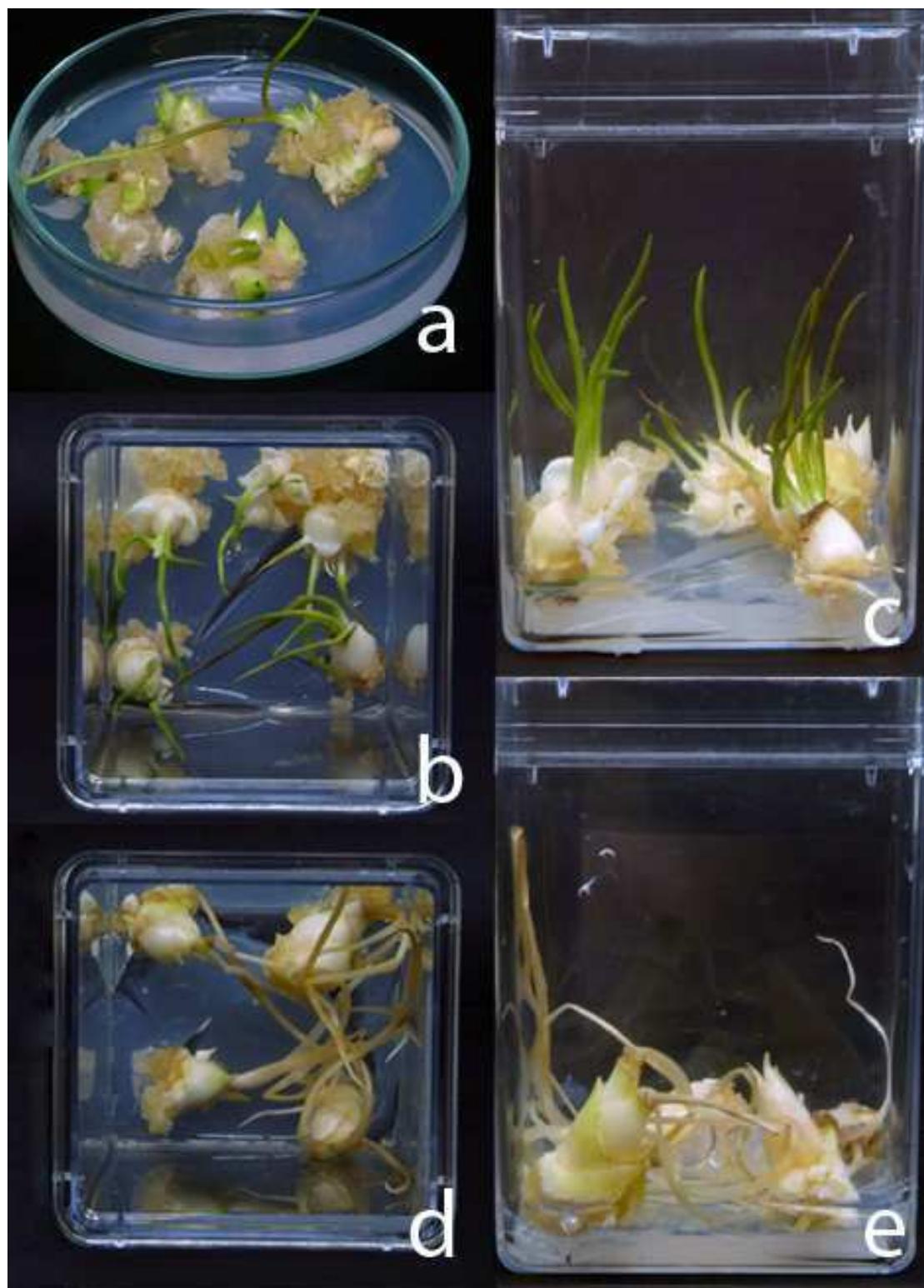
Farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.34' de verilmiştir.

Çizelge 4.34. *M. muscarimi* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapı (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğanların Çapı (cm)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)						
1	0,5	0,34	0,58bc	0,31ab	50,00a	0,30	0,92
1	1	0,38	0,67abc	0,38ab	41,66b	0,31	0,92
1	2	0,23	0,69abc	0,16b	50,00a	0,31	0,83
2	0,5	0,36	0,53c	0,16b	50,00a	0,14	0,42
2	1	0,39	0,53c	0,14b	25,00c	0,17	0,50
2	2	0,36	0,67abc	0,31ab	58,00a	0,30	0,67
4	0,5	0,31	0,57bc	0,26ab	25,00c	0,18	0,42
4	1	0,40	0,76a	0,36ab	58,00a	0,28	0,92
4	2	0,44	0,73ab	0,30ab	00,00d	0,00	0,00
MS (Kontrol)		0,34	0,37d	0,21ab	00,00d	0,00	0,00

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.34' görüldüğü gibi, primer soğanların ilk çapları 0,23-0,44 cm arasında değişmiştir. En büyük primer soğanlara sahip ortamlar (0,76 cm) ve ortam da kaldıkları sürece soğanlar içinde en fazla çap artışı olan soğanlar 0,36 cm ile 4 mg/l KIN-1 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Sekonder soğan oluşumu ise, 4 mg/l KIN-1 mg/l NAA içeren MS ortamı ile kontrol grubunda gerçekleşmemiştir. İlk rejenerasyon çalışmasında en iyi sonuçların alındığı 1 mg/l KIN-1 mg/l NAA içeren ortamda ise primer soğan başına 0,92 adet sekonder soğan oluşmuştur (Resim 4.12.b-c). Sekonder soğanların çapları 0,14-0,31 cm, eksplant başına sekonder soğan sayısı ise, 0,42-0,92 adet arasında değişmiştir. Kontrol grubu, 2 mg/l KIN-1 ve 2 mg/NAA içeren ortamlar dışında tüm ortamlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. 4 mg/l KIN-0,5, 1 ve 2 mg/l NAA içeren ortamlarda tüm soğanların yapraklarının saradığı görülmüştür. (Resim 4.12.d-e).



Resim 4.12. *M. muscarini*'nin KIN-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu  
(a) 10 hafta sonunda 1 mg/l KIN- 1 mg/l NAA içeren ortamda soğan gelişimi (b-c) 1 mg/l KIN- 1 mg/l NAA içeren ortamda primer soğanlardan sekonder soğan gelişimi (d-e) 4 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren ortamda primer soğanlarda ki sararma

Pul yapraklardan elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi:

Elde edilen soğanlar (Bknz. Çizelge 4.34 3. sütun) altı hafta süreyle, 1mg/l IBA'da köklendirilmeye alınmıştır (Çizelge 4.35.).

Çizelge 4.35. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan *M. muscarimi* soğanlarının 1mg/l IBA içeren MS ortamda köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğan İlk Çapı (cm)		Soğan Son Çapı (cm)		Soğanlarda Meydana Gelen Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
1mg/l IBA İçeren MS Köklendirme	9	0,06	4,40**	0,10	3,69**	0,03	1,43
Hata	20	0,01		0,03		0,02	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Kök Oluşum Nispeti (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
1mg/l IBA İçeren MS Köklendirme	9	1953,18	6,35**	3,73	6,40**	7,71	2,73*
Hata	20	355,41		0,58		2,82	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Kök uzunluğu bakımından 0,05 düzeyinde farklılık görülmüştür. Kök oluşum yüzdesi ilk çap, son çap ve kök sayısı bakımından ise, ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemlidir. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.36'da verilmiştir.

Çizelge 4.36. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l IBA'da köklendirilmesine ait Tukeys b testi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğanlarda Meydana Gelen Çap Farkı (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	0,58abc	0,71ab	0,12
1	1	0,67abc	0,84a	0,18
1	2	0,70ab	0,97a	0,28
2	0,5	0,49abc	0,72ab	0,23
2	1	0,42bc	0,57ab	0,15
2	2	0,55abc	0,72ab	0,17
4	0,5	0,52abc	0,65ab	0,34
4	1	0,76a	0,94a	0,19
4	2	0,78a	0,90a	0,12
MS		0,37c	0,38b	0,01
Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	58,33 c	1,08bc	2,59ab
1	1	91,67b	2,83ab	1,96ab
1	2	100,00a	3,92a	4,74ab
2	0,5	91,67 b	2,08abc	4,45ab
2	1	25,00e	1,58bc	3,33ab
2	2	58,33c	1,25bc	2,71ab
4	0,5	25,00e	0,33c	4,30ab
4	1	58,00c	0,75bc	1,15ab
4	2	33,33de	0,58c	0,04b
MS (Kontrol)		100,00a	1,00bc	5,18a

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

Soğanlar değişik ortamlardan alındığı için, soğanların ilk çapları arasında fark 0,37-0,78 cm arasında değişmiştir. 4 mg/l KIN- 1 ve 2 mg/l NAA içeren MS besin ortamından alınan soğanlar da ilk çaplar 0,76-0,78 cm tespit edilmiştir. 1 mg/l KIN- 1 ve 2 mg/l NAA, 4 mg/l KIN- 1 ve 2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınarak 1 mg/l IBA'da köklendirilen soğanların son çaplarının, 0,94 ve 0,90 cm olduğu görülmüştür. 1 mg/l IBA'ya konulduktan sonra en fazla çap artışı 4 mg/l KIN- 0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Eksplant başına köklenme yüzdeleri % 25-100 arasında değişmektedir. Kök sayısı bakımından 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamlarda az sayıda gelişimini tamamlayamamış kök uçlarına rastlanılmıştır (Resim 4.13.a-b). En fazla kök, 3,92 adet ile 1 mg/l KIN- 2 mg/l NAA

besin ortamından alınan soğanlardan elde edilmiştir. En uzun kökler ise kontrol grubundan sonra yine bu ortamdan elde edilmiştir (Resim 4.13. c-d).

KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA da köklendirilen *M. muscarimi* soğanlarının adaptasyonu:

Çizelge 4.36'da 1 mg/l IBA'da köklendirilen soğanlar, saksılarda dış ortama alıştırılmıştır (Şekil 4.13.e). Sekiz hafta sonra adaptasyonun köklenme üzerine etkisi olup olmadığıının belirlenmesi amacıyla, saksılardan çıkarılarak kök sayıları ve kök uzunlukları incelenmiştir (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.37. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen *M. muscarimi* soğanlarının sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F		
Adaptasyon Etkisi	7	3181,25	23,63**	2,07	10,19**	31,00	1,72*
Hata	16	138,89		0,20		18,07	
Toplam	23						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

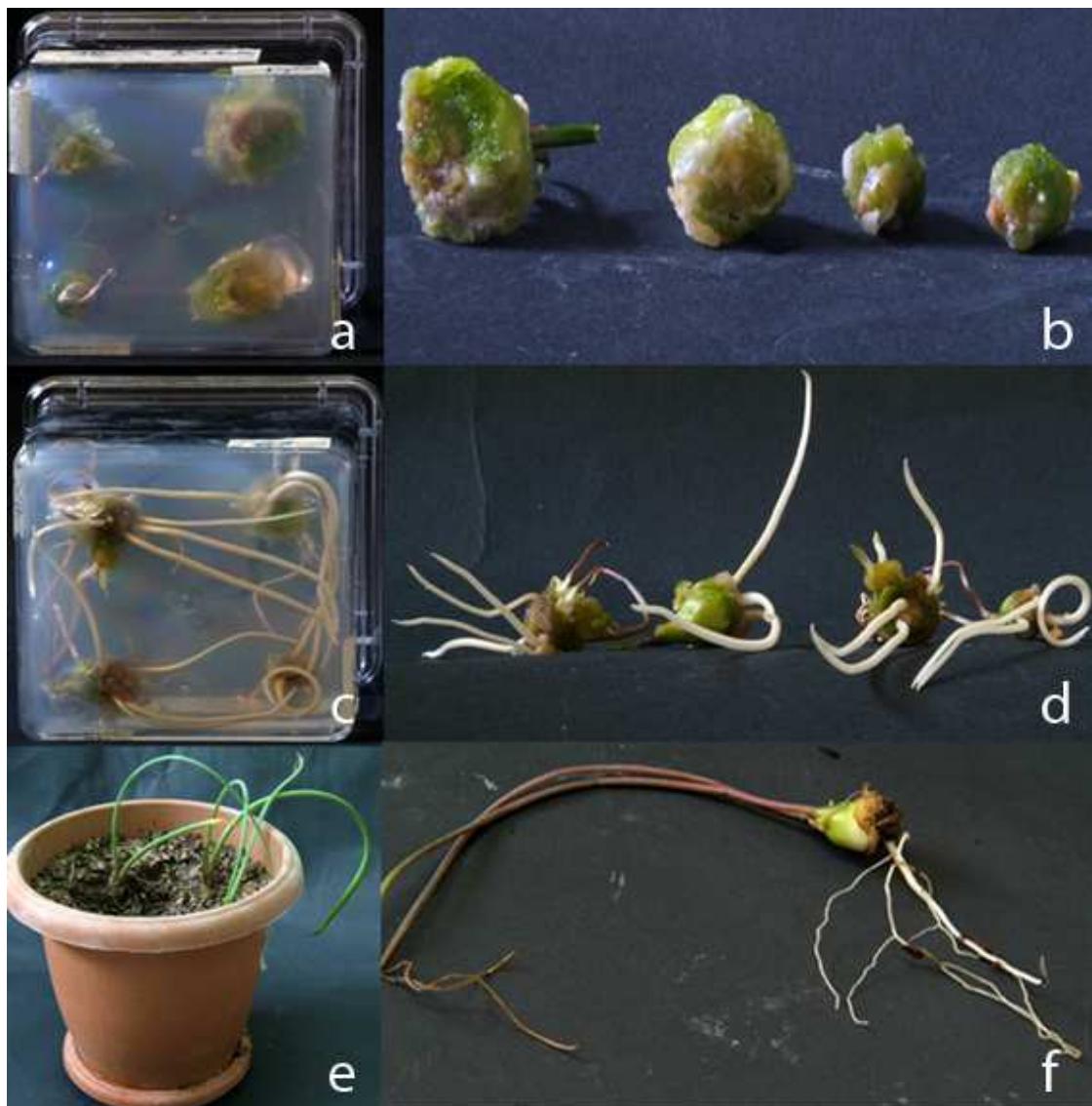
Varyans analizinde eksplant başına kök oluşum yüzdesi ve kök sayısında ortamlar arasındaki fark 0,01, kök uzunlığında ise, 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.38' de verilmiştir.

Çizelge 4.38 KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilen *M. muscarimi* soğanlarının toprakta 8 hafta sonunda topraktaki kök gelişimlerine ait Tukey's b testi

Adaptasyonuna Bakılan Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	100,00a	2,16ab	8,00b
1	1	100,00a	2,11ab	4,13d
1	2	100,00a	2,98a	5,18c
2	0,5	100,00a	1,50b	10,92a
2	1	100,00a	2,15ab	6,46c
2	2	100,00a	1,67b	3,67d
4	0,5	100,00a	1,00bc	3,27d
4	1	25,00b	0,25c	0,40e
4	2	25,00b	0,25c	0,02e

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.38'de görüldüğü gibi köklenme %25-100, eksplant başına yeni çıkan kök sayısı 0,25-2,98 (adet) arasında değişmiştir. En fazla kök 1 mg/l KIN-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak 1 mg/l IBA'da köklendirilen soğanlardan elde edilmiştir. Kök uzunlukları 0,02- 10,92 cm arasında değişmektedir. En uzun kökler 10,92 adet ile 2 mg/l KIN- 0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak 1 mg/l IBA'da köklendirilen soğanlardan elde edilmiştir (Şekil 4.13.f). Elde edilen köklerin yanından yan köklerin çıktıığı gözlenmiştir.



Resim 4.13. *M. muscarini* soğan pul yapraklarından elde edilen soğanların 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi ve adaptasyonu

(a-b) 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınarak 1 mg/l IBA'da köklenmeye alınan soğanlar (c-d) 1 mg/l KIN- 2 mg/l NAA besin ortamından alınarak 1 mg/l IBA'da köklendirilen soğanlar (e) Saksıda adaptasyon (f) 8 hafta sonunda soğanların toprağa adaptasyonu ve yan köklerin oluşumu

#### **4.2. *M. macrocarpum***

##### **4.2.1. *M. macrocarpum*'un BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu**

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan rejenerasyon:

BAP-NAA içeren MS besin ortamında ikili pul yapraklar üzerinden çıkan soğanların sayıları ve çaplarına ait verilerin 10 hafta sonunda varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.39).

Çizelge 4.39. BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. macrocarpum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F
İkili Pullardan Rejenerasyon	9	1,11	0,80*	0,03	5,63**
Hata	20	1,39		0,01	
Toplam	29				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Soğan oluşumu % 100 olduğundan çizelgede yer verilmemiştir. Varyans analizinde soğan sayısı 0,05 ve soğan çapı 0,01 seviyesinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.40'da verilmiştir.

Çizelge 4.40. BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. macrocarpum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Ortalama Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Ortalama Soğan Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	2,58c	0,35b
1	1	2,00d	0,54a
1	2	1,92d	0,43ab
2	0,5	1,97d	0,14d
2	1	2,58c	0,29bc
2	2	3,33a	0,32bc
4	0,5	3,00b	0,29bc
4	1	1,67e	0,29bc
4	2	2,92b	0,35bc
MS (Kontrol)		1,58e	0,34bc

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.40'da görüldüğü gibi eksplant başına ortalama soğan sayısı kontrol grubunda ise ikili pullar arasından çıkan 1,58 adet soğanla en az soğan sayısı elde edilen ortam olmuştur (Resim 4.14.a). En iyi sonuçlar ise 3,33 adet soğanla 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Resim 4.14 b). Soğan çaplarına bakıldığından, 0,14-0,54 cm arasında değişirken, en büyük çapa sahip ikili pullar arasından çıkan soğanlar, 0,54 cm ile 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir (Resim 4.14.c).



Resim 4.14. *M. macrocarpum*'un BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda rejenerasyonu

(a) MS (kontrol) ortamında soğan rejenerasyonu (b) 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilen soğanlar (c) 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilen soğanlar

#### Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

Elde edilen primer soğanlar (Bknz. Çizelge 4.40 2. sütun) yine aynı 10 ortamda rejenerasyona alınmıştır. Kültüre alındıktan 13,5 hafta sonunda primer soğanlarda meydana gelen çap farkı, primer soğanın yanında oluşan sekonder soğanların oluşum yüzdesi ortalama çapı ve sekonder soğanların sayısına bakılmıştır (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41. *M. macrocarpum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapları (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğan Çap Farkı (cm (cm))	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	0,03	4,88**	0,05	3,72**	0,03	2,72*
Hata	20	0,01		0,01		0,01	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Sekonder Soğanların Ortalama Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F		
Soğan Rejenerasyonu	9	2697,65	3,07*	0,53	1,80	0,03	1,50
Hata	20	877,67		0,30		0,02	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Yapılan varyans analizinde, primer soğan ilk çap ile son çap arasındaki fark 0,01; primer soğanlarda meydana gelen çap farkı ve sekonder soğan oluşum yüzdesi ise 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.42'de verilmiştir.

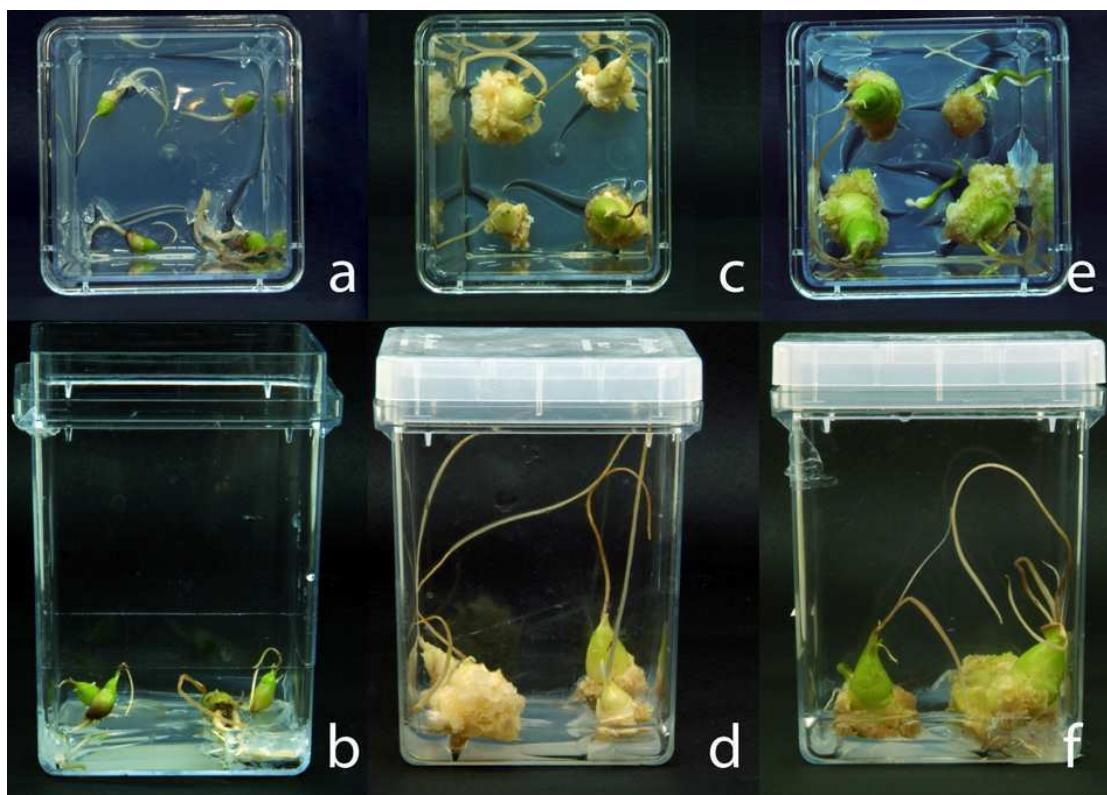
Çizelge 4.42. *M. macrocarpum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanlarının BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukeys b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapları (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğan Çap Farkı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	0,35bc	0,55bc	0,20ab
1	1	0,54a	0,75 a	0,21ab
1	2	0,43ab	0,54bc	0,11b
2	0,5	0,14d	0,42c	0,28ab
2	1	0,29bc	0,54bc	0,25ab
2	2	0,32bc	0,59bc	0,24ab
4	0,5	0,29bc	0,65b	0,36ab
4	1	0,29bc	0,55bc	0,26ab
4	2	0,35bc	0,80a	0,45a
MS (Kontrol)		0,34bc	0,47c	0,13b
Ortam		Eksplant Başına Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Ortalama Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	100,00a	1,50	0,28
1	1	50,00ab	0,50	0,40
1	2	90,00ab	0,92	0,36
2	0,5	50,00ab	0,50	0,17
2	1	33,33ab	0,42	0,25
2	2	42,00ab	0,17	0,20
4	0,5	92,00ab	0,92	0,43
4	1	67,00ab	0,67	0,20
4	2	33,67ab	0,33	0,21
MS (Kontrol)		8,00b	0,08	0,10

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

En düşük soğan çapına sahip soğanlar 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA ve MS (kontrol) ortamında görülmüştür. MS'de tüm soğanların köklendiği de tespit edilmiştir (Şekil

4.15.a-b). Çizelge 4.42'de görüldüğü gibi primer soğan çapları bakımından en iyi sonuçlar, 0,54 cm ile 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Son çaplarda ise en iyi sonuçlar 0,8 cm ile 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS besin ortamında (Şekil 4.15c-d) ve 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında (0,75 cm) (Şekil 4.15.e-f) elde edilmiştir. İlk ve son çaplar kıyaslandığında en fazla soğan çap artışının gözlendiği ortam 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS besin ortamıdır (0,45 cm). Eksplant başına sekonder soğan sayısı oldukça düşük olup, 0,08-1,5 adet arasında değişiklik göstermiştir, Soğan çapları ise, 0,10-0,43 cm gözlenmiştir.



Resim 4.15. *M. macrocarpum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanlarının BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonu  
 (a-b) MS (kontrol) soğan rejenerasyonu (c-d) 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS besin ortamında primer soğan rejenerasyonu (e-f) 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında primer soğan rejenerasyonu

Pul yapraklardan elde edilen soğanların MS içeren ortamda köklendirilmesi:

Elde edilen soğanlarda kök ucu oluşumu gözlenmiş (Bknz. Çizelge 4.42) ancak; soğanların elde edildiği BAP-NAA ortamlarının kök oluşumuna olumsuz yan etkisi nedeniyle, yeterli kök gelişimi sağlanmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle soğanlar büyümeye düzenleyicisi içermeyen MS ortamına alınmıştır. 10 hafta sonunda yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.43'de verilmiştir.

Çizelge 4.43. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınan *M. macrocarpum* soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğan İlk Çapları (cm)		Soğan Son Çapları (cm)		Soğan Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS'de Köklendirme	9	0,04	2,14	0,35	1,51*	0,03	1,98
Hata	20	0,02		0,02		0,01	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Kök Nispeti (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS'de Köklendirme	9	2634,92	15,81**	0,68	1,46*	0,61	0,24
Hata	20	166,70		0,46		2,56	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Eksplant başına kök nispeti 0,01 nispetinde önemli çıkarken, soğan son çaplarında ve eksplant başına kök sayısında ortamlar arasındaki fark ise, 0,05 önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.44'de verilmiştir.

Çizelge 4.44. BAP-NAA içeren besin ortamından alınan *M. macrocarpum* soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait Tukey's b testi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğan Çap Farkı (cm)	Eksplant Başına Kök Nispeti (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı(adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (adet)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)						
1	0,5	0,55	0,58 c	0,03	100,00a	1,97a	3,14
1	1	0,75	0,75 b	0,00	75,00a	0,75ab	2,14
1	2	0,54	0,54 c	0,00	100,00a	1,33ab	2,14
2	0,5	0,42	0,95 a	0,53	100,00a	1,08ab	1,77
2	1	0,54	1,01 a	0,47	92,00a	0,92ab	1,66
2	2	0,59	0,63 bc	0,03	96,67a	0,97ab	2,62
4	0,5	0,65	1,12 a	0,47	80,00a	0,81ab	2,29
4	1	0,55	0,55 c	0,00	41,67b	0,42b	2,03
4	2	0,80	0,85 ab	0,05	41,67b	0,42b	1,73
MS (Kontrol)		0,47	0,88a	0,49	20,00b	0,20c	1,95

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.44'te görüldüğü gibi MS'e alındıklarında soğan ilk çaplarında köklenme süresince oluşan çap farkında ve kök uzunluklarında ise istatistiksel bir farka rastlanmamıştır. En iyi sonuçların alındığı (Bknz. Çizelge 4.42) 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanların çaplarında belirgin bir artış olmamıştır. Bu ortamlarda soğanların kök uzunlukları 2,14 ve 1,73 cm ve eksplant başına kök sayısı, 0,75-0,42 adet arasında değişmiştir (Şekil 4.16. a-b-c-d).



Resim 4.16. *M. macrocarpum* BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınan soğanlarının MS'de köklendirilmesi  
 (a-b) 1 mg/l BAP 1 mg/l NAA ve (c-d) 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlar ve kökleri

Son çaplar bakımından en fazla çap artışı gözlenen ortamlar, 2 mg/l BAP-0,5 ve 1 mg/l NAA (Şekil 4.17.a-b), 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardır (Şekil 4.17.c-d). (0,95-1,01 ve 1,12 cm). Eksplant başına kök sayısı bakımından en fazla kök 1,97 adet ile 1 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarından elde edilmiştir.

BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen soğanların adaptasyonu:

Çizelge 4.44'te elde edilen köklü soğanların serada adaptasyonu sağlanmıştır (Şekil 4.17-e). Sekiz hafta sonra adaptasyonun köklenme üzerine etkisi olup olmadığıın belirlenmesi amacıyla saksılardan çıkarıldığında tüm soğanların köklü olduğu gözlenmiştir, kök sayıları ve kök uzunlukları incelenmiştir. Yapılan varyans analizi Çizelge 4.45'de verilmiştir.

Çizelge 4.45. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen *M. macrocarpum* soğanların sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Eksplant Başına Yeni Çıkan Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Yeni Çıkan Köklerin Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F
Adaptasyon Etkisi	9	0,43	5,55**	14,39	17,35**
Hata	20	0,07		0,83	
Toplam	29				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

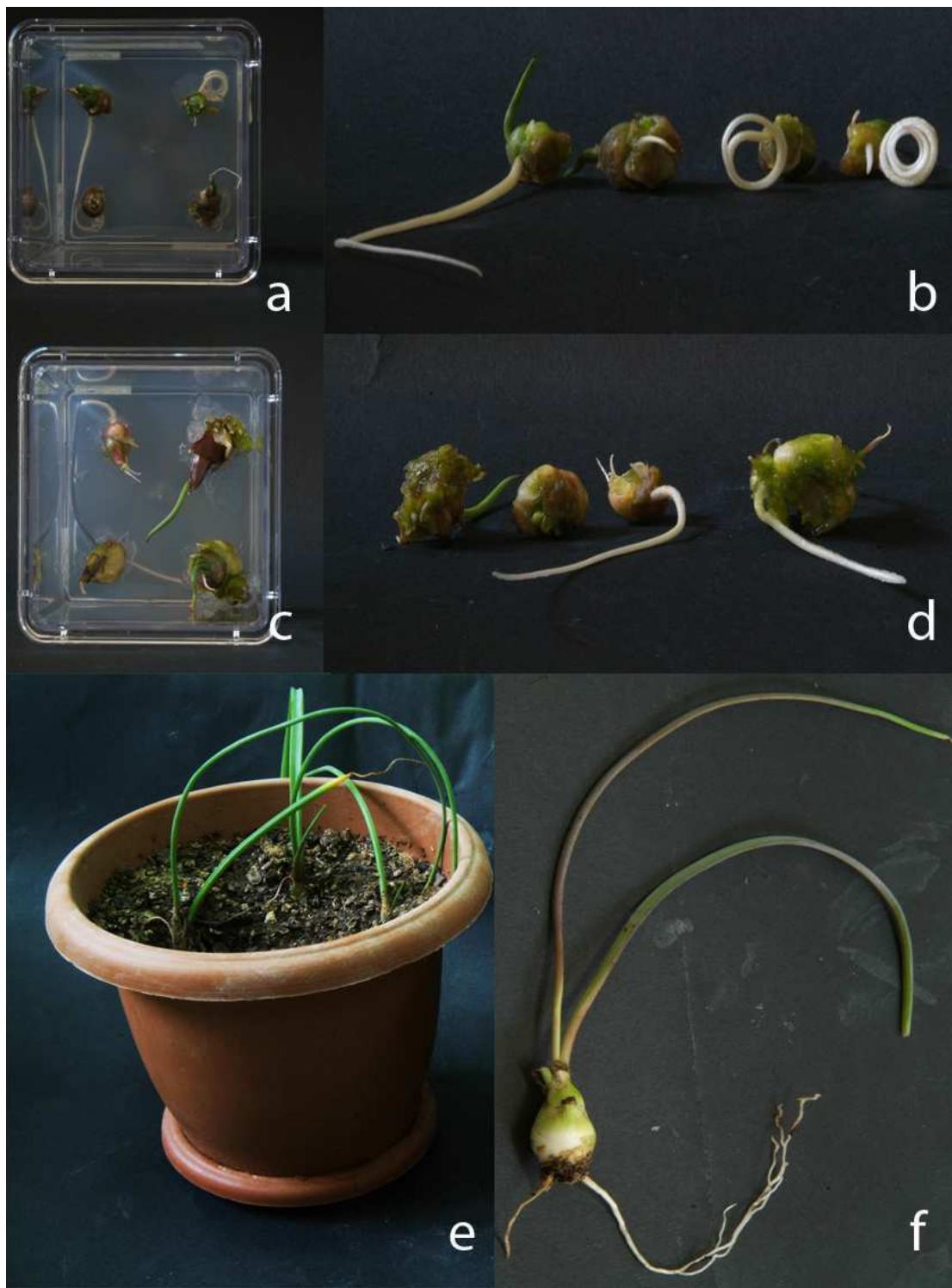
Kök sayısı ve kök uzunluğu arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.46'da verilmiştir.

Çizelge 4.46. BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen *M. macrocarpum* soğanların sekiz hafta sonunda topraktaki kök gelişmelerine ait Tukey's b testi

Adaptasyonuna Bakılan Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Başına Yeni Çıkan Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Yeni Çıkan Köklerin Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	1,56ab	3,19cd
1	1	1,61ab	6,55ab
1	2	1,17b	2,55cd
2	0,5	1,00b	1,44d
2	1	2,14a	5,94ab
2	2	1,05b	3,77cd
4	0,5	1,19b	6,13ab
4	1	1,30b	7,78a
4	2	1,00b	2,08d
MS (Kontrol)		1,00b	0,80de

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Adaptasyonu sağlanan tüm bitkilerde eski köklerin çürüdüğü, yeni köklerin çıktıığı ve bunların uzun ve çatallı olduğu gözlenmiştir. Eksplant başına yeni oluşan kök sayısı bakımından, en fazla kök oluşumu 2,14 adet kök ile 2 mg/l BAP-1mg/l NAA içeren ortamdan alınıp MS'de köklendirilen soğanlardan elde edilmişdir (Şekil 4.17.f). Eksplant başına en uzun kökler 7,78 cm ile 4 mg/l BAP-1mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir.



Resim 4.17. *M. macrocarpum* soğanlarının MS'de köklendirilmesi ve adaptasyonu  
 (a-b) 2 mg/l BAP 1 mg/l NAA (c-d) 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren  
 ortamdan alınarak köklendirilen soğanlar (e) saksılarda adaptasyon (f) 2  
 mg/l BAP-1mg/l NAA içeren ortamdan alınıp MS'de köklendirilen  
 soğanların 8 hafta sonunda topraktaki kök gelişimi

#### **4.2.2. *M. macrocarpum*'un KIN-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklendirme ve adaptasyon**

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan soğan rejenerasyonu:

İkili pullar KIN-NAA içeren MS besin ortamına rejenerasyon için konulmuştur (Şekil 4.18.a). Dört hafta sonunda soğan oluşumu başlamıştır ve en iyi 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda gözlenmiştir (Şekil 4.18.b). Sekiz hafta sonunda tüm eksplantlarda soğan oluşumu gözlenmiştir ve pullar üzerinde gelişen soğanlar varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.47).

Çizelge 4.47. KIN-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. macrocarpum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Ortalama Çap (cm)	
		K.O	F	K.O	F
İkili pullardan rejenerasyon	9	8,93	3,47*	0,01	3,09*
Hata	20	2,57		0,00	
Toplam	29				

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizinde soğan sayısı ve çapı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.48'de verilmiştir.

Çizelge 4.48. KIN-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. macrocarpum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Ortalama Çap (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)		
1	0,5	2,08ab	0,30ab
1	1	3,99ab	0,24ab
1	2	1,42b	0,22b
2	0,5	6,00a	0,31ab
2	1	1,50ab	0,20 b
2	2	1,00b	0,31ab
4	0,5	3,25ab	0,27ab
4	1	1,67ab	0,30ab
4	2	5,00ab	0,41a
MS		1,58ab	0,34ab

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,05 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.48'de görüldüğü gibi, eksplant başına en fazla soğan altı adet ile 2 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir (Şekil 4.18.c). Soğan çapları açısından ise en iyi sonuçlar 0,41 cm ile 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir.

#### Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

*M. macrocarpum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların 10 hafta sonunda varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.49). Tüm parametrelerde ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır.

Çizelge 4.49. *M. macrocarpum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapı (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	0,04	5,28**	0,10	7,94**	0,03	6,50**
Hata	20	0,01		0,01		0,01	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğanların Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	1342,59	52,44**	0,45	14,21**	0,04	6,91**
Hata	20	90,00		0,03		0,01	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4. 50'de verilmiştir.

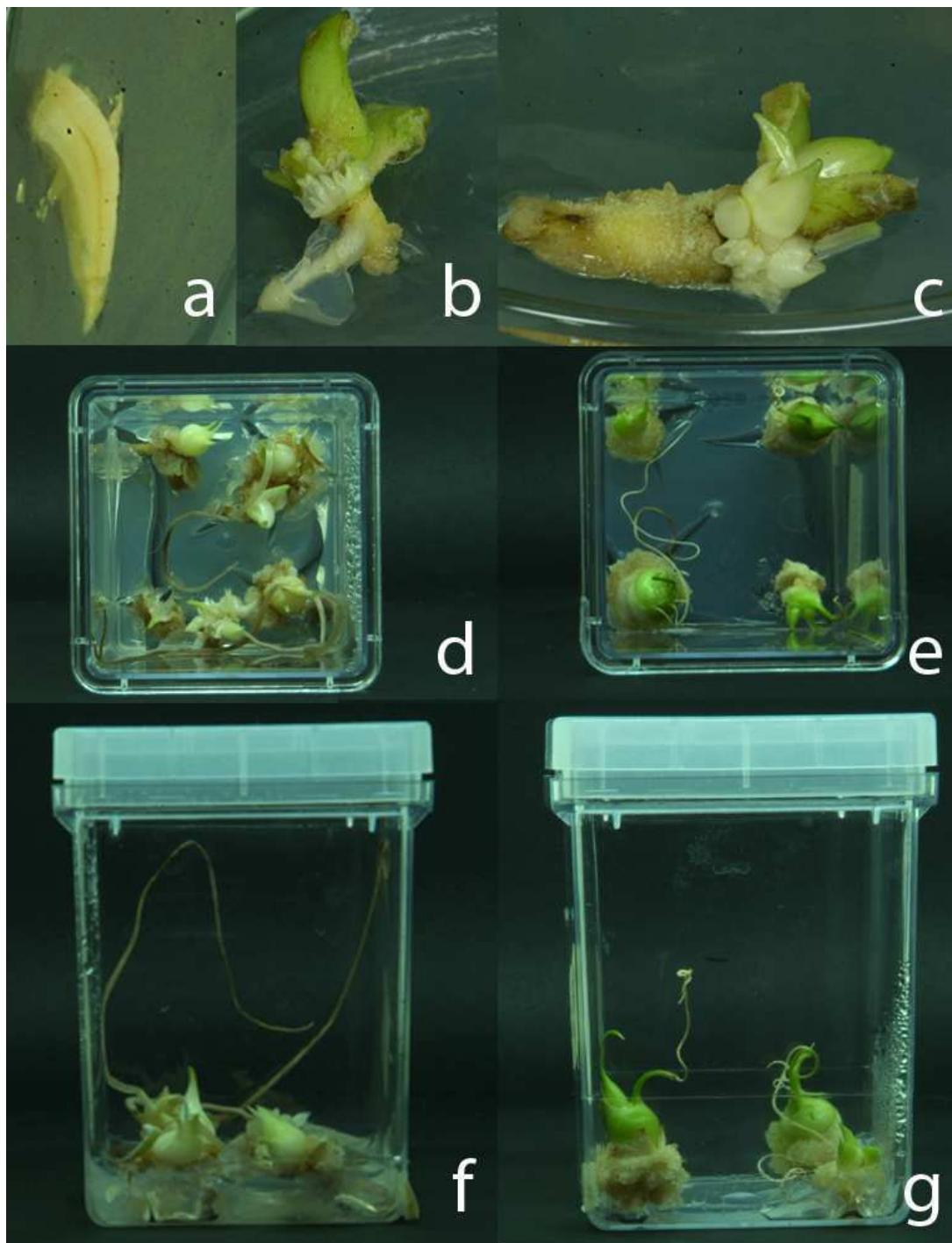
Çizelge 4.50. *M. macrocarpum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların KIN-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapı (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Ortalama Çapı (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)						
1	0,5	0,30ab	0,49 bc	0,19ab	100,00a	1,00a	0,31a
1	1	0,24ab	0,55 b	0,31ab	25,00b	0,25b	0,07b
1	2	0,22b	0,24 d	0,02b	0,00c	0,00b	0,00c
2	0,5	0,31ab	0,45bc	0,14ab	0,00c	0,00b	0,00c
2	1	0,20 b	0,20 d	0,00b	0,00c	0,00b	0,00c
2	2	0,31ab	0,41 c	0,10b	0,00c	0,00b	0,00c
4	0,5	0,27ab	0,40 c	0,13ab	33,33b	0,33b	0,13abc
4	1	0,30ab	0,47 bc	0,17ab	96,67a	0,97a	0,21abc
4	2	0,41a	0,73 a	0,32a	0,00c	0,00b	0,00c
MS (Kontrol)		0,39bc	0,34ab	0,13 ab	46,67b	0,47 bc	0,10abc

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.50'de görüldüğü gibi başlangıçta primer soğanların ilk çapları açısından en iyi sonuçlar 0,41 cm ile 4 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren besin ortamından alınmıştır.

Rejenerasyon ortamına alındıktan sekiz hafta sonra da, son çaplarda da yine aynı ortamın en iyi sonuçları verdiği gözlenmiştir (0,73 cm) (Şekil 4.18.e-g). Bu ortamda çap artışı da en fazla olup 0,32 cm olarak gözlenmiştir. Eksplant başına sekonder soğan sayısı en fazla 1 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA (Şekil 4.18.d-f) ve 4 mg/l KIN-1mg/l NAA içeren ortamlarda sırası ile 0,97 ve 1 adet olarak elde edilmiştir. Ancak, 1 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren ortamda gelişen soğanlarda sararma gözlenmiştir. Sekonder soğan çapları bakımından en iyi sonuçlar 1 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren besin ortamında elde edilmiştir.



Resim 4.18. *M. macrocarpum*'un KIN-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu

(a)Rejenerasyona alınan ikili pullar (b) 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda dört hafta sonunda soğan oluşumu başlangıcı (c) 2 mg/l KIN-1 mg/l NAA içeren besin ortamından rejenerasyon (e-g) 4 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren besin ortamında rejenerasyon (d-f) 1 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren ortamda sekonder soğan oluşumu ve primer soğanlardaki sararma

Pul yapraklardan elde edilen soğanların MS içeren ortamda köklendirilmesi:

*M. macrocarpum*'un KIN-NAA içeren ortamlarda gelişen soğanlarda kök uçları oluşmuş ancak tam gelişmemiştir. Bunun sebebinin içinde bulundukları bitki büyümeye düzneleyicileri oldukları düşünülperek sekiz hafta süre ile büyümeye düzenleyicisi içermeyen MS ortamında köklendirilmeye alınmıştır (Çizelge 4.51).

Çizelge 4.51. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan *M. macrocarpum* soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğanların İlk Çapı (cm)		Soğanların Son Çapı (cm)		Soğanlarda Meydana Gelen Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS 'de Köklendirme	8	0,03	4,00**	0,05	6,44**	0,01	1,60**
Hata	18	0,01		0,01		0,002	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS 'de Köklendirme	8	1950,09	7,25**	0,52	2,21**	18,22	14,24**
Hata	18	269,17		0,23		1,28	
Toplam	26						

\*\*0,01 düzeyinde önemli

Yapılan varyans analizinde tüm parametrelerde ortamlar arasındaki fark 0,01 seviyesinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.52'de verilmiştir.

Çizelge 4.52. KIN-NAA içeren besin ortamından alınan *M. macrocarpum* soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait Tukeys b analizi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Soğanların İlk Çapı (cm)	Soğanların Son Çapı (cm)	Soğanlarda Meydana Gelen Çap Farkı (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	0,49 bc	0,63 b	0,14a
1	1	0,55 b	0,63 b	0,08ab
1	2	0,24 d	0,26 d	0,02ab
2	0,5	0,45bc	0,57 bc	0,12 ab
2	1	0,20 d	0,20 d	0,00b
2	2	0,41 c	0,46 c	0,04 ab
4	0,5	0,40 c	0,43c	0,03ab
4	1	0,47 bc	0,52bc	0,43ab
4	2	0,73 a	1,00 a	0,67ab
MS (Kontrol)		0,34ab	0,47c	0,13 ab
Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	100,00a	1,00ab	2,67bcd
1	1	100,00a	1,47a	0,77cd
1	2	100,00a	1,23ab	8,87a
2	0,5	100,00a	1,43a	2,93bc
2	1	80,00ab	0,80ab	2,62bcd
2	2	75,00ab	0,75ab	3,01b
4	0,5	41,67b	0,42b	1,05bcd
4	1	41,67b	0,42b	0,72d
4	2	100,00a	1,33ab	2,37bcd
MS (Kontrol)		50,00b	0,50b	1,95bcd

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.52'de ilk çap bakımından en büyük soğanlar 0,73 cm ile 4 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınmıştır. Rejenerasyon sonucunda son çaplar bakımından en iyi sonuçlar yine aynı ortamda elde edilmiştir (1,00 cm) (Resim 4.19.a-b-c). Eksplant başına en fazla kök sayısı 1 mg/l KIN-1 mg/l NAA ve 2 mg/l KIN- 0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak MS'de köklendirilen soğanlardan elde edilmiştir. En uzun kökler (8,87 cm) 1 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak MS'e yerleştirilen soğanlardan elde edilmiştir (Resim 4.19.f-g-h).

KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen soğanların adaptasyonu:

Köklü dış ortama alıştırılmış olan soğanlar (Bknz. Çizelge 4.52) (Resim 4.19.d-i), sekiz hafta sonra adaptasyonun köklenme üzerine etkisini belirlemek amacıyla, saksılardan çıkarılmış kök sayıları ve kök uzunlukları incelenmiştir. Bütün soğanlarda % 100 kök oluşumu gözlendiği için analiz yapılmaya gerek duyulmamıştır. Yapılan varyans analizinde kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır (Çizelge 4.53.).

Çizelge 4.53. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen *M. macrocarpum* soğanlarının sekiz hafta sonunda toprakta yeni çıkan köklerin gelişmelerine ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Adaptasyon Etkisi	8	483,80	2,11	0,76	15,43**	53,73	279,95**
Hata	18	229,17		0,05		0,19	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

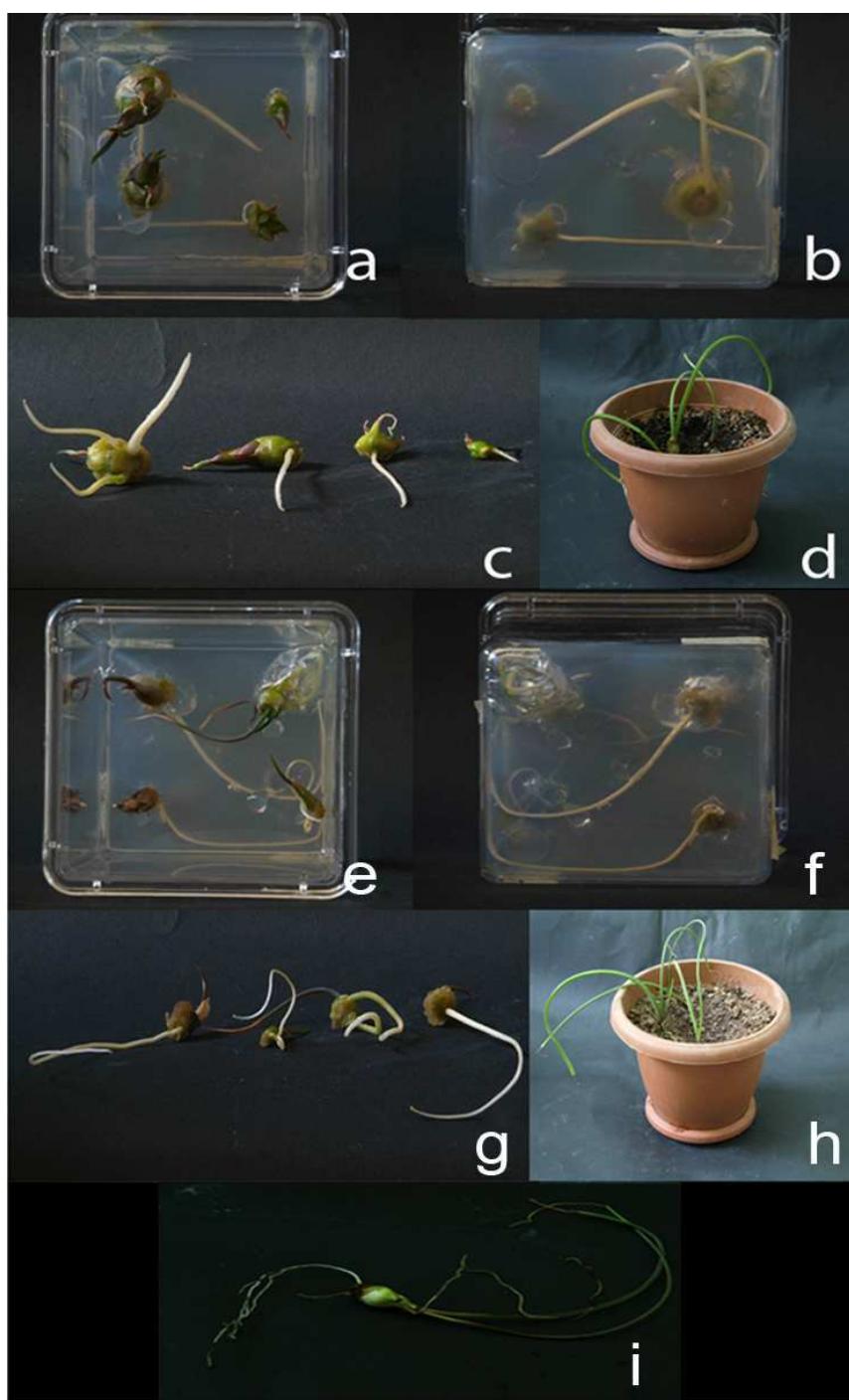
Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.54' de verilmiştir.

Çizelge 4.54. KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilen *M. macrocarpum* soğanların sekiz hafta sonunda toprakta yeni çıkan köklerin gelişmelerine ait Tukey's b testi

Adaptasyonuna Bakılan Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Eksplant Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Yeni Çıkan Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Yeni Çıkan Köklerin Uzunluğu (cm)
KIN (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	100,00	1,59a	12,34a
1	1	100,00	1,56a	6,19d
1	2	100,00	2,01a	3,66e
2	0,5	100,00	2,04a	9,64b
2	1	100,00	1,93a	10,27b
2	2	75,00	0,77b	2,35f
4	0,5	100,00	1,57a	7,19c
4	1	66,67	0,67b	0,37h
4	2	100,00	1,76a	11,43a
MS (Kontrol)		100,00	1,00 ab	0,80 g

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 düzeyinde önemlidir

Tüm soğanların toprağa aktarıldıktan bir süre sonra *in vitro*'da oluşturdukları köklerinin çürümüş olduğu ve yerlerine yeni kökler oluşturdukları görülmüştür. Çizelge 4.54'te eksplant başına kök sayısı 0,67-2,04 adet arasında değişmiştir. 4 mg/l KIN-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınıp MS de köklendirilen soğanlar ve kontrol grubu dışındaki ortamlardan alınarak saksıya aktarılan soğanlarda kök gelişimi daha az olmuştur. Geri kalan sekiz ortamda soğanların çaplarında anlamlı bir fark görülmemiştir. En uzun kökler ortalama 12,34 cm ile 1 mg/l KIN- 0,5 mg/l NAA ve 11,43 cm 4 mg/l KIN- 2 mg/l NAA (Resim 4.19.e) içeren ortamdan alınıp, MS de köklendirilerek toprağa aktarılan soğanlardan elde edilmiştir.



Resim 4.19. *M. macrocarpum*'un KIN-NAA içeren rejenerasyon ortamlarından alınarak MS'de köklendirilmesi

(a-b-c-d) 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların kök gelişimleri ve saksılarda adaptasyon (d- e) 4 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak köklendirilen soğanların topraktaki kök gelişimi (f-g-h-i) 1 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak MS'e yerleştirilen soğanların kök gelişimleri ve saksılarda adaptasyon

### 4.3. *M. neglectum*

#### 4.3.1. *M. neglectum*'un BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu köklendirme ve adaptasyonu

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan rejenerasyon:

BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda ikili pullar üzerinden elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.55).

Çizelge 4.55. Sekiz hafta sonunda BAP-NAA içeren MS besin ortamında *M. neglectum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)		Eksplant Basına Soğan Ucu Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
İkili Pullardan Rejenerasyon	8	1481,48	1,64	82,03	0,92	0,01	2,93*	526,62	0,71	80,66	0,66
Hata	18	902,78		88,93		0,003		740,74		123,01	
Toplam	26										

\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizine göre eksplant başına soğan çapı farkı 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.56'da verilmiştir.

Çizelge 4.56. Sekiz hafta sonunda BAP-NAA içeren MS besin ortamında *M. neglectum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	Eksplant Basına Soğan Ucu Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	33,33	1,63	0,15 ab	25,00	1,50
1	1	83,33	1,88	0,14 ab	50,00	4,92
1	2	83,33	1,94	0,12 b	33,33	17,50
2	0,5	83,33	3,29	0,17 ab	16,67	1,37
2	1	83,33	3,69	0,14 ab	41,67	2,33
2	2	100,00	4,50	0,30 a	41,67	8,92
4	0,5	50,00	8,00	0,25 ab	8,33	8,33
4	1	66,67	1,25	0,24 ab	25,00	3,17
4	2	100,00	3,00	0,15 ab	25,00	3,75
MS (Kontrol)		100,00	1,00	0,10b	0,00	0,00

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,05 düzeyinde önemlidir

Çizelge 4.56'da görüldüğü gibi soğan oluşumu %33,33-100 bulunmuştur. Eksplant başına soğan sayısı bakımından bir fark çıkmamasına rağmen en fazla soğan sayısı en fazla sekiz adet soğan 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Resim 4.20.a). Soğanlar gelişmemiş soğan uçları şeklinde kalmıştır. Soğan ucu oluşum yüzdesi % 0-50 arasında ve sayısı 0,00-17,50 adet arasında değişim görülmüştür ve ortamlar arasında istatistiksel bir fark çıkmamıştır. Eksplant başına en büyük soğan çapı 0,3 cm ile 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir.

Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

Elde edilen primer soğanlar (Bknz. Çizelge 4.56 4. sütun) yukarıda belirtilen 10 ortamda rejenerasyona alınmıştır. On hafta sonunda, ilk-son çapları, çap farkı, sekonder soğan oluşumu, sayısı, kök oluşum yüzdesi, kök sayısı ve kök uzunluğu incelenmiştir (Çizelge 4.57.).

Çizelge 4.57. *M. neglectum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K	S.D	Primer soğanların İlk Çapı (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan Rejenerasyonu	8	0,01	2,93*	0,02	1,65	0,01	0,83
Hata	18	0,003		0,01		0,01	
Toplam	26						
V.K	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan Rejenerasyonu	8	1503,959	2,77*	69,55	2,76	0,004	0,95
Hata	18	543,317		25,22		0,004	
Toplam	26						
V.K	S.D	Magenta Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan Rejenerasyonu	8	2023, 54	2,36	5,00	1,54	0,21	2,72*
Hata	18	856,89		3,26		0,08	
Toplam	26						

\* 0,05 düzeyinde önemli

Primer soğan ilk çapları, sekonder soğan oluşum yüzdesi ve kök uzunluğu 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.58' de verilmiştir.

Çizelge 4.58. *M. neglectum* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların BAP-NAA içeren MS ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapı (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	0,15 ab	0,43	0,33
1	1	0,14 ab	0,36	0,22
1	2	0,12 b	0,31	0,19
2	0,5	0,17 ab	0,32	0,15
2	1	0,14 ab	0,33	0,19
2	2	0,30 a	0,48	0,13
4	0,5	0,25 ab	0,34	0,09
4	1	0,24 ab	0,35	0,11
4	2	0,15 ab	0,35	0,20
Ortam		Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	72,22ab	2,41	0,12
1	1	70,00ab	3,64	0,12
1	2	91,67a	2,00	0,15
2	0,5	50,00ab	1,33	0,17
2	1	100,00a	3,04	0,12
2	2	25,00b	1,00	0,21
4	0,5	91,67a	2,00	0,12
4	1	83,33ab	1,00	0,23
4	2	75,00ab	1,13	0,15
Ortam		Magenta Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	63,89	2,03	0,70ab
1	1	68,33	3,20	0,73ab
1	2	0,00	0,00	0,00b
2	0,5	41,67	0,92	0,43 ab
2	1	58,33	1,50	0,83a
2	2	83,33	2,58	0,63ab
4	0,5	33,33	0,67	0,36ab
4	1	66,67	3,83	0,70ab
4	2	66,67	2,75	0,46ab

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,05 düzeyinde önemlidir

Primer soğanlarda en fazla çap 0,48 cm ile 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA ortamda görülmüş (Resim 4.20. b-c), çap farkları ise 0,09-0,33 cm bulunmuştur. Sekonder soğan sayısı 1,00-3,64 adet, sekonder soğan çapları 0,12-0,23 cm, kök oluşum yüzdesi 0,00-83,33 ve eksplant başına kök sayısı 0,00-3,83 adet arasında değişmektedir. Sekonder soğan oluşumu % 50-100 arasında olmuştur. En uzun kök 0,83 cm ile 2 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamda tespit edilmiştir. MS (kontrol) hariç tüm ortamlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Yine 1 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortam hariç tüm ortamlarda kök oluşumu gerçekleşmiştir.

BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında pul yapraklardan elde edilen soğanların MS içeren ortamda köklendirilmesi:

*M. neglectum* soğanları rejenerasyon ortamında büyük oranda köklenmiştir. Ancak, köklerin kısa olması nedeniyle, bu soğanlar kök gelişimleri için MS'e alınmışlardır (Çizelge 4.59).

Çizelge 4.59. Tüm BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında elde edilen *M. neglectum* soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi

VK	S.D	Soğan İlk Çapı (cm)		Soğan Son Çapı (cm)		Soğan Çap Farkı (cm)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS'de Köklendirme	8	0,01	1,68	0,05	2,84*	0,04	0,96	15,23	11,85**	38,76	3,73*
Hata	18	0,01		0,02		0,05		1,29		10,39	
Toplam	26										

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Sekiz hafta sonunda MS besin ortamı kökler üzerinde olumlu etki yapmış tüm eksplantlar köklenerek köklerde belirgin uzama görülmüştür. Sekiz hafta sonunda yapılan varyans analizine göre, soğan ilk çapı ve çaplar arası fark önemli bulunmamıştır. Son çaplar ve kök uzunluğu bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde, eksplant başına kök sayısı ise, 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.60' da verilmiştir.

Çizelge 4.60. Tüm BAP-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında elde edilen *M. neglectum* soğanlarının MS'de köklendirilmesine ait Tukeys b testi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğan Çap Farkı (cm)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	0,48	0,73a	0,24	3,62b	3,97b
1	1	0,36	0,43ab	0,36	1,85b	4,93b
1	2	0,31	0,32b	0,05	1,12b	9,10ab
2	0,5	0,32	0,39ab	0,04	2,33b	14,20a
2	1	0,33	0,44ab	0,11	4,08b	4,98b
2	2	0,43	0,49ab	0,06	7,83a	5,77b
4	0,5	0,34	0,45ab	0,11	2,30b	5,65b
4	1	0,34	0,41ab	0,22	2,12b	5,50b
4	2	0,35	0,40ab	0,10	2,26b	5,50b

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.60'da görüldüğü gibi ilk çaplar 0,31-0,48 cm arasında değişmektedir ve tüm ortamlardan alınan soğanlarda büyümeye düzenleyicilerinin olumsuz etkisi MS'e alınmak suretiyle kaldırılmıştır ve soğanlar % 100 köklenmiştir. En büyük soğan çapı 0,73 cm ile 1 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. En fazla köklenme ise 7,83 adet kök ile 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda görülmüştür (Resim 4.20. d-e-f-g). En uzun kökler ise 14,2 cm ile 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Soğanlar saksılara aktarılıarak, toprağa adaptasyonları sağlanmıştır (Resim 4.20.h).



Resim 4.20. *M. neglectum*'un BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklendirme ve adaptasyonu

(a) 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilen soğanlar  
 (b-c) 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda primer soğan rejenerasyonu (d-e-f-g) 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların MS'de köklendirilmesi (h) 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların MS'de köklendirilerek saksılara adaptasyonunun sağlanması

### **4.3.2. *M. neglectum*'un TDZ-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu**

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan soğan rejenerasyonu:

TDZ-NAA içeren MS besin ortamına alınan ikili pullar sekiz hafta sonunda sayılıarak, veriler varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.61).

Çizelge 4.61. TDZ-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. neglectum* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)		Eksplant Basına Soğan Ucu Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
İkili pullardan rejenerasyon	9	717,59	0,80	178,30	0,87	0,02	0,91	208,33	1,13	4,60	1,18
Hata	18	902,78		204,76		0,02		185,19		3,90	
Toplam	26										

Ortamlarda gelişimlerini tamamlayamayan, soğan uçlarına rastlanılmıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre eksplant başına soğan oluşum yüzdesi, sayısı, çapı ve soğan ucu oluşum yüzdesi ve sayısına bakılmış ve ortamlar arasındaki fark önemsiz çıkmıştır. Yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.62'de verilmiştir.

Çizelge 4.62. TDZ-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. neglectum* ikili pul yaprakların rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	Eksplant Başına Soğan Ucu Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)					
0,1	0,5	83,33	6,00	0,13	16,67	1,15
0,1	1	75,00	4,50	0,15	0,00	0,00
0,1	2	100,00	8,25	0,18	8,33	0,58
0,15	0,5	50,00	8,00	0,10	0,00	0,00
0,15	1	100,00	2,50	0,13	16,67	1,18
0,15	2	91,67	2,25	0,10	16,67	1,25
0,2	0,5	83,33	2,00	0,11	16,67	3,83
0,2	1	75,00	6,00	0,14	0,00	0,00
0,2	2	75,00	5,42	0,11	0,00	0,00
MS(Kontrol)		100,00	1,00	0,10	0,00	0,00

Çizelge 4.62'de görüldüğü gibi soğan oluşum yüzdesi %50-100 arasında bulunmuştur. Soğan sayısı en az 1 adet ile MS (kontrol) ortamında ve en çok 8,25 adet ile 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA (Resim 4.21.a) içeren MS ortamında gözlenmiştir. Soğanların çapları 0,10-0,18 cm arasındadır. Soğan ucu oluşumu % 0,00-16,67 soğan ucu sayısı ise; 0,00-3,83 adet arasında değişmiştir.

#### Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

Elde edilen primer soğanlar (Bknz. Çizelge 4.62) MS (kontrol) ortamı dışında dokuz ortamda rejenerasyona alınmıştır. 10 hafta sonunda yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.63'de verilmiştir.

Çizelge 4.63. *M. neglectum* pul yapraklardan elde edilen primer soğanların TDZ-NAA içeren MS besin ortamındaki rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapları (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	8	0,01	2,14*	0,02	3,12*	0,01	1,48
Hata	18	0,002		0,01		0,01	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	8	491,90	1,64	42,87	4,17**	0,003	0,76
Hata	18	300,93		10,27		0,001	
Toplam	26						
V.K.	S.D	Magenta Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	8	937,50	1,45	4,55	1,87	0,39	2,00*
Hata	18	648,15		2,43		0,19	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.63'e göre primer soğan ilk ve son çapı, eksplant başına kök uzunluğu bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 sekonder soğan sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark ise, 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır.

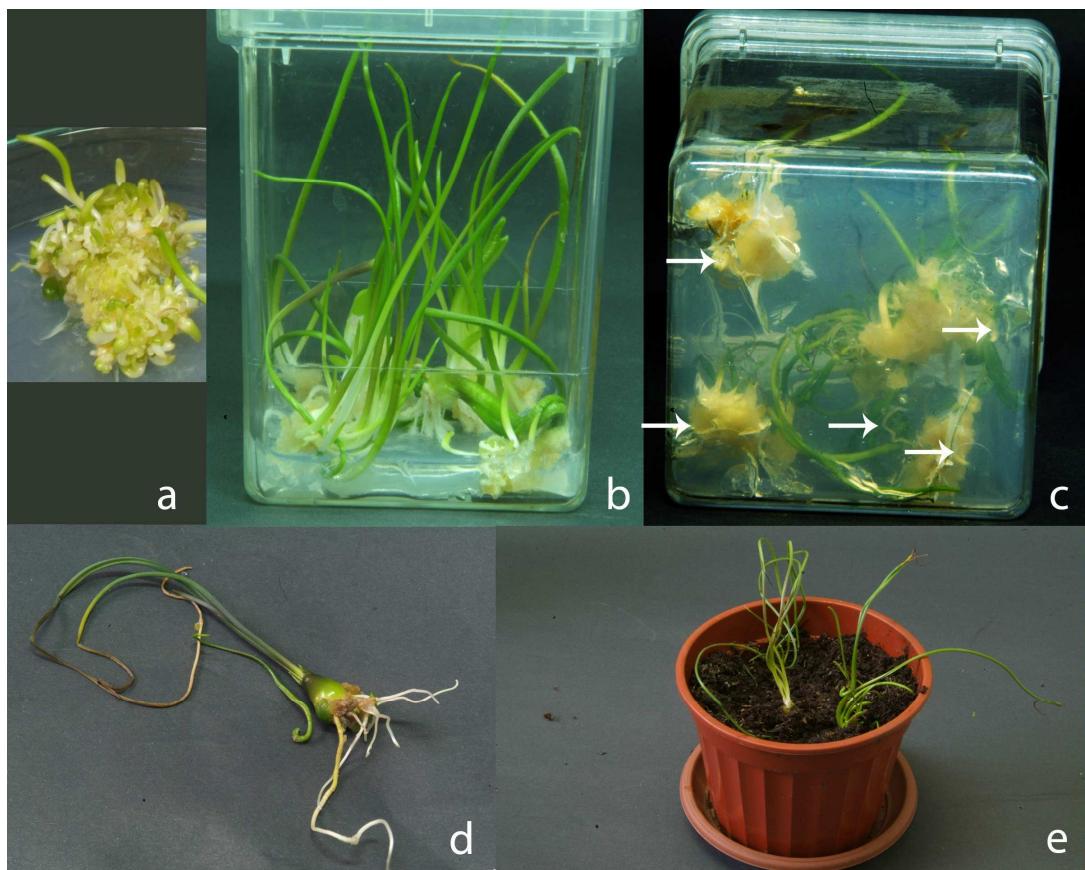
Farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.64' te verilmiştir.

Çizelge 4.64. *M. neglectum* soğanlarının ikili pul yapraklarından edilen primer soğanların TDZ-NAA içeren MS besin ortamındaki rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapları (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	0,29ab	0,37ab	0,08
0,1	1	0,23ab	0,35ab	0,12
0,1	2	0,23ab	0,25b	0,02
0,15	0,5	0,24ab	0,47a	0,23
0,15	1	0,25ab	0,44ab	0,19
0,15	2	0,25ab	0,48a	0,23
0,2	0,5	0,28ab	0,45ab	0,17
0,2	1	0,31ab	0,39ab	0,08
0,2	2	0,15b	0,31ab	0,16
Ortam		Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Çapı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	75,00	1,25d	0,13
0,1	1	91,67	5,25ab	0,10
0,1	2	100,00	6,11a	0,20
0,15	0,5	66,67	1,50d	0,10
0,15	1	83,33	3,23c	0,10
0,15	2	75,00	2,21d	0,10
0,2	0,5	75,00	4,75b	0,23
0,2	1	91,67	5,00ab	0,17
0,2	2	50,00	1,25d	0,10
Ortam		Magenta Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	83,33	2,75	0,74ab
0,1	1	83,33	3,00	0,87ab
0,1	2	66,67	4,38	0,75ab
0,15	0,5	91,67	5,25	1,62a
0,15	1	75,00	2,25	0,85ab
0,15	2	100,00	2,75	0,57ab
0,2	0,5	41,67	1,53	0,83ab
0,2	1	91,67	4,58	1,07ab
0,2	2	66,67	2,50	0,31b

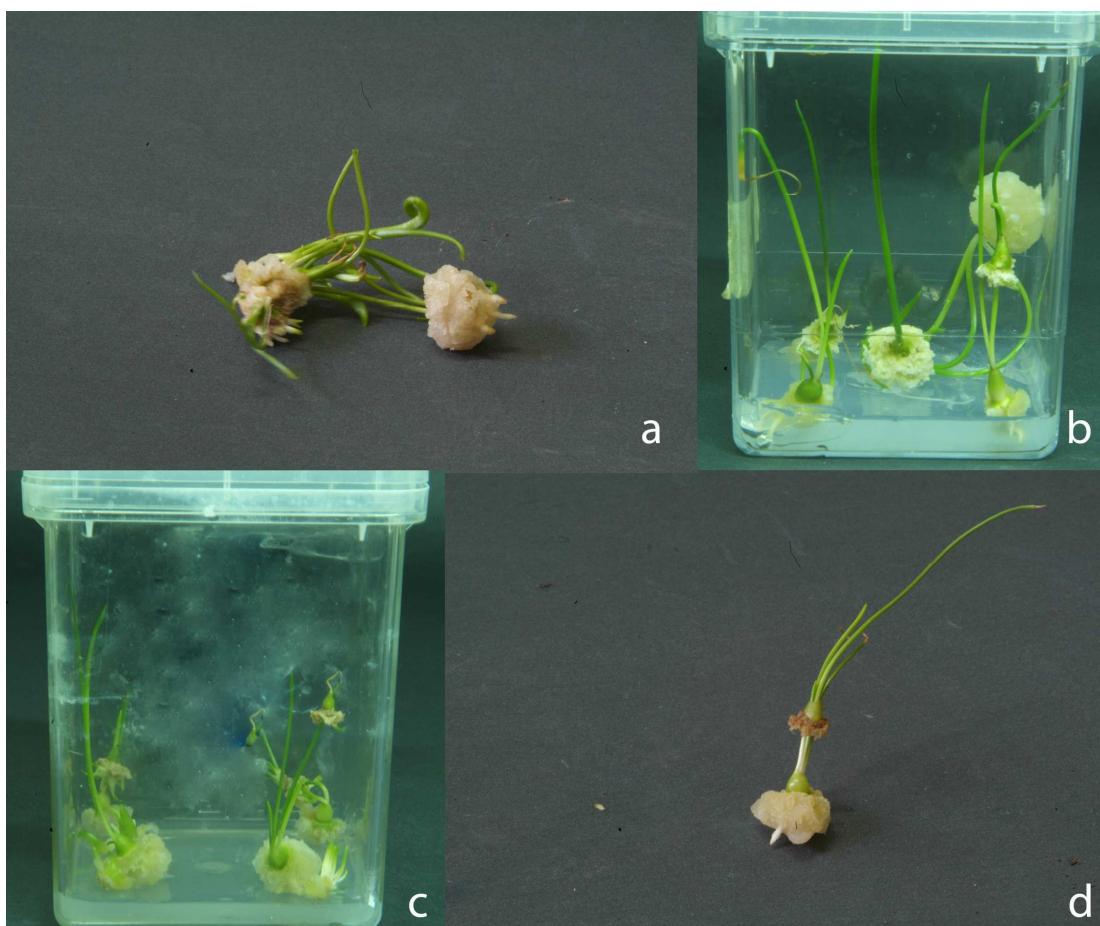
Son çaplarda en büyük çaplar 0,15 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA ve 0,15 mg/l TDZ- 2 mg/l NAA içeren ortamda gerçekleşmiştir. Sekonder soğan oluşumu % 50-100 arasında değişmektedir. En fazla soğan, 0,1 mg/l TDZ- 2 mg/l NAA içeren ortamda, % 100 ile 6,11 olmuştur (Şekil 4.21.b-c). Eksplant başına kök sayısında ortamlar arasında bir fark çıkmazken, kök uzunluğu açısından en iyi ortam 1,62 adet ile 0,15 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamı olmuştur. Köklenme bakımından ortamlar arasında bir fark gözlenmemiştir, köklenme % 41,67-100 arasında değişmiştir. Köklü soğanlar direkt toprağa aktarılmış; köksüz soğanlar ise, MS'de köklendirilmeye alınmıştır ve %100 köklenme sağlanmıştır (Resim 4.21.d).

0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA (Resim 4.22 a-b) ve 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA (Resim 4.22 c-d) içeren MS ortamındaki sekonder soğanların yaprak ayalarından tekrar kallus olduğu ve bunların üzerlerinden yeni sekonder soğanların çıktıığı gözlenmiştir.



Resim 4.21. *M. neglectum*'un TDZ-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklenme ve adaptasyonu

(a) Sekiz hafta sonunda 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren MS ortamında soğan rejenerasyonu (b-c) 0,1 mg/l TDZ- 2 mg/l NAA içeren ortamda primer soğan rejenerasyonu kök ve kallus gelişimi (d) Dış ortama adaptasyon



Resim 4.22. *M. neglectum* sekonder soğanlarının yaprak ayalarından kallus oluşumu ve bunların üzerinden yeni çıkan sekonder soğanlar  
(a-b) 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA (c-d) 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren MS ortamında oluşan soğanlar

TDZ-NAA içeren besin ortamında ikili pul yapraklardan 1. alt kültür çalışması:

TDZ-NAA içeren besin ortamında sekiz hafta sonunda sayılıarak, soğan rejenerasyonuna bakılan (Bknz. Çizelge 4.62) pul yapraklarının üzerindeki soğancıklar kesilip geri kalan pul yapraklarının rejenerasyon kapasitesine bakmak üzere pullar tekrar alt kültüre alınmıştır. Buna ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.62'de verilmiştir.

Çizelge 4.65. TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan *M. neglectum* ikili pullarının 1. alt kültürüne ait varyans analizi

V.K	S.D	Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğanı Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
ikili pulların 1. alt kültürü	8	2245,37	4,62**	39,86	3,92**	0,02	2,46*
Hata	18	486,11		10,17		0,08	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizi sonucunda, soğan oluşum yüzdesi ve eksplant başına soğan sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01; eksplant başına soğan çapı bakımından ise 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi Çizelge 4.66' da verilmiştir.

Çizelge 4.66. TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan *M. neglectum* ikili pullarının 1. alt kültürüne ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	50,00ab	2,17b	0,22a
0,1	1	91,67a	2,00b	0,08ab
0,1	2	75,00a	1,86b	0,12ab
0,15	0,5	75,00a	2,43b	0,11ab
0,15	1	50,00ab	0,50c	0,15ab
0,15	2	0,00b	0,00c	0,00b
0,2	0,5	58,33a	1,08b	0,16ab
0,2	1	75,00a	4,67a	0,14ab
0,2	2	83,33a	3,93ab	0,10ab

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir

Eksplant başına düşen en fazla soğan sayısı 4,67 adet ile 0,2 mg/l TDZ-1 mg/l NAA içeren MS ortamında olmuştur. 0,15 mg/l TDZ-2 mg/l NAA olan ortamda soğan oluşumu gözlenmemiştir. Eksplant başına soğan oluşumunda ise en iyi ortam 0,22

cm ile 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamı olmuştur. Soğan oluşumu bakımından en iyi ortam ise % 91,67 ile 0,1 mg/l TDZ-1 mg/l NAA içeren ortamdır.

#### **4.4. *M. adilii***

##### **4.4.1. *M. adilii* BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu**

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan rejenerasyonu:

BAP-NAA içeren MS besin ortamında ikili pul yapraklardan yapılan rejenerasyon çalışmasında, eksplant başına soğan oluşum nispeti, soğan sayısı, çapı, soğan ucu nispeti ve sayısı araştırılmıştır (Çizelge 4.67.).

Çizelge 4.67. BAP-NAA içeren MS besin ortamında 8 hafta sonunda *M. adilii* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Eksplant Basına Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan(cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
İkili Pullardan Rejenerasyon	9	252,32	0,93	399,94	5,21**	0,04	0,82
Hata	20	270,83		76,72		0,05	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Eksplant Basına Soğan Ucu Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)			
		K.O	F	K.O	F		
İkili Pullardan Rejenerasyon	9	2594,91	3,77	101,27	4,70**		
Hata	20	687,50		21,53			
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

Eksplant başına soğan sayısı ve gelişimini tamamlayamayan soğan uçları sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeyini belirlemek için yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.68'de verilmiştir.

Çizelge 4.68. BAP-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. adili* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	Eksplant Başına Soğan Ucu Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan ucu Sayısı (adet)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	100,00	5,33d	0,13	41,67	5,08ab
1	1	100,00	1,33f	0,19	66,67	15,00a
1	2	83,33	3,92e	0,15	0,00	0,00b
2	0,5	91,67	1,42f	0,10	41,67	5,08ab
2	1	75,00	1,25f	0,25	0,00	0,00b
2	2	91,67	7,83c	0,14	58,33	10,00ab
4	0,5	100,00	15,75a	0,10	41,67	8,42ab
4	1	100,00	11,00b	0,10	66,67	5,58ab
4	2	83,33	14,17a	0,21	75,00	15,67a
MS (Kontrol)		22,00	2,67e	0,15	0,00	0,00b

Çizelge 4.68'de eksplant başına soğan sayısı bakımından en iyi ortam 15,75 (Resim 4.23.a) ve 14,17 adetle (Resim 4.23.b) 4 mg/l BAP- 0,5-2 mg/l NAA içeren ortamdır. Eksplant başına soğan çapları 0,10-0,25 cm, soğan çap oluşumu %22-100 olduğu görülmüştür. Eksplant başına soğan ucu bakımından en iyi değerler 15,67 ve 15 adet ile en iyi ortamlar 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir ve soğan ucu oluşum yüzdesi ise % 0-75 arasında değişmiştir.

#### Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu

Elde edilen soğanlar (Bknz. Çizelge 4.68. 3. sütun) aynı ortamlarda alt kültüre alınmıştır. On hafta sonunda, varyans analizi yapılarak primer soğan ilk son çapları çap farkı, sekonder soğan oluşum nispeti, sayısı ve çapı, kök oluşum nispeti, kök sayısı ve kök uzunluklarına bakılmıştır (Çizelge 4.69).

Çizelge 4.69. *M. adili* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D	Primer Soğanların İlk Çapları (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
Soğan Rejenerasyonu	9	0,004	0,72	0,15	10,97**	0,05	4,39**
Hata	20	0,01		0,01		0,01	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
	9	3009,26	4,98*	0,01	3,84*	87,01	3,03
Hata	20	604,17		0,003		28,70	
Toplam	29						
V.K.	S.D	Kök Oluşturan Eksplant Nispeti (%)		Eksplant Basına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
	9	3030,09	4,28**	7,04	5,34**	30,69	6,17**
Hata	20	708,33		1,32		4,98	
Toplam	29						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Sekonder soğan sayısı ve oluşum yüzdesi bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Son çaplar, çap farkı, kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenme nispeti bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.70' de verilmiştir.

Çizelge 4.70. *M. adili* pul yapraklarından elde edilen primer soğanların rejenerasyonuna ait Tukey's b analizi testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapları (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	0,13	0,23ab	0,20bc
1	1	0,19	0,58a	0,39a
1	2	0,15	0,53a	0,39a
2	0,5	0,10	0,31ab	0,21bc
2	1	0,25	0,35ab	0,10c
2	2	0,14	0,27ab	0,13c
4	0,5	0,10	0,34ab	0,24bc
4	1	0,10	0,33ab	0,23bc
4	2	0,21	0,45ab	0,24bc
MS (Kontrol)		0,15	0,17b	0,02d
Ortam		Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Sekonder Soğanların Ortalama Çapı (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	50,00ab	3,42ab	0,09
1	1	66,67ab	0,50c	0,08
1	2	58,58ab	2,50b	0,17
2	0,5	75,00ab	0,25c	0,13
2	1	66,67ab	1,75b	0,21
2	2	75,00ab	0,25ab	0,15
4	0,5	100,00a	4,25a	0,12
4	1	83,33a	1,00bc	0,12
4	2	75,00ab	0,50c	0,12
MS (Kontrol)		0,00b	0,00d	0,00
Ortam		Kök Oluşturan Eksplant Nispeti (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
1	0,5	58,33	2,58ab	2,48b
1	1	66,67	2,75ab	0,80b
1	2	100,00	4,75a	1,14b
2	0,5	50,00	1,00 b	0,68b
2	1	83,33	2,58ab	1,31b
2	2	41,92	2,33ab	0,62b
4	0,5	41,67	1,42b	0,33b
4	1	75,00	2,17ab	1,14b
4	2	100,00	4,92a	0,76b
MS (Kontrol)		100,00	1,83ab	10,85a

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.70.'de görüldüğü gibi sekonder soğan sayısı en fazla 4,25 adet ile 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamıdır (Resim 4.23.c). Soğanların 1. alt kültüründe son çaplarda gözlenen artış bakımından en iyi ortamlar 1 mg/l BAP- 1 ve 2 mg/l NAA içeren ortamlarda sırasıyla 0,53-0,58 olmuştur (Resim 4.23.d-e). En fazla çap artışının gözlendiği ortam 0,39 cm ile 1 mg/l BAP-1-2 mg/l NAA içeren MS ortamıdır. Tüm ortamlarda köklenme vardır, kök sayısı bakımından en iyi ortam 4,92 adet kök ile 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA ve 4,72 adet kök ile 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda gerçekleşmiştir. Kök uzunluğu bakımından en uzun köklere kontrol grubunda rastlanmıştır (Resim 4.23.f). Tüm soğanlar, rejenerasyon ortamında köklenmeleri nedeniyle köklendirilme ortamına alınmayarak, doğrudan saksılara aktarılmışlardır (Resim 4.23.g).



Resim 4.23. *M. adilii* BAP-NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon köklenme ve adaptasyonu

(a) 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda rejenerasyon (b) 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamda rejenerasyon (c) 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamda primer soğan rejenerasyonu (d) 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamda primer soğan rejenerasyonu (e) 1 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda primer soğan rejenerasyonu (f) MS'de kök oluşumu (g) Saksılarda adaptasyon

#### BAP -NAA içeren besin ortamında ikili pul yapraklardan 1. alt kültür çalışması:

BAP-NAA içeren besin ortamında sekiz hafta sonunda sayılarak, soğan rejenerasyonuna bakılan (Bknz. Çizelge 4.68.) pul yaprakların üzerindeki soğancıklar kesilip geri kalan pul yaprakların rejenerasyon kapasitesi araştırılmak üzere pullar tekrar alt kültüre alınmıştır. Varyans analizi sonucunda, 8 hafta sonunda

eksplant başına soğan oluşum yüzdesi, soğan çapı ve sayısına ve soğan ucu oluşum yüzdesi ve sayısına bakılmıştır (Çizelge 4.71).

Çizelge 4.71. BAP-NAA içeren besin ortamında oluşan *M. adilii* ikili pulların 1. alt kültürüne ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	
		KO	F	K.O	F	KO	F
İkili pulların 1. Alt kültürü	8	3096,07	1,94*	7,829	2,42*	0,09	1,94
Hata	18	1597,22		3,229		0,05	
Toplam	26						
V.K	S.D	Eksplant Başına Soğan Ucu Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)			
		KO	F	KO	F		
İkili pulların 1. Alt kültürü	8	468,75	1,13	32,04	2,66*		
Hata	18	416,67		12,05			
Toplam	26						

\* 0,05 düzeyinde önemli

Eksplant başına soğan oluşum yüzdesi ve çapı dışında tüm parametrelerde ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4. 72' de verilmiştir.

Çizelge 4.72. BAP-NAA içeren besin ortamında oluşan *M. adilii* ikili pullarının 1. alt kültürüne ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	Eksplant Başına Soğan Ucu Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)					
1	0,5	0,00g	0,00e	0,00	0,00	0,00b
1	1	33,33e	0,83d	0,04	0,00	0,00b
1	2	16,67f	0,33d	0,10	0,00	0,00b
2	0,5	75,00b	3,25a	0,15	8,33	0,33b
2	1	83,33a	1,08c	0,11	8,33	0,67b
2	2	0,00g	0,00e	0,00	0,00	0,00b
4	0,5	66,67c	3,67a	0,07	33,33	10,00a
4	1	66,67c	2,08b	0,08	25,00	1,50b
4	2	41,67d	1,08c	0,14	0,00	0,00b

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.72'de görüldüğü gibi, eksplant başına soğan oluşumu 0-83,33 arasında değişmektedir. Soğan sayısı bakımından en iyi sonuçlar sırasıyla 3,25 adet ile 2 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Soğan çapları 0-0,15 cm arasındadır. Eksplant başına soğan oluşum yüzdesi 0,00-33,33 arasında olmuştur. Soğan ucu sayısı bakımından en iyi ortam bakımından en iyi sonuçlar 4 mg/l BAP- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

#### **4.4.2. *M. adilii*'nin TDZ-NAA içeren ortamında rejenerasyonu köklenme ve adaptasyonu**

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan soğan rejenerasyonu:

TDZ-NAA içeren MS besin ortamına alınan ikili pullar sekiz hafta sonunda sayılara, veriler varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.73).

Çizelge 4.73. TDZ-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. adilii* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Basına Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)		Eksplant Basına Soğan Ucu Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F	KO	F	KO	F	KO	F
ikili Pullardan Rejenerasyon	9	20,83	1,00	201,26	2,61*	0,02	1,35	1863,43	3,58*	74,92	0,02
Hata	20	20,83		77,11		0,01		520,83		36,20	
Toplam	29										

\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizi sonuçlarına göre eksplant başına soğan sayısı ve soğan ucu oluşum yüzdesi bakımından ortamlar arasında fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.74'de verilmiştir.

Çizelge 4.74. TDZ-NAA içeren MS besin ortamında sekiz hafta sonunda *M. adilii* ikili pul yapraklarının rejenerasyonuna ait Tukey's b testi

Ortam		Eksplant Basına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	Eksplant Basına Soğan ucu Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Ucu Sayısı (adet)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)					
0,1	0,5	100,00	17,58a	0,18	83,33a	16,42
0,1	1	100,00	9,00c	0,15	66,67ab	9,00
0,1	2	100,00	11,83ab	0,14	33,33abc	8,54
0,15	0,5	91,67	11,83ab	0,14	33,33abc	9,50
0,15	1	100,00	11,66ab	0,18	50,00abc	7,38
0,15	2	100,00	8,50c	0,15	41,67abc	12,25
0,2	0,5	100,00	7,37cd	0,15	25,00abc	3,17
0,2	1	100,00	13,91ab	0,16	33,33abc	5,92
0,2	2	100,00	11,33ab	0,14	8,33bc	1,33
MS (Kontrol)		22,00	2,67d	0,15	0,00d	0,00

Eksplant başına soğan oluşum sayısı % 22-100 arasındadır. Soğan sayısı bakımından 17,58 adet soğan ile 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir (Resim 4.24.a). Soğanların çapları ise 0,14-0,18 cm arasında bulunmuştur. Soğan ucu bakımından en iyi sonuçlar % 83,33 ile 0,1 mg/l TDZ 0,5 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir.

Pul yapraklardan elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonu:

Elde edilen soğanlar (Bknz. Çizelge 4.74 4. sütun) aynı ortamlarda alt kültüre alınmıştır. 10 hafta sonunda soğanlar; ilk çap, son çap, çap farkı, sekonder soğan çapı, oluşum nispeti ve çapları, kök oluşumu kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.75).

Çizelge 4.75. *M. adilii* pul yapraklardan elde edilen primer soğanların TDZ-NAA'de rejenerasyonu sonuçlarına ait varyans analizi

V.K	S.D	Primer Soğanların İlk Çapları (cm)		Primer Soğanların Son Çapı (cm)		Primer Soğanların Çap Farkı (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan Rejenerasyonu	8	0,01	11,26	0,06	1,58	0,03	0,55
Hata	18	0,001		0,04		0,06	
Toplam	26						
V.K	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		KO	F	KO	F		F
Soğan Rejenerasyonu	8	1718,75	2,75*	0,02	1,83*	89,26	5,99
Hata	18	625,00		0,01		14,90	
Toplam	26						
V.K	S.D	Magenta Başına Kök Oluşumu (%)		Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan Rejenerasyonu	8	1041,67	1,96*	8,28	1,79*	0,32	1,10
Hata	18	532,45		4,63		0,29	
Toplam	26						

\* 0,05 düzeyinde önemli

Sekonder soğan oluşum yüzdesi ve sayısı, kök oluşum yüzdesi ve kök sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4. 76 'de verilmiştir.

Çizelge 4.76. *M.adilii* pul yapraklardan elde edilen primer soğanların TDZ-NAA'de rejenerasyonu sonuçlarına ait Tukey's b testi

Ortam		Primer Soğanların İlk Çapları (cm)	Primer Soğanların Son Çapı (cm)	Primer Soğanların Çap Farkı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	0,18	0,33	0,15
0,1	1	0,15	0,28	0,13
0,1	2	0,14	0,28	0,14
0,15	0,5	0,14	0,27	0,13
0,15	1	0,18	0,35	0,17
0,15	2	0,15	0,29	0,14
0,2	0,5	0,15	0,25	0,10
0,2	1	0,16	0,28	0,12
0,2	2	0,14	0,25	0,11
Ortam		Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Çapı
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	91,67 a	8,67a	0,15
0,1	1	100,00a	4,08c	0,15
0,1	2	100,00a	3,17cd	0,18
0,15	0,5	83,33ab	1,50d	0,16
0,15	1	66,67ab	1,58d	0,35
0,15	2	33,33c	6,42b	0,15
0,2	0,5	41,67c	0,75d	0,30
0,2	1	75,00ab	3,92c	0,18
0,2	2	83,33ab	1,88d	0,23
Ortam		Magenta Başına Kök Oluşumu (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Başına Kök Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	75,00ab	5,08a	1,45
0,1	1	83,33ab	3,42b	1,69
0,1	2	50,00c	0,92d	1,61
0,15	0,5	83,33ab	2,75bc	0,76
0,15	1	58,33c	3,33b	1,11
0,15	2	83,33ab	2,92bc	1,11
0,2	0,5	100,00a	6,08a	1,35
0,2	1	41,67c	1,92c	0,96
0,2	2	75,00ab	5,17a	0,89

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,05 düzeyinde önemlidir.

Soğan ilk çapları 0,14-0,18; son çapları ise 0,25-0,35 cm arasında değişim göstermiştir. Soğanların ilk ve son çapları arasında 0,10-0,17 cm arasında bir çap

artışı gözlenmiştir. Sekonder soğan oluşumu % 41,67-100 arasında değişirken, en fazla sekonder soğan 8,67 adetle 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamlarında elde edilmiştir (Resim 4.24.b-c). Bu soğanların çapları (0,15-0,35 cm) arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. 0,2 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında kök oluşumunun % 100 olduğu görülmüştür. Kök sayısı bakımından en iyi ortamlar 6,08-5,17 cm ile 0,2 mg/l TDZ- 0,5-2 mg/l NAA ve 5,08 cm ile 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından olmuştur.

Primer soğanların rejenerasyonunun sekiz hafta sonunda 1. alt kültür sonuçları:

Elde edilen primer soğanların (Bknz. Çizelge 4.76. 3. sütun) yanında gelişen sekonder soğanlar uzaklaştırılarak, yine aynı ortamlarda, sekiz hafta sonunda soğan çapında artış ve sekonder soğan oluşum kapasitesine ve köklenmesine bakılmıştır (Çizelge 4.77).

Çizelge 4.77. Sekiz hafta sonunda *M.adilii* primer soğanlarının 1. alt kültür sonuçlarına ait varyans analizi

V.K	S.D	Primer Soğan İlk Çapı (cm)		Primer Soğan Son Çapı (cm)		Primer Soğan Çap Farkı (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan rejenerasyonu 1. alt kültür	8	0,06	1,58	0,07	3,97**	0,05	2,54*
Hata	18	0,04		0,02		0,02	
Toplam	26						
V.K	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan rejenerasyonu 1. alt kültür	8	1099,54	3,17**	31,48	2,65*	0,04	7,06**
Hata	18	347,22		11,89		0,01	
Toplam	26						
V.K	S.D	Kök Oluşturan Eksplant Nispeti (%)		Eksplant Basına Kök Sayısı (adet)		Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Soğan rejenerasyonu 1. alt kültür	8	2002,32	4,81**	5,22	2,59*	2,28	1,35
Hata	18	416,67		2,02		1,70	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Varyans analizi sonuçlarına göre, primer soğan son çapları sekonder oluşum yüzdesi sekonder soğan çapı, kök oluşturan eksplant yüzdesi bakımından ortamlar arasında fark 0,01; primer soğan son çap farkı, sekonder soğan sayısı, eksplant başına kök sayısı bakımından ortamlar arasında fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Ortamlar arasındaki bu farklılıkların önem düzeyini belirlemek için Tukey's b analizi yapılmıştır.

Çizelge 4.78. Sekiz hafta sonunda *M.adilii* primer soğanlarının 1. alt kültür sonuçlarına ait Tukeys b analizi testi

Ortam		Primer Soğan İlk Çapı (cm)	Primer Soğan Son Çapı (cm)	Primer Soğan Çap Farkı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	0,33	0,39ab	0,06
0,1	1	0,28	0,41ab	0,13
0,1	2	0,28	0,34ab	0,06
0,15	0,5	0,27	0,32b	0,05
0,15	1	0,35	0,58ab	0,23
0,15	2	0,29	0,65ab	0,36
0,2	0,5	0,25	0,70a	0,45
0,2	1	0,28	0,69a	0,41
0,2	2	0,25	0,49ab	0,23
Ortam		Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğan Çapı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	91,67	7,08a	0,11b
0,1	1	75,00	1,75bc	0,17b
0,1	2	91,67	1,61bc	0,12b
0,15	0,5	58,33	0,00d	0,00b
0,15	1	41,67	0,00d	0,00b
0,15	2	75,00	3,12b	0,26b
0,2	0,5	50,00	0,75 c	0,30a
0,2	1	91,67	1,50bc	0,16b
0,2	2	58,33	1,25bc	0,22b
Ortam		Kök Oluşturan Eksplant Oluşumu (%)	Eksplant Basına Kök Sayısı (adet)	Eksplant Basına Kök Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	50,00abc	4,50a	1,13
0,1	1	33,33bc	0,33b	0,56
0,1	2	16,67 c	0,92ab	0,20
0,15	0,5	75,00ab	1,08ab	1,42
0,15	1	41,67bc	2,17ab	3,21
0,15	2	58,33abc	2,33ab	0,77
0,2	0,5	100,00a	2,38ab	1,17
0,2	1	83,33ab	3,17ab	0,57
0,2	2	58,33abc	3,33ab	1,28

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,01 ve 0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.78'de sekonder soğan sayısı, 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında 7,08 adet bulunmuştur (Resim 4.24. d-e). Primer soğanlarda en fazla çap artışı ise 0,45 cm ile 0,2 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilmiştir. Sekonder soğan çapı bakımından en iyi sonuçlar, 0,30 cm ile 0,2 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren besin ortamındaki soğanlardan elde edilmiştir. En büyük primer soğan ilk çapı, 0,35 cm ile 0,15 mg/l TDZ-1mg/l NAA içeren besin ortamıdır. Son çaplar bakımından en iyi sonuçlar ise, 0,70 ve 0,69 cm ile 0,2 mg/l TDZ- 0,5 ve 1 mg/l NAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir (Resim 4.24. f-g). % 100 ile 0,2 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Kök sayısı bakımından en iyi sonuçlar 4,5 cm ile 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilmiştir. Kök uzunluğu ise, 0,20-3,21 cm arasında değişmektedir.



Resim 4.24. *M. adilii*'nin TDZ-NAA içeren ortamında rejenerasyon köklenme ve adaptasyonu

(a) 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilen soğanlar (b) 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren MS primer soğan rejenerasyonu ve oluşan kökler (c-d) 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında primer soğanların 1. alt kültüründe oluşan sekonder soğanlar ve kökleri (f-g) 0,2 mg/l TDZ-0,5-1 mg/l NAA besin ortamlarından elde edilen soğanlar ve kökleri

TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında pul yapraklardan elde edilen soğanların MS içeren ortamda köklendirilmesi:

Elde edilen soğanlar (Bknz. Çizelge 4.77) rejenerasyon ortamında büyük oranda köklenmiştir. Soğanların elde edildiği TDZ-NAA ortamlarının kök oluşumuna

olumsuz yan etkisi olduğu ve bu nedenle kök gelişiminin kısa-kalın anormal olduğu düşünülmektedir. Yeterli kök gelişimi sağlanmayan kökler büyümeye düzenleyicisi içermeyen MS ortamına alınmıştır (Çizelge 4.79.).

Çizelge 4.79. TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında *M. adilii* pul yapraklarından elde edilen soğanların MS'de köklendirilmesine ait varyans analizi

V.K	S.D	Soğan İlk Çapı (cm)		Soğan Son Çapı (cm)		Soğan Çap Farkı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS'de Köklenme	8	0,03	10,14**	0,02	5,59**	0,06	0,79
Hata	18	0,003		0,00		0,07	
Toplam	26						
V.K	S.D	Sekonder Soğan Oluşumu (%)		Sekonder Soğan Sayısı (adet)		Sekonder Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS'de Köklenme	8	474,54	0,93	4,38	3,06*	0,005	1,93
Hata	18	509,26		1,43		0,003	
Toplam	26						
V.K	S.D	Köklenme (%)		Kök sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
MS'de Köklenme	8	1446,76	10,42**	1,74	20,49**	28,45	3,55*
Hata	18	138,89		0,09		8,02	
Toplam	26						

\*\* 0,01 düzeyinde önemli

\* 0,05 düzeyinde önemli

Köklendirmeye alınan soğanların sekiz hafta sonunda ilk çapı-son çapı ve çap farkına, yavru soğan oluşum yüzdesi-sayı ve çapına, köklenme yüzdesi-sayı ve uzunluğuna bakılmıştır. Soğan ilk ve son çapı, soğan başına köklenme yüzdesi ve kök sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 düzeyinde önemli çıkmıştır. Sekonder soğan sayısı ve soğan kök uzunlığında ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemlidir Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.80'de verilmiştir.

Çizelge 4.80. TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında *M. adilii* pul yapraklarından elde edilen soğanların MS'de köklendirilmesine ait varyans Tukey's b analizi testi

Soğanların Rejenere Oldukları Ortamlar		Soğan İlk Çapı (cm)	Soğan Son Çapı (cm)	Soğan Çap Farkı (cm)
TDZ	NAA			
0,1	0,5	0,24 ab	0,39 d	0,15
0,1	1	0,26 ab	0,52 c	0,26
0,1	2	0,19 ab	0,41 d	0,22
0,15	0,5	0,17 b	0,43 d	0,26
0,15	1	0,43 ab	0,63 b	0,20
0,15	2	0,50 ab	0,70 a	0,20
0,2	0,5	0,55 a	0,74 a	0,19
0,2	1	0,54 a	0,70 a	0,16
0,2	2	0,34 ab	0,60 b	0,26
Ortam		Sekonder Soğan Oluşumu (%)	Sekonder Soğan Sayısı (adet)	Sekonder Soğanların Çapı(cm)
TDZ	NAA			
0,1	0,5	75,00	1,83ab	0,15
0,1	1	66,67	4,12a	0,11
0,1	2	58,33	2,58ab	0,23
0,15	0,5	50,00	1,08ab	0,12
0,15	1	58,33	3,50ab	0,11
0,15	2	50,00	1,55ab	0,11
0,2	0,5	50,00	0,50b	0,17
0,2	1	83,33	3,25ab	0,14
0,2	2	75,00	1,58ab	0,14
Ortam		Köklenme (%)	Kök sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)
TDZ	NAA			
0,1	0,5	58,33b	0,92cd	1,58b
0,1	1	50,00b	1,62bc	8,39ab
0,1	2	33,33b	0,50d	6,30ab
0,15	0,5	58,33b	1,00cd	4,52ab
0,15	1	50,00b	0,85cd	7,44ab
0,15	2	58,33b	2,10b	10,91a
0,2	0,5	100,00a	2,90a	11,62a
0,2	1	91,60a	1,44bc	5,91ab
0,2	2	41,67b	0,85cd	6,93ab

0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren MS rejenerasyon ortamında rejenerasyon sonuçları iyi olmasına rağmen, MS'de köklenmenin %50 olduğu soğan başına 0,92 adet ve 1,58 cm uzunlığında bulunarak sonuçların bu ortam için yeteri kadar iyi

olmadığı görülmüştür (Resim 4.25.a-b). Soğan ilk çapları 0,2 mg/l TDZ-0,5-1 mg/l NAA içeren ortamlarda 0,55 ve 0,54 cm bulunmuştur. Son çaplar bakımından en iyi sonuçlar ise, 0,74-0,70 cm ile yine 0,15 mg/l TDZ-0,2 mg/l NAA ile 0,2 mg/l TDZ-0,5-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Sekonder soğan oluşum yüzdesi % 50-75 arasında olmuştur. Soğan çapı 4,12 adet soğan ile en iyi ortam 0,1 mg/l TDZ-1 mg/l NAA içeren MS ortamında gözlenmiştir. Sekonder soğan çapı 0,11-0,23 cm arasındadır. Köklenme nispeti bakımından en iyi köklenme 0,2 mg/l TDZ-0,5-1 mg/l NAA içeren ortamın MS'e aktarılması ile elde edilmiştir (%100-91,60). En fazla kök uzunluğu, 10,91 cm ile 0,15 mg/l TDZ-2 mg/l NAA ve 11,62 cm ile 0,2 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren besin ortamından MS'e alınan soğanlarda elde edilmiştir (Resim 4.25.c-d). Soğanların dış ortama adaptasyonları sağlanmıştır (Resim 4.25.e).



Resim 4.25. *M. adili*'nin TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında elde edilen soğanların MS içeren ortamda köklendirilmesi  
 (a-b) 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak MS'de köklendirilen soğanlar (c-d) 0,2 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren besin ortamından alınarak MS'de köklendirilen soğanlar (e) Soğanların dış ortama adaptasyonu

TDZ-NAA içeren besin ortamında ikili pul yapraklardan 1. alt kültür çalışması:

TDZ-NAA içeren besin ortamında sekiz hafta sonunda sayılarak, soğan rejenerasyonuna bakılan (Bknz. Çizelge 4.74) pul yaprakların üzerlerindeki soğancıklar kesilerek, geri kalan pul yaprakların rejenerasyon kapasitesine bakmak üzere pullar tekrar alt kültüre alınmıştır. Yapılan varyans analizi Çizelge 4.81'de verilmiştir.

Çizelge 4.81. TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan *M. adili* ikili pullarının 1. alt kültürüne ait varyans analizi

V.K	S.D	Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)		Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)		Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F
İkili Pulların 1. Alt Kültürü	8	370,37	1,00	206,87	5,98**	0,01	0,50
Hata	18	370,37		34,57		0,01	
Toplam	26						

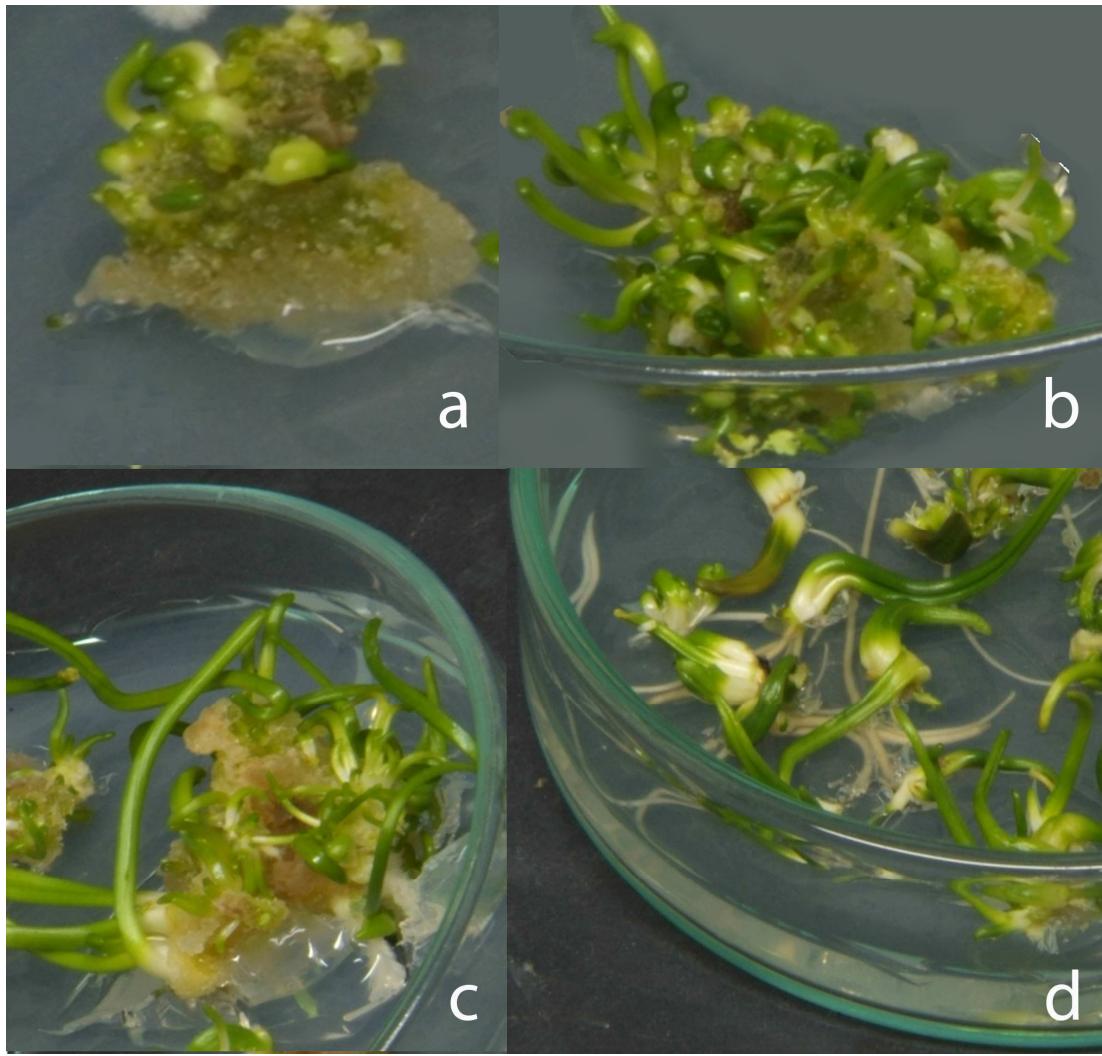
\*\* 0,01 düzeyinde önemli

İki hafta sonunda 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren ortamda soğan uçları gelişmeye başlamıştır (Resim 4.26.a). *M. adili* TDZ-NAA içeren MS besin ortamında altı hafta sonunda soğan oluşum nispeti, sayısı ve çapına bakılmıştır. Yapılan varyans analizinde eksplant başına soğan sayısı bakımından ortamlar arasındaki fark 0,01 bulunmuştur. Bu farklılıkların önem düzeylerini belirlemek amacıyla yapılan Tukey's b testi sonuçları Çizelge 4.82'de verilmiştir.

Çizelge 4.82. TDZ-NAA içeren besin ortamında oluşan *M. adilii* ikili pullarının 1. alt kültürüne ait Tukey's b analizi

Ortam		Eksplant Başına Soğan Oluşumu (%)	Eksplant Başına Soğan Sayısı (adet)	Eksplant Başına Soğan Çapı (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,1	0,5	100	20,33ab	0,12
0,1	1	100	8,33bc	0,12
0,1	2	100	26,92a	0,14
0,15	0,5	100	10,50c	0,13
0,15	1	100	8,42bc	0,11
0,15	2	100	6,58c	0,14
0,2	0,5	100	4,67c	0,15
0,2	1	100	3,17d	0,12
0,2	2	100	10,17c	0,11

Eksplant başına tüm ortamlarda soğan oluşumu % 100 olmuştur. Eksplant başına soğan sayısı bakımından en iyi sonuçlar 26,92 adet ile 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilmiştir (Resim 4.26.b). Eksplant başına soğan sayısı bakımından diğer bir iyi ortamda 20,33 adet soğancıkla 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren ortamdır (Resim 4.26.c). Soğan çapları ise, 0,11-0,15 cm arasında değişmektedir. Tüm soğanlar MS'de %100 köklenmiştir (Resim 4.26.d).



Resim 4.26. *M. adilii*'nin TDZ-NAA içeren besin ortamında ikili pul yaprakların 1. alt kültürü

(a) 2 hafta sonunda 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren ortamda gelişmeye başlayan soğan uçları (b) 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren MS ortamında sogancık oluşumu (c) 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında sogancık oluşumu (d) MS'de köklenme

*M. adilii* soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınması:

*M. adilii* soğanlarının ikili pullardan ilk rejenerasyon sonuçlarında 0,1 mg/l TDZ-0,5-1 ve 2 mg/l NAA içeren ortamlarda soğan sayılarının fazla ancak soğan çapının küçük olması nedeniyle çapı artırmak amaçlı TDZ ve NAA ortamlarından alınıp 30-60-90 g/l sukroza konulmuştur. Sekiz hafta sonunda yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.83'de verilmiştir.

Çizelge 4.83. *M.adilii* soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait varyans analizi

V.K	S.D	Soğan Son Çapı (cm)		Eksplant Başına Köklenme Nispeti (%)		Köklenme Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O	F	K.O	F	K.O	F	K.O	F
<i>M.adilii</i> Soğanlarının Farklı Ornlarda Sukroz İçeren Ortamlara Alınması	8	0,06	0,28	960,65	1,34	0,73	2,56	23,53	2,83*
Hata	18	0,04		717,59		0,29		8,30	
Toplam	26								

\* 0,05 düzeyinde önemli

Yapılan varyans analizinde kök sayısı, kök uzunluklarına köklenme yüzdesi ve soğan son çaplarına bakılmıştır. Soğan ilk çapları 0,1 cm'lik soğanlardan seçildiği için çizelgede yer verilmemiştir. Kök uzunluğu bakımından ortamlar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemli çıkmıştır. Diğer parametrelerde ise ortamlara arasında bir fark çıkmamıştır. Yapılan Tukeys b analizi Çizelge 4.84'de verilmiştir.

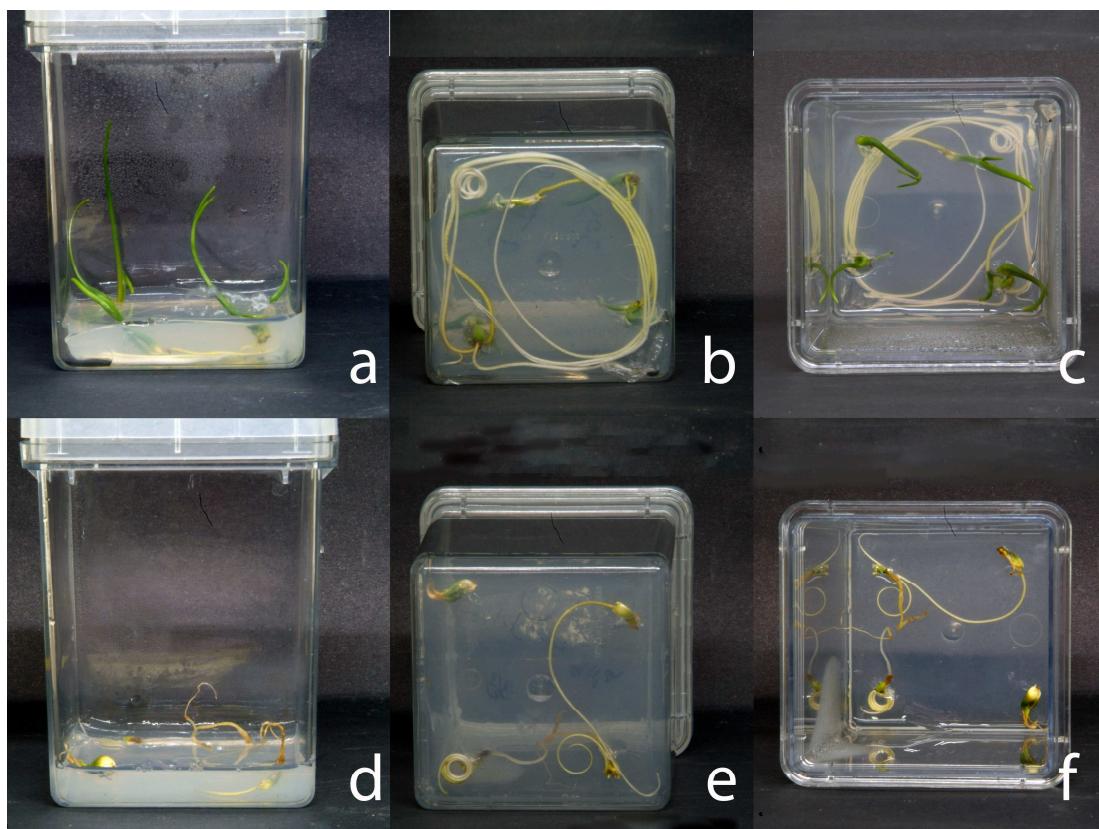
Çizelge 4.84. *M.adilii* soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınmasına ait tukeys b analizi

Soğanların Alındıkları Ortamlar		Sukroz Oranı (g/l)	Soğan Son Çap (cm)	Köklenme (%)	Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	NAA (mg/l)					
0,1	0,5	30	0,24	50,00	1,08	10,88a
0,1	0,5	60	0,21	75,00	1,00	4,42ab
0,1	0,5	90	0,16	58,33	0,85	2,21b
0,1	1	30	0,27	100,00	1,50	7,06ab
0,1	1	60	0,26	58,33	1,08	6,42ab
0,1	1	90	0,23	50,00	0,50	1,41b
0,1	2	30	0,23	83,33	2,00	6,61ab
0,1	2	60	0,31	100,00	1,83	5,41ab
0,1	2	90	0,21	66,67	0,83	4,73ab

Aynı sütündaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark Tukey's b testine göre 0,05 düzeyinde önemlidir.

Soğan çapları, 0,16-0,31 cm köklenme nispeti % 50-100 arasında, kök sayısı 0,5-2 adet arasında değişim göstermiştir. Kök uzunlukları bakımından en iyi sonuçlar ise,

10,88 cm ortalama kök uzunluğu ile 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak 30 g/l sukroz içeren MS ortamına aktarılan soğanlarda görülmüştür (Resim 4.27.a-b-c). Sukrozon 90 g/l çıkarılması, soğanların yaprak ayalarında sararmaya sebep olmuştur (Resim 4.27.d-e-f).



Resim 4.27. *M. adilii* soğanlarının farklı dozlarda sukroz içeren ortamlara alınması  
(a-b-c) 30 g/l sukroz içeren MS ortamına aktarılan soğanlar (d-e-f)  
sukrozon 90 g/l çıkarılması sonucu soğanların yaprak ayalarında sararma

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye, coğrafi konumu ve değişik iklim ve toprak özelliklerine sahip olmasının sonucu zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Avrupa- Sibirya, Akdeniz ve İran- Turan fitocoğrafik bölgelerin kesiştiği bir konumdadır. Yılın büyük bir kısmını toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi organları ile geçiren ve geofit adı verilen soğanlı-yumrulu bitkiler de bu bitki çeşitliliğinin önemli bir kısmını oluştururlar. Son derlemelere göre Türkiye'de 688 adet geofit bulunmaktadır [Özhatay, 2003] ve toplam floranın % 6'dan fazlasını teşkil etmektedir. Bu yüzden olsa gerek, bazı yabancı kaynaklarda Anadolu geofitlerin anavatanı olarak adlandırılmaktadır [Schacht 1955].

Türkiye florası geçmişten beri yabancıların ilgisini çekmiştir. Bu nedenle her yıl çok sayıda bilimsel, amatör veya ticari amaçlı pek çok kişi gelmekte; bunların çok az bir kısmı Türkiye florasına ve bilime katkıda bulunurken, bir kısmı da kendi özel meraklarını tatmin için veya ticari amaçlarla Türkiye'de bitki toplamakta ve bunları kendi ülkelerine götürmektedirler. Ancak, doğal koşullarda soğanlı bitkilerde tohumdan oluşan bitkinin çiçek açması ve tekrar tohum bağlaması 3-5 yıl kadar uzun bir zaman dilimi alması, geofitleri yok olma tehlikesi ile yüz yüze getirmektedir. Bu da Türkiye için önemli gen kaynağı olan geofitlerin üretimi ile ilgili yeni, kolay ve daha kısa sürede sonuç alınabilecek yöntemlerin arayışına yol açmaktadır. Bu tez kapsamında doku kültürü teknikleri ile ihracatı yasak olan ikisi endemik olmak üzere dört *Muscaria* türünün *in vitro* koşullarda hızlı çoğaltımları yapılmıştır.

*M. muscarimi* (BAP-NAA ortamında):

*M. muscari* büyümeye düzenleyicilerine konulduktan 2 hafta gibi kısa bir süre sonunda ikili pulları hızlı rejenerasyon kabiliyetleri ile soğan oluşumu başlamıştır. Kültüre alındıktan 10 hafta sonra, eksplant başına en iyi sonuçlar, ortalama 0,36 cm'lik çap ve 19 adet primer soğan ile 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS besin ortamında gözlenmiştir. Bu ortamdaki soğanlar 1. alt kültüre alınırken en büyük olan 12 adet

soğan seçilmiş ve bu primer soğanların ortalama çapı 0,92 cm'ye ulaşmıştır. Her primer soğan, ortalama 0,47 cm çapa sahip 8,08 adet sekonder soğan oluşturmuştur. Bu denemede tüm ortamlar karşılaştırıldığında en canlı ve yeşil yapraklara sahip soğanlar 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS besin ortamında görülmüştür. Primer soğanlar 1. alt kültüre alındıktan sonra da veriler, bir önceki sonuçları desteklemiştir ve en iyi ortamın 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS olduğu tespit edilmiştir. Sayı ve çap bakımından karşılaştırıldığında ise, primer soğan çapı yaklaşık aynı büyüklükte kalmış, primer soğan yanından çıkan yeni sekonder soğanlar ise ortalama 0,21 cm çap ile 7,82 adet olmuştur. Sekonder soğan sayısı bakımından ortalamalar bakımından 0,26 cm'lik bir düşüş meydana gelmiştir.

*M. muscari* soğan rejenerasyonu için kullanılan BAP-NAA kombinasyonlarında soğan oluşumu gözlenmiştir. Soğan oluşum yüzdesi ve sayısında ortamlar arasında fark çıkmıştır. Soğan rejenerasyonuna en uygun ortamın, 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren MS ortamı olduğu gözlenmiştir. Leonardi ve ark., [2001] *Grevillea x semperflorens* bitkisinde sitokinin çeşidi ve konsantrasyonunun sürgün rejenerasyonunu önemli bir şekilde etkilediğini tespit etmiştir. Ortamlara BAP eklenmesinin sürgün rejerasyonu artırdığını gözlemiştir. Aynı zamanda BAP konsantrasyonunun 5-10 mg/l'ye yükseltilmesinin sürgün rejenerasyonuna durdurucu etki yaptığını da gözlemlerdir. Chow ve ark., [1992] ise, *Narcissus* alt kültürlerinde NAA içeren ortamların soğan oluşumuna olumsuz etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Al-zahim ve ark., [1999] *Allium sativum* bitkisinin beş çeşidine kallus üzerinden elde ettikleri somatik embriyoları RAPD analizine tutulduklarında, White ve Kalifornia çeşidine %1; Chinese, Long Keeper ve Madena çeşidine % 35 oranında kallus oluşumuna bağlı olmak üzere somoklonal varyasyon tespit etmişlerdir. *M. muscari*'mi soğanlarının 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamlarda alt kültüre alınması sonucunda kallus oluşturmaması bu açıdan önemlidir. Çünkü, somoklonal varyasyona sebep olma ihtimali düşüktür.

10 hafta sonra elde edilen en büyük primer soğan çapları ortalama 0,44 cm ile 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS ortamında gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Mohammadi-Dehcheshmeh ve ark., [2008] *Fritilleria imperialis* bitkisinde 1 mg/l BAP-0,6 mg/l

NAA+0,4 mg/l IAA içeren ortamda yaptıkları çalışmada en iyi sonuçları almaları bakımından benzerlik göstermektedir. Her iki denemede de soğanlar 1/1 oksin-sitokinin muamelesine tabii tutulmuşlardır.

Primer soğanlar tekrar rejenerasyona alındığında en büyük soğanlar, ortalama 1,17 cm çap ile yine aynı ortamdan elde edilmiştir ve bu ortamda sekonder soğan oluşmamıştır. Mohammadi-Dehcheshmeh ve ark., [2007] *Fritilleria imperialis* bitkisinde yaptıkları alt kültür çalışmasında da, soğanların çapında belirgin artış gözlemiş ve primer soğanların yanında sekonder soğanlar da oluşmuş, ancak bazlarının dip kısmında kallus meydana gelmiştir. Soğanların 1. alt kültüre alınmasından sonra çapları 1,24 cm'e çıkmıştır. Soğan çapında belirgin artışın gözlenmesi sekonder soğan oluşumunu engellemiştir. 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda, sekonder soğan sayısı artarken, soğan çapı 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortama göre daha küçük olmuştur. Dolayısıyla, primer soğan çapı büyündüğünde ortamda oluşan sekonder soğan sayısı azalmaktadır.

Bu çalışmadaki soğanların köklendirilmesinde en büyük çapa sahip soğanlar seçilmiştir. Köklendirmede kullanılmak üzere ikili pullar 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyona alınmıştır. Soğanlar yeteri büyüklüğe ulaştıklarında  $\frac{1}{2}$  MS, MS içeren 0-1,25-0,50 mg/l IBA ve NAA içeren MS ortamlarında köklendirilmiştir. Sekiz hafta sonunda 1 mg/l IBA içeren MS ortamında, 6,68 adet ve 4,25 cm uzunluğunda kök elde edilmiştir. Benzer şekilde, Sevimay ve ark. (2005)'de *Lilium candidum* bitkisinden elde edilen soğanları NAA içeren ortamlarda, Nayak ve ark., [1997], *in vitro*'da elde ettikleri orkide (*Acampe praemorsa* Roxb.) sürgünlerini 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmiştir. Ault [1995] *Eucomis sp.* bitkisini NAA'de ve Wawrosch ve ark., [2001] *Lilium nepalense*'de  $\frac{1}{2}$  MS'de köklenme denemeleri yapmışlardır. Johnson ve Burchett (1991) *Blandfordia grandiflora* bitkisinden elde etikleri sürgünleri NAA, IBA ve IAA içeren ortamlarda köklendirmiştir.

Rejenerasyon ortamının köklendirmede yan etkisi olup olmadığını belirlemek ve yukarıda belirtilen köklendirme ortamı optimize edildikten sonra 10 farklı ortamda

elde edilen tüm soğanlar, 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında köklendirilmeye alınmıştır. Soğanların 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklenme sonuçları oldukça farklılık göstermiştir. En iyi köklenme, 5,25 adet ve 8 cm ortalama kök ile 1 mg/l BAP- 1mg/l NAA içeren MS ortamında olmuştur.

En iyi soğan rejenerasyonu sağlanan ortam olan 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda yine sekonder soğanlar oluşumu gözlenmiştir. Soğanların ortalama 4 adet ile 0,26 cm çapa sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar köklenmede, soğanların köklendirme ortamından çok, ilk konuldukları rejenerasyon ortamlarının etkisinde olduğunu kanıtlamaktadır. Neticede, sitokinin-oksin oranının yükselmesi rejenerasyonu artırırken, köklendirmeyi baskılamaktadır. McComb [1995] Okaliptüs bitkisini yüksek oranda bitki büyümeye düzenleyiciler içeren ortamlara alındığında sürgün rejenerasyonu artarken, köklenmenin baskılандığını tespit etmiştir. Kromer ve Kukulczanka [1992] *M. botryoides* bitkisinde yaptıkları çalışmayla oksin konsantrasyonlarında artışın, soğan çaplarına olumlu etki yaptığı tespit ederek benzer sonuçlara ulaşmışlardır.

Saksılara alınan *M. muscarimi* soğanları, sekiz hafta sonunda kök durumlarına bakılmak üzere, saksılardan çıkarılmıştır. *In vitro* 'da elde edilen sert ve kalın olan köklerin ölerek, yerlerine çatallı ince kökler olduğu görülmüştür. En büyük çaplı ve en fazla köklere sahip olan 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamda ise, dört adet ortalama 1,67 cm köklerin olduğu görülmüştür.

4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların yüksek sitokinin ve oksin nedeniyle köklenmesinin baskılanması ve köklenmenin olmaması nedeniyle yeni bir köklendirme denemesi kurulmuştur. Bu ortamdan alınan soğanlar, büyümeye düzenleyicisi içermeyen farklı sukroz konsantrasyonlarına alınmıştır. Kurulan deneme sonucunda 30 g/l sukroz içeren MS ortamında 0,29 cm'lik bir çap artışı gözlenerek eksplant başına düşen kök sayısı 1,60 adet olmuştur. Soğan başına kök uzunlukları ise 0,18 cm'den 3,57 cm'ye çıkmıştır. Öyleyse, soğanların alındıkları ortama bağlı olarak, köklendirme ortamı da farklı olmalıdır. Bu denemelerin tamamında rejenerasyon ortamı olarak en iyi ortamın 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA

İçeren MS ortamı olduğu düşünülürse köklendirme ortamı olarak IBA yerine MS kullanılması daha uygun olacaktır. Benzer şekilde, Casazza ve ark., [2002] *L. cordatum* bitkisinin bazal tabakasını kullanarak *in vitro* çoğaltımını yapmışlardır. Yüksek oranda oksin muamelesinin kök oluşumunda olumlu, soğan oluşumunda ise olumsuz etki yaptığı gözlemlerdir. Buna karşın; Lian ve ark., [2003b] *Lilium oriental* hibridlerinde, Wendy ve ark., [1991], nergis bitkisinde, Moran ve ark., [2003] *Cryanthus spiralis*'te yaptıkları çalışmalarda soğan çaplarının sukroz oranı ile bağlantılı olarak artış gösterdiğini bildirmiştir.

BAP-NAA içeren MS ortamında *in vitro*'da elde edilen soğanlar ikili pullar halinde kesilerek, elde edildikleri dokuz farklı BAP-NAA içeren MS besin ortamına rejenerasyona bırakılmıştır. Bu ikili pullar üzerinde en fazla adventif soğan 8,17 adet ile yine 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamda alınan ortamda elde edilmiştir. Bu ortamda çap büyüklüğü ise, 0,33 cm bulunmuştur. Soğan oluşum yüzdesi de ortalama % 83,33 bulunmuştur. Yapılan kaynak taramasında soğanlı bitkiler ile ilgili böyle bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Rejenerasyon için aynı ortamlara konulan, doğadan alınarak ikili pullar şeklinde kesilen soğanlar ile karşılaştırıldıklarında, soğan çapları aynımasına rağmen, soğan sayısında belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Bunun sebebinin eksplant kaynaklarındaki büyülüklük farkından ileri geldiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada da en büyük soğan çapları olarak % 66,67 nispet ve 0,44 cm ile 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında görülmüştür. Doğadan alınmış olan soğanların pullarının rejenerasyonu karşılaştırıldığında, aynı ortamlarda yine soğan çapı en büyük çıkmıştır.

Elde edilen soğanların 1 mg/l IBA'da köklendirmeye alınmasında 4 mg/l BAP- 2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar köklenmemiştir. 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar ise, 0,52 cm lik bir çap artışı meydana getirerek eksplant başına 1,41 adet 2,37 cm uzunluğunda kökler meydana getirmiştir. Sekiz hafta sonunda kökler saksılardan çıkarılarak bakıldığından 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların, ortalama 18,92 cm uzunluğunda dört adet kök

oluşturduğu gözlenmiştir. *In vitro*'da oluşan köklerin toprağa adaptasyon sağlanması kadar önemli olduğu daha sonra bu köklerin yerini yeni köklerin aldığı söylenebilir.

*In vitro*'da elde edilen *M. muscarimi* soğanlarının yaprak ayası dip kısmından 1 cm kesilerek soğan üretimi için BAP-NAA içeren ortamlara alınmışlardır. En iyi ortamın 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar olduğu görülmüştür. Bu ortamdaki tüm eksplantların canlılığını % 100 koruduğu % 93,33 soğan oluşumu gözlendiği ve 0,21 cm ortalama soğan çapı ile 4,5 adet soğan oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca, bu ortamda kallus oluşmamıştır. Benzer olarak Sevimay ve ark. [2005], Khawar ve ark. [2005] *Lilium candidum* bitkisinde yaprak ayalarını taban ve uç olarak iki eksplanta ayırarak yaptıkları çalışmada yaprak tabanında daha fazla sayıda soğan rejenerasyonu elde etmişlerdir.

Ortam bakımından yaprak ayasından elde edilen en iyi sonuçlar ile pul yapraklardan elde edilen sonuçlarda farklılık görülmüş olup, soğan rejenerasyonu yaprak ayası eksplantında daha düşüktür. Bunun sebebi kullanılan eksplant kaynağının farklılığıdır. Pul yapraklarda daha iyi sonuçlar alınmasının sebebi, pul yaprakların birleşme noktalarında meristemik bölgenin daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Benzer şekilde, Gootarts ve ark. [1981] *Nerine bowdenii* bitkisinde ikili pulların birbirine bağlantı noktalarında soğan oluşumunun diğer eksplantlara göre yüksek bulmuşlardır. Anatomik kesit örnekleri ile pulların birbirine bağlandığı noktalarında meristemik bölgenin fazla olduğunu doğrulamıştır.

4 mg/ BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlar 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirildiklerinde, 0,35 cm'lik çap artışı, 0,1 adet kök, 0,73 cm kök uzunluğuna sahip oldukları görülmüştür. Bu ortamda köklendirme sonuçları diğer köklendirmelere göre daha düşüktür. Genel olarak bitki doku kültürü çalışmalarında elde edilen bitkilerin köklenmesinde soğan çapındaki artış bakımadan köklenme sonuçları değerlendirilmiştir. Bu nedenle köklenme ortamında meydana gelen çap artışları ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Ancak; Ozel ve Khawar [2007]'de sitokinin-oksin içeren ortamlarının hem köklenmede, hem de soğan çapında olumlu etki yaptığını ifade etmişlerdir.

*In vitro* ortamda elde edilen 0,1 cm'lik *M. muscarimi* soğanlarının 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamında rejenerasyona alınmıştır. 10 hafta sonunda 2 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanların çapları 11 kat artırarak 0,1 cm'den 1,12 cm'ye ulamıştır. Soğanların % 25'i 1,12 adet ve 0,1 cm çapında sekonder soğan oluşturmuştur. Bu çalışmada elde edilen soğanlar 1 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmiştir. Ancak; 2 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlar rejenerasyon ortamından köklü oldukları için ayrıca 1 mg/l IBA ya alınmamıştır. Bu çalışma bize 0,1 cm'lik soğanların veya ortamlarda bol miktarda pek çok ortamda gözlenen soğan uçlarının uygun ortam bulunduğuunda çaplarının istenilen büyüklüklerde ulaşabileceğini göstermektedir. Farklı araştırmacılar değişik uygulamalar ile soğan çaplarında artış elde etmişlerdir. Benzer şekilde Marinangeli ve Curvetto [1997], *Lilium longiflorum* türlerinde ve hibritlerinde yaptıkları çalışmada TA (traumatic acid) uygulamasıyla soğan ağırlıklarını % 20'den % 60'a çıkarmıştır.

#### *M. muscarimi* (KIN-NAA ortamında):

*M. muscarimi* ikili pullarından BAP-NAA çalışmasında yapıldığı gibi iki haftalık rejenerasyon hızı tespit edilememiştir. Bunun sebebi KIN-NAA içeren MS ortamında iki hafta sonunda soğanlarda herhangi bir gelişmenin başlamamış olmasıdır.

KIN-NAA içeren MS besin ortamında 10 hafta sonunda *M. muscarimi* ikili pul yapraklarının rejenerasyon sonuçlarına bakılmıştır. 4,08 adet soğan ve 0,31 cm çap ile en iyi sonuçlar 1 mg/l KIN- 1 mg/l NAA içeren MS ortamından alınmıştır. Elde edilen primer soğan eksplantlarının rejenerasyonunda 0,76 cm ile en büyük çapa sahip soğanlar 4 mg/l KIN- 1 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Benzer şekilde Pierik ve Woets (1971) Sümbül (Hycinth) bitkisinin *in vitro* çalışmalarında yüksek oranda KIN içeren ortamda soğan rejenerasyonunu durdurucu etki yaptığını ifade etmişlerdir. Ancak; Ziv ve Liliens-Kipnis [2000]'de değişik soğanlı bitkilerin çiçek eksplantında KIN-NAA içeren ortamların rejenerasyona olumlu etki yaptığını ortaya koymuşlardır. Paek ve Murty [2002],

*Fritillaria thunbergii*'nin soğan pul yaprakları ile yaptıkları rejenerasyon çalışmasında en iyi sonucun 1,62 µM NAA ve 4,65 µM KIN içeren MS ortamından (%13,7) elde edildiğini bildirmiştirlerdir. Buna karşı Pierik ve Woets [1971] Sümbül (Hycinth)'ün *in vitro* soğan rejenerasyon çalışmalarına KIN içeren ortamların olumsuz etkisi olduğunu ifade etmişlerdir.

Bu ortamda sekonder soğan oluşumu % 58 ve ortalama çap, 0,28 cm'dir. Bu sonuçlar, BAP-NAA içeren MS ortamında ki rejenerasyon ile karşılaştırılırsa KIN-NAA de elde edilen sonuçların oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu ortamda KIN den kaynaklandığı düşünülen aşırı kallus oluşumu sonucu bitkilerde sararma görülmüştür. Bu yüzden bundan sonraki türlerde KIN-NAA denemesi yerine TDZ-NAA denemeleri kurulmuştur. Soğanların 1 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmesi sonucunda %100 köklenme ile 3,92 adet kök ve 4,74 cm ortalama uzunlukla en iyi sonuçlar 1 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. 4 mg/l KIN- 1 mg/l NAA içeren MS ortamında ise %58 köklenme soğan başına ortalama 0,75 adet kök ile 1,15 cm uzunluğunda kökler elde edilmiştir. Sonuçlara bakıldığına BAP-NAA çalışmasındaki gibi tüm denemelerde aynı sonuçlar elde edilememiştir. Bu nedenle çalışma burada sonlandırılarak yaprak ayası, *in vitro* pul yapraklarından rejenerasyon denemesi kurulmamıştır. Toprak adaptasyonu sonunda sayı bakımından 2,98 adet ile en çok kök 1 mg/l KIN- 2 mg/l NAA içeren MS ortamından alınarak uzunluk bakımından en iyi sonuçlar, 10,92 cm ile 2 mg/l KIN- 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından alınan soğanlardan elde edilmiştir.

#### *M. macrocarpum* (BAP-NAA ortamında):

*M. macrocarpum* soğanları steril edildikten sonra ikili pullar rejenerasyon için dokuz farklı BAP-NAA içeren MS ortamı ve büyümeye düzenleyicisi içermeyen MS ortamında kültüre alınmıştır. MS kontrol grubunda ikili pul yapraklar üzerinde 1,58 adet soğan oluşumu gözlenmiştir. Bu sonuçlar Saniewski ve Pytlewski [1979]'nin sonuçlarını doğrulamaktadır. Araştırmacılar, *M. comosum*'da bitki büyümeye düzenleyicileri olmaksızın MS ortamında soğan rejenerasyonu sağlamışlardır.

Sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan BAP-NAA içeren MS besin ortamında en iyi sonuçlar 0,54 cm ile 2 adet soğan 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Elde edilen primer soğanlar magentalara alındığında aynı ortamda soğan çapı 0,75 cm ye yükselmiştir. Bu ortamda eksplant başına 0,4 cm çapa sahip 0,5 adet sekonder soğan gözlenmiştir. Primer soğanlar kültüre alındıklarında 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda soğan çap artışı daha fazla olmuştur. Soğan çapları 0,45 cm'lik artısla 0,80 cm'ye yükselmiştir. Ancak bu ortamda primer soğan başına düşen sekonder soğan sayısı 0,33 adet ve 0,21 cm çapında kalmıştır. En fazla soğan oluşumu 1-2-4 mg/l BAP ile 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamlarında elde edilmiştir. Dolayısıyla 0,5 mg/l NAA değerinin soğan rejenerasyonu için uygun olduğunu söylemek mümkündür. Sonuçlar Saniewski ve Pytlewski [1979] *M. comosum*'da yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermemektedir. Araştırmacılar, ortamlarda NAA eklenmesinin soğan oluşuma olumlu etki yaptığını söyleken, BAP eklenmesinin soğan oluşumunda olumsuz etki yaptığını bildirmiştir. Buna karşı, Ghaffoor ve ark., [2004] *Tulipa gesneriana* bitkisinde yaptıkları çalışmada BAP-NAA'ın kallus oluşumu ve soğan rejenerasyonunda olumlu etkisi olduğunu bildirmiştir.

Çalışmada elde edilen soğanlar, MS ortamında köklendirilmiştir. Pul yapraklardan ve primer soğanlardan en iyi sonuç alınan 1 mg/l BAP-1 mg/l NAA ve 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamlardan alınan soğanlarda çap artışı çapta belirgin bir artış olmamıştır. Kök sayıları 0,75-0,42 adet; kök uzunlukları ise 3,14-1,73 cm olarak belirlenmiştir. Soğan başına kök sayısı bakımından en iyi sonuçlar 1,97 adet kök ve 3,14 cm uzunlukla 1 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda olmuştur. Ortamlarda 1-2-4 mg/l BAP ile 1 ve 2 mg/l NAA kombinasyonlarının soğan oluşumunda azalmaya sebebiyet verdiği görülmüştür. Bu sonuçlar Saniewski ve Puchaski [1987]'nin yaptığı çalışmaya benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar *M. comosum* ve *M. botryoides* bitkilerinde NAA'ın soğan oluşumunda olumsuz etkisini tespit etmişlerdir.

*M. macrocarpum* pullarından elde edilen soğanlar köklenme için MS'de köklendirildiklerinde köklenme sonuçlarında çıkan farklılığın soğanların rejenerasyon ortamlarının farklı olmasından kaynaklandığını söylemek mümkündür.

Yüksek sitokin ve oksin içeren ortamdan alınan soğanların köklenmesi olumsuz etkilemektedir. Bitkilerin ilk uyarıldıkları besin ortamı, bitkiler daha sonraki gelişimleri için son derece önemlidir. Sonuçlar Özel ve Khawar [2007]e *Ornithogalum oligophyllum* bitkisini MS ortamında köklendirerek yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Nayak ve Sen [1995]  $\frac{1}{2}$  MS içeren ortamda *Ornithogalum umbellatum* soğanları üzerinde köklenme çalışması ile büyümeye düzenleyicisi içermemesi nedeniyle benzerlik göstermiştir.

Köklendirilen soğanlar 8 hafta sonunda topraktan çıkarılarak incelendiğinde, en fazla 2,14 adet kök ile 2 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda görülmüştür. Bu ortamdaki kökler 5,94 cm uzunluğundadır. 4 mg/l BAP-1 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda ise kök uzunluğu 7,78 cm olarak bulunmuştur. Toprakta *in vitro*'da gelişen kökler çürümüş olup, yeni ince uzun ve çatallı kökler geliştirmiştir. Yeni çıkan köklerin bitkiyi toprak şartlarına alıştırmak için önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

#### *M. macrocarpum* (KIN- NAA ortamında):

*M. macrocarpum*'un KIN-NAA içeren ortamlarında yapılan çalışmalarında ikili pullar kullanılarak soğan rejenerasyonu sağlanmıştır. Buna karşılık, Arzate-Fernandez ve ark. [1997], Nayak ve ark. [1997], Nhut [1998], Selles ve ark. [1999], Sage ve ark. [2000], Wawroschn ve ark. [2001], Nhut ve ark. [2002], Paek ve Murthy [2002], Lian ve ark. [2003a-b], Sevimay ve ark. [2005], Khawar ve ark. [2005], Mirici ve ark. [2005], Parmaksız ve Khawar [2006], yaptıkları çalışmalarda olgunlaşmamış zygotik embriyolar olgunlaşmamış tohum, gövde ikili pul yapraklar, yapraklar, olgun tohumlar, anter filamentleri ve ince hücre tabakaları gibi farklı soğan eksplantlarını kullanarak soğan eldesinde başarılı sonuçlar elde etmiştir.

*M. macrocarpum* soğanları steril edilerek ikili pulları rejenerasyon için dokuz farklı KIN-NAA içeren ortam yanında kontrol olarak MS içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. İkili pulların sekiz hafta sonunda rejenerasyonunda 2 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında ortalama 0,31 cm çapa sahip altı adet soğan oluşmuştur.

Bu ortamda çapı en büyük soğanlar 0,41 cm ile 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilen soğanlarda görülmüştür. Bu ortamda elde edilen en büyük çapa sahip soğanlar primer soğan olarak seçilip, magentalarda kültüre alındığında bakıldığından, yine en büyük çap artışı, 0,32 cm ile 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Alt kültüre alınmış soğanlarda sekonder soğan oluşumu gözlenmemiştir.

MS'de köklendirme sonucu soğanların çaplarında da belirgin artışlar olmuştur. En fazla çap artışı yine 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda görülmüştür (0,67 cm). Bu ortamda ortalama 2,37 cm uzunluğunda, 1,33 adet kök oluşmuştur. Aynı ortamdan alınan soğanların topraktaki adaptasyonlarında 11,43 cm ve 1,76 adet kök ile en iyi ortam olarak bulunmuştur.

KIN-NAA çalışmasında en iyi sonuçlar 4 mg/l KIN-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda elde edilmiştir. KIN-NAA içeren ortama göre, BAP-NAA içeren besin ortamında rejenerere olan *M. macrocarpum* soğanlarının rejenerasyonu daha düşük olarak bulunmuştur ve farklı konsantrasyonlarda KIN-NAA içeren MS ortamının soğan oluşumunda etkili olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada MS ortamında ekspantlar üzerinde çok az sayıda ya da hiç yan soğan oluşumu gözlenmemiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, Saniweski ve Pytlewski [1979]'nın elde ettikleri sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar, *M. comosom*'ların soğan oluşumu için besin ortamında NAA'ın olumlu BAP'ın ise olumsuz etkisi olduğunu bildirilmiştir.

Ortamlarda KIN NAA bulunduğuanda bitki dokuları bu bitki düzenleyicilerini daha etkili kullanarak daha fazla soğan oluşumuna sebep olmaktadır. Varshney ve ark. [2000] hibrid zambakta KIN -NAA içeren ortamların soğan oluşumunda olumlu etki yaptığını göstermişlerdir. Sonuçlarımız incelendiğinde KIN-NAA değişik konsantrasyonlarının eksplantlar üzerinde soğan oluşumuna değişik etki yaptığı gözlenmektedir. Buna karşı Saniewski ve Puchalski [1987] *M. comosum* ve *M. botryoides* de ortamda NAA'ın bulunmasının soğan rejenerasyonunda olumsuz etki

yaptığını söylemişlerdir. Cuming ve Peck [1984], Peck ve Cuming [1986] *M. armeniacum*'da pul yapraklar ve çiçek sapından adventif soğan oluşumu için 1 g/l aktif kömürün olumlu etki yaptığıının göstermiştir. Bu çalışmada adventif soğan oluşumu gözlendiği için herhangi aşamada aktif kömür eklemeye gerek duyulmamıştır.

Çalışmada KIN-NAA içeren ortamlarda pul yapraklardan sekonder soğanlar BAP-NAA içerenler ile kıyaslandığında *M. macrocarpum*'da KIN-NAA soğan oluşumunun daha fazla olduğu görülmektedir. Bu da KIN-NAA içeren ortamın soğan oluşumunu daha teşvik edici olmasından kaynaklanmaktadır. McCartan ve Van Staden [1998] *Scilla natalensis* bitkisinin soğanlarından adventif soğan rejenerasyonu yapıldığında tek başına KIN veya TDZ'nin kullanılması ile olumlu sonuçlar elde ettikleri görülmüştür. Ancak; bu ortamlara IAA ya da NAA ilave ettiklerinde soğan oluşumun da olumsuz etkisi olduğunu da görmüşlerdir. Araştırmacılar, en iyi soğan oluşumu 1-2 mg/l KIN içeren ortamda gözlemeviştir.

Çalışmada kullanılan 10 ortamdan değişik çapta soğan elde edilmiştir. Elde edilen primer soğanlar alt kültüre alındığında soğan çapları üzerinde olumlu etki yaptığı gözlendi. Köklenen soğanlar, toprağa adaptasyonu ve kök gelişimi için aktarıldığında *in vitro*da elde edilen kökler şişkin ve yan kökler oluşturmamıştır. Bu kökler toprakta çürümüş ve yerine yeni ince uzun saçaklı kökler gelişmiştir.

Araştırma amaçlara uygun olarak *M. macrocarpum*'da doku kültürü ile başarılı mikroçoğaltım yöntemi geliştirilmiştir. Sonuçlar *M. macrocarpum*'un ticari üretimi için önemli bir protokoldür. İlk aşamadan son aşamaya kadar 30 haftada çalışma bitirilmiştir. Bu çalışmanın ışığında *M. macrocarpum*'da vejetasyon süresinin azaltılabilceği ve tohum bağlama sürecinin kısaltılabileceği düşünülmektedir.

*M. neglectum* (BAP-NAA ortamında):

*M. neglectum* BAP-NAA çalışmasında sekiz hafta sonunda ikili pul yapraklardan rejenerasyon yapıldığında ortamlar arasında soğan oluşumu bakımından bir fark

bulunamamıştır ancak; en fazla soğan sekiz adet ile 4 mg/l BAP -0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. En büyük soğan çapları 0,3 cm ile 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren MS ortamında sağlanmıştır. *M. muscarimi*'de de en yüksek soğan oluşumu yüksek sitokinin (4 mg/l BAP) içeren ortamdan elde edilirken, soğan çapının daha düşük sitokinin (2 mg/l BAP) içeren ortamda elde edilmesi *M. neglectum* ile benzerlik göstermektedir. Mohammadi-Dehcheshmeh ve ark. [2008] *Fritilleria imperialis* 'te Paek ve Murthy [2002] *Fritilleria thunbergii*'de ve Hussey [1982] *Narcissus bulocodium* bitkisinde yaptıkları çalışmalarda besin ortamına BAP-NAA ilavesinin olumlu etki yaptığını tespit etmişlerdir. Seabrook ve ark. [1976] 5 ve 10 mg/l BAP ile birlikte 1 mg/l NAA kullanıldığında *Narcissus* bitkisinde yaprak eksplantında yüksek oranda soğan oluşumu gözlemlenmiştir. *M. neglectum*'da da yüksek sitokininin ve düşük oksin kullanıldığında en fazla soğanın elde edildiği düşünülürse çalışmalar kısmen benzerlik göstermektedir.

BAP-NAA içeren ortamlarda *M. neglectum* ve *M. macrocarpum*'un ikili pul yapraklarından yapılan rejenerasyon çalışması karşılaştırıldığında; *M. macrocarpum* soğan çapları daha büyük (0,54 cm) olması ve ikili pul yaprak başına düşen soğan sayısının düşük olmasıyla (0,5adet) benzerlik göstermektedir.

Primer soğanlar rejenerasyonunda son çaplar 0,31-0,48 cm arasında değişim gösterip yanlarından çıkan sekonder soğan ortalama sayılarında istatistiksel olarak önemli bir fark çıkmamış olup soğanlar 1-3,64 arasında değişim göstermiştir.

*M. neglectum* ikili pulları ve primer soğan rejenerasyonu karşılaştırıldığında pul yapraklardan alınan sonuçların daha iyi olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Mohammadi-Dehcheshmeh ve ark. [2007] *Fritilleria imperialis* bitkisinde yaptıkları alt kültür çalışması ile benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar, alt kültür yaptıklarında soğanların çaplarında artış gözlemeşlerdir. Ancak; primer soğanların yanında sekonder soğanların oluşmadığını ifade etmişlerdir. Soğanlar *M. muscarimi* ve *M. macrocarpum*'dan farklı olarak 1 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortam dışında az da olsa rejenerasyon ortamların da köklenmiştir. Kökler kısa olduğu için kök gelişimini teşvik etmek amacıyla MS 'e alınmışlardır. Sonuçlar, Wawrosch ve ark.

(2001), Nepal zambağında (*Lilium nepalense* D.Don) yaptıkları  $\frac{1}{2}$  MS ortamında MS köklendirme çalışmaları ile benzerlik göstermektedir. Soğanların MS içeren ortamda çaplarında 0,04-0,36 cm arasında artışlar gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Squires ve Langton [1990] *Narcissus* soğanları bitki büyümeye düzenleyicisiz ortamlara aktararak soğan çaplarında artış sağlamaları ile paralellik göstermektedir. Çalışma sonunda en büyük çaplar 0,73 cm ile 1 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda görülmüştür. Bu ortamda kökler, 3,62 adet ve ortalama 3,97 cm uzunluğundadır. En fazla kök oluşumu, 7,83 adet kökle 2 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlarda oluşmuştur. Bu denemede en uzun kökler 14,20 cm ile 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınan soğanlardan elde edilmiştir. Ancak, soğan çapının en büyük olduğu ortamın, 1 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortam olduğu düşünülürse soğanların *in vitro* üretimi için uygun olan ortam olduğu da söylenebilir.

#### *M. neglectum* (TDZ-NAA ortamında):

*M. neglectum* ikili pulları düşük sitokinin içeren TDZ (0,1-0,15-0,2 mg/l) konsantrasyonlarının herbiri 0,5-1-2 mg/l NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyona alınmıştır. Soğanlı bitkilerde değişik TDZ oranlarının bitki rejenerasyonunda nasıl bir etki yaptığına dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Preece ve ark. [1987] *Hibiscus rosa-sinensis*'de TDZ ile yüksek oranda sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Khawar vd. [2004] ise mercimekte TDZ'nin yüksek oranlarının sürgün oluşumuna olumsuz etki yaparken düşük konsantrasyonların ise olumlu etki yaptığını göstermişlerdir. Mok ve Mok [1985] *Phaseolus lunatus* bitkisinde TDZ'nin etkisini radyoaktif C14-TDZ içeren ortamlarda rejenerasyon hızına bakarak araştırmışlardır. Radyoaktif C14-TDZ içeren ortamlarda 33 gün sonunda çok az miktarda TDZ'nin dokulara alındığını ve dolayısıyla çok düşük TDZ konsantrasyonların, rejenerasyon için yeterli olduğunu bildirmiştirlerdir.

*M. neglectum* ikili pullarından rejenerasyon yapıldığında ilk sonuçlarda ortamlar arasında herhangi bir fark çıkmamıştır. Soğan oluşumu eksplant başına 1-8 arasında

değişip soğan çapları 0,10-0,18 cm arasındadır. TDZ-NAA çalışmasında soğan çaplarının, BAP-NAA ortamına göre daha küçük olduğu soğan sayılarının ise hemen hemen aynı oranda olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın, Vinocur (1998) aspen bitkisinde BAP ve TDZ içeren ortamları kıyasladığında, sürgün rejenerasyonunun TDZ'li ortamlarda 10 kat fazla olduğu sonucuna ulaşmıştır.

Elde edilen ilk sonuçlardan en büyük çapa sahip olan soğanlar primer soğan olarak seçilip rejenerasyonları yapıldığında, en iyi soğan çapı 0,47 ve 0,48 cm ile 0,15 mg/l TDZ-0,5-2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Bu ortamlarda sekonder soğan sayısı 1,5-2,21 adette kalmıştır. 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA eksplant başına soğan sayısı 6,11 adetle en iyi ortam olarak bulunmuştur. Bu ortamdaki primer soğan çapı ise, 0,25 cm bulunmuştur. Kariuki ve Kako [1998] da benzer şekilde *Ornithogalum saundersiae*'de çapı büyük soğanlardan fazla sayıda sekonder soğan elde etmişler, çapı küçüklerden ise, daha az sayıda soğan elde etmişlerdir. Elde edilen bu sonuçların aksine, Santos ve ark. [1998] sitokinin ve oksin oranlamasının *Narcissus bulocodium* soğanlı bitkisinde etkili olmadığını bildirmiştirlerdir.

Rejenerasyon ortamlarında 1,53-5,25 adet kök oluşmuştur ve saksılara aktarılmıştır. *M. neglectum*'un diğer iki türden farklı olarak rejenerasyon ortamında köklendiği görülmüştür.

0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA ve 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren MS ortamında sekonder yaprak ayaları üzerinden kallus oluştuğu ve bu kalluslar üzerinde köklü ve köksüz soğanların olduğu gözlenmiştir. Wang ve Cronk [2003]'de *Titanotrichum oldhamii* (*Gesneriaceae*) soğanlı bitkisinde doğal koşullarda haziran-eylül aylarında yaprak ayasının üzerinde 1,5-2,5 mm uzunluğunda çok sayıda köklü soğan oluşumu gözlemiştirlerdir.

BAP-NAA ile TDZ-NAA ortamları karşılaştırıldığında her iki ortamda da ilk sonuçlar bakımından eşit sayıda soğan oluşmuştur. Primer soğanlardan rejenerasyon yapıldığında TDZ-NAA içeren ortamlarda daha fazla sekonder soğan meydana

gelmiştir. *M. neglectum*'un *in vitro* üretimi için TDZ-NAA kullanılması daha uygundur.

Kök oluşumunda TDZ-NAA ortamlarda kök sayısı BAP-NAA göre daha fazladır. Buna karşın; Huetteman ve Preece [1993] TDZ içeren ortamlardan rejenerere edilen ağaçlı bitkilerin köklenmesine TDZ'nin olumsuz etkisi olduğu sonucuna varmışlardır. Fasolo ve ark. [1989] elmada ve Yusnita ve ark. [1990] *Cercis canadensis*'de rejenerasyon ortamlarının yan etkisinde kaldığını tespit etmişlerdir. Bu tez kapsamında *M. adilii*'de TDZ'nin köklenmeye olumlu etkisi olurken, diğer araştırmacılar yaptıkları çalışmalarında TDZ'nin olumsuz etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Bu durum, yapılan bitkilerin farklı türlere ait olmasından kaynaklanabilir.

İkili pulların rejenerasyonu sonunda elde edilen soğanlar pullar üzerinden kesildikten sonra bu pullar tekrar rejenerasyona alındığında pullar üzerinde tekrar soğan oluşmaktadır ancak, soğan oluşum yüzdesi ve sayılarında bir düşüş gözlenmektedir. İkili pullardan rejenerasyon yapıldığında sekiz hafta sonunda 1-8 adet soğan oluşurken, en büyük soğanlar seçilerek primer soğan rejenerasyonuna alındığında soğan sayısı 1,25-6,11 adete düşmüştür. İlk rejenerasyon sonuçlarında istatistiksel bir fark gözlenmemesine rağmen 1. alt kültürde ortamlar arasında fark çıkmıştır. 1. Alt kültür sonucunda en iyi sonuçların elde edildiği ortamlar; 6,11 adet soğan ile 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren MS ortamıdır. Bu sonuçlar, Santos ve ark. [1998] *Narcissus bulocodium* soğanlı bitkisinde sitokinin ve oksin oranlamasının etkili olmadığı tespitleri ile örtüşmemektedir. Soğan çapları ilk ikili pullardan ilk elde edilen sonuçlara göre daha küçük olup ortalama 0-0,22 cm'dir. Soğanlar MS'de köklendirilmeye alınmıştır ve % 100 köklenme sağlanmıştır. Buradan soğan çapının küçük olmasının köklenmeye olumsuz etki yapmadığı sonucuna da varılmıştır.

#### *M. adilii* (BAP-NAA ortamında):

Sekiz hafta sonunda ikili pullardan BAP-NAA içeren ortamlarda rejenerasyonunda en fazla soğan oluşumu 15,75 adet ile 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan

elde edilmiştir. Mirici ve ark., [2005], *Sternbergia fischeriana*'da 4 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA içeren besin ortamında eksplant başına ortalama 80 adet soğancık üretimi sağlayarak yüksek sitokinin ve düşük sitokinin içeren ortamda benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Soğan çaplarında ortalamalar arasında istatistiksel olarak bir fark çıkmamıştır ve soğan çapları, 0,1-0,25 cm arasında değişiklik göstermiştir.

BAP-NAA içeren ortamlarda çalışılan diğer *Muscati* türlerinin en iyi ortamlarında soğan sayı ve çaplarının karşılaştırılması yapıldığında, *M. muscarimi*'de 19 adet ve 0,34 cm ortalama çapında, *M. macrocarpum*'da 2 adet-0,54 cm, *M. neglectum*'da 8 adet ve 0,3 cm olduğu düşünüldüğünde, *M. muscarimi*'nin ikili pul başına düşen soğancık üretiminde en iyi tür olduğunu söylemek mümkündür. Benzer şekilde; Marinangeli ve Curvetto [1997], *Lilium longiflorum* türlerinde ve hibritlerinde çalışmışlardır. Genotip farklılığının soğanların ürettiği biomas ve sayısında geniş bir farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Ancak, ikili pullardan elde edilen soğan çapları bakımından en iyi sonuçların elde edildiği tür, *M. macrocarpum*'dur. En fazla soğan oluşumunun elde edildikleri ortamlar bakımından 4 türde de elde edilen sonuçlarda farklılık görülmektedir. Bu da her türün genotipik farklılıklarından ve doğadan alınıp pul yaprak olarak kullanılan eksplantların büyülüklüklerinin farklı olmasından ileri gelebilir. Buna karşın; Bonnier ve Van Tuyl (1997), *Lilium longiflorum* (zambak)'ta yaptıkları çalışmada 10 zambak genotipinin *in vitro*'da filizlenme ve soğan büyümesi açısından 10 zambak çeşidine de en iyi sonuç  $\frac{1}{4}$  MS ve % 9 sukroz içeren ortamdan elde edildiği bildirilmiştir.

Bu çalışma ile elde edilen primer soğanlar birbirlerinden ayrılarak yine aynı ortamlara alındığında sekiz hafta sonunda 1 mg/l BAP- 1 mg/l NAA içeren ortamlarda soğan çapı 0,58 cm'ye ulaşmıştır. En fazla sekonder soğan ise 4,25 adet ile 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Bu soğanların soğan çapı ortalama 0,12 cm'dir. *M. adili* BAP-NAA içeren ortamlarda soğan sayısı ve çapı bakımından diğer türlerdeki sonuçları desteklemektedir. Soğan sayısını artırmak için yüksek sitokinin (4 mg/l BAP) olumlu sonuç verirken, çap artışı için,

düşük sitokinin (2mg/l BAP) yeterli olmaktadır ve çalışma sonunda bütün soğanlar köklenmiştir.

Sekonder soğan oluşum sayısında ise ilk sonuçlara göre belirgin bir düşüş gözlenmiştir ve çalışma sonunda bütün soğanlar köklenmiştir.

İkili pullar üzerindeki soğanlar alınarak pullar tekrar rejenerasyona konulduğunda ve 2 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda 0,15 cm çapında iki pul başına ortalama 3,25 adet soğan oluşmuştur. 1. alt kültür sonuçları bakımından yaklaşık eşit sayıda soğan oluşmuştur. *M. muscari* ikili pullarından alt kültür çalışması yapıldığında yine aynı ortamlarda ortalama çapın 0,33 cm ile yaklaşık olarak aynı kaldığı ve pullar üzerinden çıkan soğancık sayısının 8,14 adet olduğu tespit edilmiştir. Bu denemede de eksplant başına düşen soğan sayısı bakımından bir düşüş gözlenmektedir. *M. neglectum*'da ilk sonuç ve 1. alt kültür sonuçlarında en iyi sonuçların alındığı ortamların farklı, *M. muscarimi*'de ise aynı olduğu gözlenmiştir. Genel olarak soğan pulları ikinci kez rejenerasyona alındığında oluşturdukları soğanların çaplarında fazla bir artış olmayıp, soğan sayılarının azaldığını söylemek mümkündür.

*M. adilii* (TDZ-NAA ortamında):

Sekiz hafta sonunda ikili pullardan en fazla soğan oluşumu, 17,58 adet soğan adet soğan ile 0,1 mg/l TDZ- 0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir.

Soğan çaplarında ise ortalamalar arasında bir fark çıkmayıp, 0,14-0,18 cm arasında değişmiştir. TDZ-NAA içeren ortamlarda soğan çapları yaklaşık olarak eşit çaplara sahip olması bakımından *M. adilii* BAP-NAA çalışması ile benzerlik göstermektedir.

TDZ-NAA içeren ortamlar da primer soğan çapları 0,25-0,35 cm arasında değişip sekonder soğan başına oluşan en iyi sonuçlar 0,15 cm çapında 8,67 adet soğan ile 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. BAP-NAA ortamlarda ise soğan çapının soğan çapı 0,58-0,53 cm soğan sayısının ise 4,25 adet olduğu düşünülürse, *M. adilii* için soğan çapları bakımından BAP-NAA içeren ortamların

TDZ-NAA içeren MS ortamının daha iyi olduğunu söylemek mümkündür. TDZ içeren ortamda sayı olarak fazla olmasına rağmen soğanlar anormal kökler ve kallus oluşturmuştur.

TDZ-NAA çalışmasında primer soğanlar bir kez daha alt kültüre alınarak bakıldığından soğan çapları en iyi olan ortamlar 0,70-0,69 cm ile 0,2 mg/l TDZ-0,5 ve 1 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir. Soğan sayısı 7,08 adet ile 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir.

Soğanların, TDZ-NAA içeren ortamlarda sayılarının fazla ancak çaplarının küçük olması nedeniyle çapı artırabilecegi düşüncesiyle bir kez daha alt kültüre alınmıştır. TDZ-NAA içeren ortamda ise iki kez alt kültür yapılmasına rağmen hem soğan çaplarında hem de soğan sayılarında BAP-NAA içeren ortamlardan daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Buna karşın, Vinocur ve ark., [1998] aspen bitkisinde BAP ve TDZ içeren ortamları kıyasladığında, TDZ'li ortamlarda 10 kat fazla sürgün elde etmiştir. Çalışma sonuçları bu açıdan benzerlik göstermektedir.

TDZ-NAA içeren rejenerasyon ortamlarında köklenme oranı BAP-NAA içeren ortama göre çok daha düşük olduğundan Hannweg ve ark., [1996] *Bowiea volubilis* (*Liliaceae*) soğanlarını rejenerere ettikten sonra yaptıkları gibi bitki büyümeye düzenleyicisi içermeyen ortamlara alınarak köklenmesi sağlanmıştır. MS ortamına alınan soğanlar içinde en büyük çaplar, 0,15 mg/l TDZ-2 mg/l NAA ve 0,2 mg/l TDZ-0,5-1 mg/l NAA içeren ortamda olmuştur. En fazla köklenme % 100 ile 11,62 cm ortalama uzunluk ve 2,9 adet kök ile 0,2 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir.

Yapılan TDZ-NAA çalışmasında genel olarak tüm denemelerde en fazla soğan sayısı 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiş olması da TDZ nin düşük konsantrasyonlarda etkili olduğunu göstermektedir. Khawar ve ark. [2004] da mercimekte TDZ'nin yüksek konsantarasyonlarında sürgün oluşumuna olumsuz etki yaptığı, düşük konsantrasyonlarda ise, sürgün olduğunu teşvik ettiğini bildirmiştir. Ayrıca, Mok ve Mok (1985) *Phaseolus lunatus* bitkisinde yaptıkları

moleküller çalışmada 33 gün sonunda çok az miktarda TDZ'nin dokulara alındığını ve dolayısıyla çok düşük TDZ konsantrasyonlarının, rejenerasyon için yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalar bu yönyle benzerlik göstermektedir.

*M. neglectum* TDZ ile yapılan çalışması ile kıyaslandığında pullar üzerinde tekrar soğan oluşturmaktadır. *M. neglectum* ikili pulların rejenerasyonu sonunda elde edilen soğanlar pullar üzerinden kesildikten sonra bu pullar tekrar rejenerasyona alındığında pullar üzerinde yeniden soğan oluşumu gözlenmektedir. İkili pullardan rejenerasyonu yapıldığında, 1,25-14,17 adet soğan oluşurken; birinci alt kültür sonucunda bu sayı 0,00-3,25 adete düşmüştür. Bu iki tür kıyaslandığında ikili pulların birinci alt kültüre alınması, *M. adilii*'nin rejenerasyon kapasitesinin daha iyi olduğunu göstermektedir.

*M. adilii* soğanlarının ikili pullardan ilk rejenerasyon sonuçlarında 0,1 mg/l TDZ-0,5-1 ve 2 mg/l NAA içeren ortamlarda soğan sayılarının fazla ancak soğan çapının küçük olması nedeniyle çapı artırmak amaçlı TDZ ve NAA ortamlarından alınıp 30-60-90 g/l sukroza konulmuştur. Denemeye başlarken 0,1 cm'lik soğancıklar seçilerek ve son çaplara bakılmıştır. Burada kök uzunlukları dışında istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir. Soğan çapları, 0,16-0,31 cm köklenme %50-100 ve kök sayısı 0,5-2 adet arasında değişim göstermiştir. Kök uzunlukları bakımından en iyi sonuçlar, 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamdan alınarak 30 g/l sukroz içeren MS ortamına aktarılan soğanlarda görülmüştür. Bu sonuçlar, Moran ve ark. (2003) *Cryanthus spiralis* soğan çaplarının sukroz oranına bağlı olarak artış göstermesi ile ilgili elde ettiği bulgularla ters düşmektedir.

*M. muscarimi* 4 mg/l BAP-2 mg/l NAA içeren ortamda bir adet ikili pul yapraktan 19 adet soğan elde edilmiştir. Her soğandan çapa bağlı olmak üzere değişmekle birlikte 12 adet ikili pul eksplant çıkarıldığı düşünülürse, doğadan alınarak steril edilen 1 soğandan  $19 \times 12 = 228$  adet soğan elde edilebilir. Elde edilen soğanların rejenerasyonu yapıldığında da her bir soğandan 8 adet soğan oluşmaktadır ve toplamda 18 hafta sonunda  $8 \times 228 = 1\,204$  adet soğan elde etmek mümkündür.

*M. macrocarpum*'da 2 mg/l KIN-0,5 mg/l NAA içeren ortamda ikili pullardan 6 adet soğan oluşumu gözlenmiştir. Her soğandan çapa bağlı olmak üzere değişmekle birlikte 12 adet ikili pul eksplant çıkarıldığı düşünülürse, doğadan alınarak steril edilen 1 soğandan toplamda 10 hafta sonunda  $6 \times 12 = 72$  adet soğan oluşmaktadır. Bu ortamın alt kültüründe ise sekonder soğan oluşumu gözlenmemiştir.

*M. neglectum*'da % 100 soğan oluşumu ile 0,1 mg/l TDZ-2 mg/l NAA içeren ortamda ikili pullardan 8,25 adet soğan oluşumu gözlenmiştir. Her soğandan çapa bağlı olmak üzere değişmekle birlikte 12 adet ikili pul eksplant çıkarıldığı düşünülürse, doğadan alınarak steril edilen 1 soğandan  $8,25 \times 12 = 99$  adet soğan elde edilebilir. Elde edilen soğanların rejenerasyonu yapıldığında da her bir soğandan ortalama 6 adet sekonder soğan oluşumu gözlenmiştir ve toplamda 18 hafta sonunda  $6 \times 99 = 594$  adet soğan elde edilebilir.

*M. adilii*'de % 100 soğan oluşumu ile 0,1 mg/l TDZ-0,5 mg/l NAA içeren ortamda ikili pullardan 17,58 adet soğan oluşumu gözlenmiştir. Bu soğanların rejenerasyonu yapıldığında, 8,67 adet sekonder soğan elde edilmiştir. Teorik olarak, TDZ-NAA içeren bu ortamda BAP-NAA içeren ortama göre daha fazla soğan oluşumu vardır. Ancak, soğanların TDZ'li ortamda anormal kökler ve kallus oluşturmaları herhangi bir somaklonal varyasyona sebep olabileceğiinden üretim amaçlı BAP-NAA içeren ortamların tercih edilmesi daha uygun olacaktır. 4 mg/l BAP-0,5 mg/l NAA içeren ortamda bir adet ikili pul yapraktan 15,75 adet soğan elde edilmiştir. Her soğandan çapa bağlı olmak üzere değişmekle birlikte 12 adet ikili pul eksplant çıkarıldığı düşünülürse, doğadan alınarak steril edilen 1 soğandan  $15,75 \times 12 = 189$  adet soğan elde edilebilir. Elde edilen soğanların rejenerasyonu yapıldığında da her bir soğandan 4,25 adet soğan oluşmaktadır ve toplamda 18 hafta sonunda  $4,25 \times 189 = 803$  adet soğan elde etmek mümkündür.

Bu soğanların türlere göre değişmekle birlikte, 8-10 haftada köklendiği ve 2-3 haftada da adaptasyonlarının sağlandığı düşünüldüğünde yaklaşık 30 hafta sonunda toprak adaptasyonu sağlanmış çok sayıda bitki elde etmek mümkündür.

Bu çalışmanın amacı nadide çiçekleri olan soğanlı bitkileri, doğaya zarar vermeden *in vitro* üretimi ve bu sayede hızlı üretimini sağlamak ihracatını teşvik etmek, bu bitkilerin çevre ve peyzaj düzenlemelerinde kullanılmasını teşvik etmek, önemli bitki alanlarının korunması hususunda ilgili kurumları haberdar etmek şeklinde özetlenebilir.

Soğanlı süs bitkileri açısından zengin bir çeşitliliğe sahip olan Türkiye'de bu türlerin, gelecek kuşakların da yararlanabileceği ölçüde varlıklarının korunabilmesi ve nesillerinin sürekliliğinin sağlanabilmesi için kendi ekolojilerinde veya benzer ekolojilerde üretimlerinin hedef olarak benimsenmesi fikri, geleceklerine daha umutla bakmamızı sağlayacaktır.

Bu tip geofitlerimizden elde edilen gelirin milli ekonomiye olan katkısı, ancak doğanın ve biyolojik zenginliklerimizin geleceğinin planlanması ile arttırılabilir. Bu da daha yeni bir yaklaşım olan 'Ekolojik Planlama' ile mümkündür.

Ancak, daha güzel sonuçlar için, gelinmiş olunan bu noktalara rağmen Türkiye'de doğal çiçek soğanlarının üretiminin projelendirilmesi ve uygulamaya aktarılmasına yönelik çalışmalar her türlü destegin sağlanması gerektiği sürekli göz önünde tutulmalıdır. Yapılan bu çalışma ile 4 türde de *in vitro* soğancık üretiminde başarı sağlanmıştır. Çalışma sonucunda *in vitro* ortamda soğancık üretimi, doğada üretilenden çok daha hızlı ve kısa sürede olduğu görülmüştür. Dolayısıyla *Muscari* türlerinin *in vitro* yollarla kültüre alınma çalışmaları ile hem milli ekonomiye katkı sağlanacağı hem de bu türlerin kaybolmasının önüne geçilmesinde bir adım olacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Al-Zahim, M.A., Ford-Lloyd, B.V. Newbury, H. J. "Detection of somaclonal variation in garlic (*Allium sativum* L.) using RAPD and cytological analysis", ***Plant Cell Rep.***, 18: 473-477 (1999).
- Ammirato, P.V., "Embryogenesis. Handbook of Plant Cell Culture", (eds.) Evans, D.A., Sharp, W. R., Ammirato, P.V. and Yamada, Y. Vol.1, ***Macmillan Publishers***, New York, 82-123 (1983).
- Amo-Marco, J.B., Ibanez, M.R., "Micropropagation of *Limonium cavanillesii* Erben, a threatened statice, from inflorescence stems", ***Plant Growth Regul.***, 24 (1): 49-54 (1998).
- Arslan, N., Gürbüz, B., Gümüşcü, A., Sarıhan, E.O., İpek, A., Özcan, S., Mirici, S., Parmaksız, İ. "Sternbergia fischeriana (Herbert) Rupr. türünün kültüre alınması üzerinde araştırmalar", ***II. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi***, Antalya, 11-14 (2002).
- Arzate – Fernandez, A. M., Nakazaki, T., Okumoto, Y., Tanisaka, T., "Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anthers in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.)", ***Plant Cell Rep.***, 16: 836-840 (1997).
- Ault, J.R., "In vitro propagation of *Eucomis autumnalis*, *E. comosa*, and *E. zambesiaca* by twin-scaling", ***Hort. Sci.***, 30: 1441-1442 (1995).
- Ayabe, M., Sumi, S. "Establishment of a novel tissue culture method, stem-disc culture, and its practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.)", ***Plant Cell Rep.***, 17(10): 773-779 (1998).
- Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. Bitki Biyoteknolojisi –1- Doku Kültürü ve Uygulamaları. ***Selçuk Üniv. Vakfı Yayınları***. 1-374 (2001).
- Bailey, L.H., "The Standard cyclopedia of horticulture second edition", ***The MacMillan Company***, New York, 2080-2081 (1950).
- Baytop, T., "Türkçe bitki adları sözlüğü" ***Atatürk Kültür Dil ve Tarih Kurumu Yayınları***, Ankara, 211-212 (1997).
- Bhagyalakshmi, N., "Factors influencing direct shoot regeneration from ovary explants of saffron", ***Plant Cell, Tiss. Org. Cult.***, 58: 205-211 (1999).
- Biondi, S., Thorpe, T.A., "Clonal Propagation of forest tree species. In: Rao AN (Ed.) *Proceedings COSTED Symposium on tissue culture of economically important plants*", ***Forest Res. Inst. Malaysia pp.*** 197-204 (1982).

Bonnier, F.J.M., Van Tuyl, J.M., "Long term *in vitro* storage of lily: effect of temperature and concentration of nutrients and sucrose", ***Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*** **49**: 81–87 (1997).

Casazza, G., Savona, M., Carli, S., Minuto, L. Profumo, P., "Micropropagation of *Limonium cordatum* (L.) Mill. for conservation purposes", ***J. Hort. Sci. Biotech.***, **77** (5): 541-545 (2002).

Chittenden, F.J., "Dictionary of gardening". ***Clarendon Press***, Oxford, 3: 1329-1331 (1956).

Chow, Y.N., Selby, C., Harvey, B.M.R., "A simple method for maintaining high multiplication of *Narcissus* shoot cultures in vitro", ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture***, **30**: 227-230 (1992).

Cowley J., Özhata N., Mathew, B. "New species of Alliaceae and Hyacinthaecae from Turkey. ***Kew Bull.***," **49**:481-489 (1994).

Cuming, B.G. Peck, D.E., "Tissue culture of grape hyacinth", ***HortScience.***, **19**: 723-724 (1984).

Çakırlar, H., Tipirdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş., Türkiye'de Ticari Değeri Olan *Galanthus* (*G. Elwesii* Hooker Fil. Ve *G. İkariae* Baker.) Türlerinin Doku Kültürü Yoluyla Üretimi. TÜBİTAK projesi. Proje no: TBGAG-19/A, Ankara 1-65 (1994).

Davis, P.H., "Flora of Turkey and the East Aegean islands", V8. ***Edinburgh Univ. Press***. Edinburgh 248-249 (1984).

Davis, P.H., Mill, R.R., Tan, K., Flora of Turkey and the East Aegean Islands **vol. 10**. ***Edinburgh Univ. Press***. Edinburgh, 216 (1988).

De Hertogh, A.A., "Holland Bulb Forcer's Guide", 4th edition., ***International Flower Bulb Centre, Hillegom***, The Netherland, 369 (1989).

De Hertogh, A.A., Noone, C., Lutman, A., "The geophyte <sup>TM</sup>", ***North Carolina State University***, Raleigh, North Carolina, 27695 (1990).

Dimech, A.M., Cross ,R., Ford, R., Taylor, P.W.J., "Micropropagation of gynoecium lily (*Doryanthes excelsa* Correa) from new South Wales, Australia" ***Plant Cell, Tiss. Org. Cult.***, **88** (2): 157-165 (2007).

Duong, T.T., Bui, V.L., Nguyen, T.M., Jaime, T.D.S., Seiichi, F., Michio, T., Tran, T.V.K., "Somatic embryogenesis through pseudo-bulblet transverse thin layer of *Lilium longilorum*", ***Plant Growth Regul.***, **37**: 193-198 (2002).

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., "Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler). ***Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları***, Ankara", 1-30 (2000).

Evans, D.A., Sharp, W.R., Flick, C.E., "Growth and behaviour of all cultures." In: Plant Tissue Culture- Methods and Applications in Agriculture, Thorpe, T.A. (ed.). 45-113 (1981).

Fasolo, F., Zimmerman, R.H., Fordham, I. "Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars", **Plant Cell Tiss Org Cult** 16: 75-87 (1989).

Ghaffoor, A., Maqbool, I., Waseem, K., Quraishi, A., "*In vitro* response of tulips (*Tulipa gesneriana* L.) to various growth regulators", **International Journal of Agriculture and Biology**, 6 (6): 1168-1169 (2004).

Gootaarts, H., Schel, J.H.N., Pierik, R.L.M., "The Origin of Bulblets formed on excised twin scales of *Nerine bowdenii* W. Watts", **Plant Cell Tiss Org Cult.** 1:39-46 (1981).

Gönülşen, N., "Bitki Doku kültürü yöntemleri ve uygulama alanları." Menemen – İzmir, 1-140 (1987).

Gönülşen, N., Özcan, S., "Asma (*Vitis sp.*)'nın doku kültürü ile üretilmesi üzerinde araştırmalar", Tübitak, TOAG, VII. Bilim 291-297 (1983).

Güler, B., Duman, H., "A new species of *Muscari* Miller (*Liliaceae*) from Central Anatolia", **The Karaca Arberotum Mag.**, 5 (2): 63-65 (1999).

Güler, A., Özhata, N., Ekim, T. Ve Başer, K.H.C., "Flora of Turkey (SupplamentII), Vol.11, **Edinburgh Univ Press**, Edinburgh. 656 (2000).

Gürsan, K., Erkal, S., "Dünyada ve Türkiye'de Süs Bitkileri Üretim ve Ticaretindeki Gelişmeler", **I. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi**, 6-9 Ekim 1998, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova, 1-11 (1998).

Hannweg, K., Watt, M.P., Berjak, P., "A simple method for the micropropagation of *Bowiea volubilis* from inflorescence explants", **Bot. Bull. Acad. Sinica.**, 37 (3): 213-218 (1996).

Hogue, B., "*Muscari*: as a folwering potted plant." **Pennsylvania flower Gr.**", 3 : 2-3. (1988).

Hou, Q., Carman, J.G., Varga, W.A., "Micropropagation of Sego lily", **Plant Cell, Tiss. Org., Cult.**, 49 (2): 149-151 (1997).

Hussey, G., "*In vitro* propagation of *Narcissus*", **Ann. Bot.**, 49: 707-719. Rees, A.R., 1969 (1982).

Johnson, K.A., Burchett, M., "*In vitro*-propagation of blandfordia-grandiflora (Liliaceae)", **J. Hort. Sci.** , 66 (4): 389-394 (1991).

Kariuki, W., Kako, S., "Growth and Flowering of *Ornithogalum saundersia* Bak", *Scientia Horticulture*, 81: 57-70 (1999).

Karlen, T. "M. sandrasicum (Liliaceae), a new species from Turkey", *Willdenowia*, 16:375-381 (1987).

Khawar, K.M., Çöçü, S., Parmaksız, I., Saruhan, E. O., Sancak,C., Ozcan, S., "Mass proliferation of Madona Lilly (*Lilium candidum* L.) under *in vitro* conditions", *Pak. J. Bot.*, 37 (2): 243-248 (2005).

Khawar, K.M., Sancak, C., Uranbey, S., Özcan, S., "Effect of thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culunaris* Medik.) via organogenesis", *Turkish Journal of Botany*, 28: 421-426 (2004).

Kromer, K. "The effect of light conditions on regeneration and level of endogenous growth regulators in *Muscari racemosum* L. Mill. bulb-scale sections cultured *in vitro*", *Acta Hort. (ISHS)* 251: 173-182 (1989).

Kromer, K., Kukulczanka, K., "Control of morphogenesis in thin cell layer explants of *Muscari botryoides* Mill. Botanical Garden, University of Wrociaw, Poland" *Scienkiewicza* 23: 50-335 (1992).

Langeslang, J.J.J., "Teelt en Gebruisksmogelijkheden van Bijgoedgewassen", Tweede Druk. Ministerie Landbouw Visserij en Consulentschap Algemeene. *Dienst Bloeembollenteelt. Lise*, The Netherlands, 212-220 (1989).

Leonardi, C., Giuffrida, F., Lipari, V., "Modification of tomato fruit characteristics by salt stress", *Acta Horticulturae*, 559(1): 301-306 (2001).

Lian, M., Chakrabarty, D. Yoeup, P.K., "Growth of lily oriental hybrid 'Casablanca' bulblet using bioreactor culture", *Science Horticulturae.*, 97: 41-48 (2003a).

Lian, M.L., Chakrabarty, D., Peak, K.Y., "Bulblet formation from bulb scalesegments of Lilium using bioreactor system", *Biologia Plantarum*, 46 (2): 199-203 (2003b).

Ma, R., Ritala, A., Oksman-Caldentey, K.M. , Rischer, H., "Development of *in vitro* techniques for the important medicinal plant *Veratrum californicum*", *Planta Medica.*, 72 (12): 1142-1148 (2006).

Marinangeli, P., Curvetto, N. "Bulb quality and traumatic acid. influence bulblet formation from scaling in *Lilium* species and. Hybrids", *HortScience*, 32:739-741 (1997).

- McCartan, S.A., Van-Staden, J., "Micropropagation Of The Medicinal Plant, *Scilla Natalensis* Planch", *Plant Growth Regul.*, 25 (3): 177-180 (1998).
- McComb, J.A., "Clonal propagation of eucalypts. In: Plant Tissue Culture Manual", *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht*, (8) 1-24 (1995).
- Melanie, R.U., Fred, T.D.J., Young, C.K., Sharon, A.D., Jonatton, N.E., "Micropropagation of *Crinum 'Ellen Bosanquet'* by tri-scales", *Sci. Hortic.*, 82, 95-102 (1999).
- Miller, C., Skoog, F., "Chemical control of bud formation in tobacco stem segments", *Amer. Jour. Bot.* 40: 768-773 (1953).
- Mirici, S., Parmaksiz, S., Ozcan, S., Sancak, C., Uranbey, S., Sarihan, E.O., Gumuscu, A., Gurbuz, B., Arslan, N., "Efficient *in vitro* bulblet regeneration from immature embryos of endangered *Sternbergia fischeriana*", *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.*, 80 (3): 239-246 (2005).
- Mohammadi-Dehcheshmeh, M., Khalighi, A., Naderi, R., Ebrahimie, E., Sardari, M., Indirect somatic embryogenesis from petal explant of endangered wild populations of *Fritillaria imperialis*. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10:1875-1879 (2007).
- Mohammadi-Dehcheshmeh, M., Khalighi, A., Naderi, R., Sardari, M., Ebrahimie, E., "Petal: a reliable explant for direct bulblet regeneration of endangered wild populations of *Fritillaria imperialis* L.", *Acta Physiol Plant.*, 30:395-399 (2008).
- Mok, M.C., Mok, D.W.S., "The metabolism of (14C) thidiazuron in callus tissues of *Phaseolus lunatus*", *Journal of Plant Physiology*, 15: 473-497 (1985).
- Moran, G.P., Colque, R., Vilodomat, F., Bastida, J. Codina, C., "Mass propagation of *Cyrthanthus clavatus* and *Cyrthanthus spiralis* using liquid medium culture", *Sci. Hortic.*, 98: 49-60 (2003).
- Murashige, T., Skoog, F., "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures", *Physiol. Plantarum*, 15: 473-497 (1962).
- Murashige, T., "Plant propagation through tissue cultures", *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25: 135–165 (1974).
- Nasırcılar, A.G., Karagüzel, Ö., "Galanthus elwesii Hook. F. bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarından *in vitro* soğan üretimi", *Akdeniz Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 19 (2): 159-164 (2006).
- Nayak, N.R., Rath S.P., Patnaik, S.N., "*In vitro* propagation of three epiphytic orchids, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. and *Dendrobium nobile* Lindl. (*Orchidaceae*)", *Sci. Hort.*, 94: 107–116 (1997).
- Nayak, S., Sen, S., "Rapid and stable propagation of *Ornithogalum umbellatum* L. In Long-Term Culture", *Plant Cell Rep.*, 15 (1-2): 150-153 (1995).

Nhut, D.T., "Micropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo-bulblet culture", ***Plant Cell Rep.***, 17 (12): 913-916 (1998).

Nhut, T., Van, B., Silva, J., "Changes of shoot regeneration potential of oriental hybrid lily", ***Advances in Horticultural Science***, 9: 79-82 (2002).

Ozel, C.A. Khawar, K.M., "In vitro bulblet regeneration of *Ornithogalum oligophyllum* E. D. Clarke using twin scale bulb explants", ***Prop. Ornamental Plants.***, 2: 82-88 (2007).

Özhatay, N., "Türkiye'nin Güzel Kokulu Soğanlı Bitkileri." ***XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı***, Ankara, 541-544 (2003).

Paek, K.Y., Murthy, H. N., "High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*", ***Plant Cell Tissue Organ Cult.***, 68: 247-252 (2002).

Parmaksiz, I., Khawar, K.M., "Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis from Immature Seeds of *Sternbergia candida* Mathew Et T. Baytop. An Endangered Endemic Plant of Turkey", ***Prop. Ornamental Plants***, 3: 128-133 (2006).

Peck, D.E., Cuming, B.G., "Beneficial effects of activated charcoal on bulblet production in cultures of *Muscari armeniacum*. ***Plant Cell, Tiss. Org. Cult.***", 6: 9-14. (1986).

Pierik, R.L.M., Woets, J., "Regeneration of Isolated bulb scale segments of *Hyacinth*", ***ISHS Acta Hort I Int. Symposium flower bulbs.***, 23:423-428 (1971).

Preece, JE., Huetteman, CA., Puello, CH. Neuman, MC., "The influence of Thidiazuron on *in vitro* culture of woody plants", ***Hort Science***, 22: 1071 (1987).

Produktschap Voor Siergewassen En Bloembollenkeurings-dienst (PVB/ BKD), Bloembollen (voorjaarsboeiers), Beplante oppervlakten 1987/88 tot en met 1990/91 ***Den Haag and Lise***, The Netherlands, 77-78. (1991).

Puchalski, J., Puchalska, M., Saniewski, M., "Glucose -6-phosphate dehydrogenase elecrophoretic forms during differentiation of benzyladenine induced bulblets of *Muscari*", ***Acta Horticulturae*** 91: 241-245 (1979).

Ramadan, E.G., Ralph, A. B., "In vitro propagation of red squill, *Urginea maritima* Baker", ***Plant Cell. Tiss. Org. Cult.*** 10: 65-71 (1987).

İnternet: Elektronik Resmi Gazete "Çiçek Soğanlarının ihraç durumları" <http://regal.basbakanlik.gov.tr> (2008).

Sage, D.O. Lynn, J., Hammatt, N., "Somatic embryogenesis in *Narcissus pseudonarcissus* cvs. Golden Harvest and St. Keverne" *Plant Science* 150: 209–216 (2000).

Saniewski, M., "The effect of gibberellic acid on the flowering and growth of *Muscari comosum* Mill", *Bulletin de L' Academie Polonaise des Sciences*, 25-795-797 (1977a).

Saniewski, M., "The effect of Gibberilic acid and benzyladenine ob bulblets differentiation in scooped out and scored Hyacinth bulbs", *Bulletin De L'Academie Polonaise des Science*, 23: 49-52 (1977b).

Saniewski, M., "Induction of bulblet formation by benzyladenine in *Muscari* bulbs", *Bulletin de L'Academie Polonaise des Sciences.*, 27: 229-232 (1979).

Saniewski, M., Pytlewski, C., "Regeneration of plantlets on leaves and inflorescence stalk of *Muscari* through tissue culture", *Bulletin De L' Academie Polonaise des Sciences.*, 27: 519-521 (1979).

Saniewski, M., Puchalski, J., "The inhibitory effect of giberellic acid and auxin in differentiation of benzyladenine bulblets in *Muscari* bulbs." *Prace Instytutu Sadownictwa Kwiaciarskwa, Series B.*, 7:165-171 (1982).

Saniewski, M., Puchalski, J., "The effect of methyl jasmonate and abscisic acid on differentiation of benzyladenine induced bulblets in *Muscari* bulbs", *Biolog. Plantarum*, 29: 63-65 (1987).

Santos, J., Santos, I., Salema, R., "In vitro production of bulbs of *Narcissus* bulbocodium flowering in the first season of growth", *Sci. Hort.*, 76: 205-217 (1998).

Schacht, N. Blumenzwiebeln für garten und heim ulmer, *Stuttgart*, 171. (1955).

Seabrook, E.A., Cumming, B.G., Dionne, L.A., "The *in vitro* induction of adventitious shoot root apices on *Narcissus* (daffodil and narcissus) cultivar tissue", *Can. J. Bot.*, 54: 814-819 (1976).

Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E., "Tohumlu bitkiler Sistematiği" *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No:116, 4. baskı*, İzmir 323-325 (1995).

Selles, M., Viladomat, F., Bastida, J. Codina, C., "Callus induction, somatic embryogenesis and organogenesis in *Narcissus confusus*: correlation between the state of differentiation and the content of galanthamine and related alkaloids", *Plant Cell Rep.*, 18: 646-651 (1999).

Sevimay, C.S., Khawar, K.M., Çöçü, S., Özcan, S., "Somatic embryogenesis in White Clover (*Trifolium repens* L.)", *Period. Biologorum*, 107 (1): 101-105 (2005).

Sevimay, C.S., Khawar, K.M., Parmaksiz, I., Cocu, S., Sancak, C., Saruhan, E.O. Ozcan, S., "Prolific *in vitro* bulblet formation from bulb scales of Meadow Lily (*Lilium candidum L.*)", *Priod. Biologurum*, 107 (1): 107-111 (2005).

Snedecor, G.W., Cochran, W.G., "Statistical methods", *The Iowa State Univ. Press, Iowa. USA* 327-329 (1967).

Speta, F., "Muscari (subg. Leopoldia) mirum Speta, spec. Nova, im Kreise seiner nächsten Verwandten", *Phyton.*, 29: 105-117 (1989).

Squires, W.M., Langton, F.A., "Potential and limitations of *Narcissus* micropropagation: An experimental evaluation", *Acta Hortic.*, 266: 67-73 (1990).

Squires, W.M., Langton, F.A., Fenlon, J.S., "Factors influencing the transplantation success of micropropagated narcissus bulbils", *J. Hort. Sci.*, 66 (6): 661-671 (1991).

Suzuki, S., Nanako, M., "Organogenesis and somatic embryogenesis from callus cultures in *Muscari armeniacum*", *Leichtl. ex Bak. In vitro cell. Dev. Biol.*, 37: 382-387 (2001).

Suzuki, S. Nakano, M., "Agrobacterium-mediated production of transgenic plants of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak.", *Plant Cell Rep.*, 20: 835–841 (2002).

Taeb, A.G., Alderson, P.G., "Effect of low temperature and sucrose on bulb development and on the carbohydrate status of bulbing shoots of tulip *in vitro*", *J. Hort. Sci.* 65, 193–197 (1990).

Tan, K., "A new *Muscari* (Liliaceae), a new species from Turkey", *Herbertia*, 44: 25-28 (1988).

Tang, Z.H., Shi, L., Chen, W.L., Lin, H.H., "In vitro propagation of *Chirita heterotricha* Merr", *Prop. Ornamental Plants*, 7 (1): 43-48 (2007).

Tipirdamaz, R., Ellialtıoğlu, Ş., Çakırlar, H., "Kardelenin (*Galanthus ikariae* baker.) Doku kültürü yoluyla çoğaltımı: eksplant tipi, ortam pH'sı ve karbonhidrat kaynağının soğancık oluşumuna etkisi", *Tr. J. Agri. Forest*, 23 (4): 823-830 (1999).

İnternet Türkiye Bitkileri Veri Servisi "Türkiye'de bulunan diğer *Muscari* türleri, yayılış alanları ve endemizm durumları türkiye'de bulunan diğer *Muscari* türleri, yayılış alanları ve endemizm durumları".<http://www.tubitak.gov.tr/tubives> (2008)

Tymoszuk, J., Saniewski, M., Rudnicki, R.M. "A possible use of the infiltration method for application of growth regulators in to bulbs", *Acta Hort.* (ISHS) 91:179-184 (1979).

Van Scheepen, J., (editor), "International checklist for hyacinths and miscellaneous bulbs. Royal General Bulb Growers' Association (KAVB)", *Hillegom*, The Netherlands, 409 (1991).

Varshney, A., Dhawan, V. Srivastava, P.S., "A protocol for *in vitro* mass propagation of asiatic hybrids of lily through liquid stationary culture", ***In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.***, 36: 383-391 (2000).

Vinocur, B., Carmi, T., Altman A., Ziv, M., "Cell biology and morphogenesis: Enhanced bud regeneration in aspen (*Populus tremula* L) roots cultured in liquid media", ***Plant Cell Rep.***, 12: 1146-1154 (1998).

Wang, C.N., Cronk, Q.C.B., "Meristem fate and bulbil formation in *Titanotrichum* (Gesneriaceae)" ***Am J. Bot.*** 90: 1696-1707 (2003).

Wawroshch, C., Malla, P.R., Koop, B., "Clonal propagation of *Lilium nepalense* D.Don, a threatened medicinal plant of Nepal", ***Plant Cell Rep.***, 20: 285-288 (2001).

Werbrouck, S.P.O., Debergh, P.C., "Applied aspects of plant regeneration (micropropagation) In: Dixon RA, Gonzales RA (eds)", ***Acta Hort.***, 226 (1): 121-129 (1994).

Wendy, M., Squires, F.A., Langton, F.A. Fenlon, J.S., "Factors influencing the transplantation success of micropropagated narcissus bulbils", ***J. Hort. Sci. Biotech.***, 66 (6): 661-671 (1991).

Yusnita, S., Geneve , RL., Kester, ST., "Micropropagation of white flowering eastern redbud (*Cercis canadensis* var. *alba* L)", ***J. Environ. Hort.***, 8: 177-179 (1990).

Ziv, M. Lilien-Kipnis, H., "Bud regeneration from inflorescens explants for rapid propagation of geophytes of *in vitro*", ***Plant Cell Reports***, 19: 845-850 (2000).

## ÖZGEÇMİŞ

### **Kişisel Bilgiler**

Soyadı, adı : ÖZEL, Çiğdem Alev  
 Uyruğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 26.02.1976, EDREMİT  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0 (312) 202 80 83  
 Faks : 0 (312) 212 84 83  
 e-mail : [cigdemozel@gazi.edu.tr](mailto:cigdemozel@gazi.edu.tr)

### **Eğitim**

<b>Derece</b>	<b>Eğitim Birimi</b>	<b>Mezuniyet tarihi</b>
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji Bölümü	2002
Lisans	Gazi Üniversitesi/Biyoloji Eğitimi	1999
Lise	Edremit Lisesi	1993

### **İş Deneyimi**

<b>Yıl</b>	<b>Yer</b>	<b>Görev</b>
2000-2002	Yıldırım Beyazıt İlköğretim Okulu	Öğretmen
2002-2008	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

### **Yabancı Dil**

İngilizce

## YAYINLAR

### Bilimsel Çalışmaları ( Bilimsel Yayınlarının Listesi)

#### A- (YDM-ISI) : Yurt dışı (SCI-EXPANDED, SSCI, AHCI kapsamındaki) dergilerde yayımlanan yayınları

- A.1.** Ozel, C.A., Khawar, K.M., Mirici, S., Ozcan, S. And Arslan, O., “Factors affecting *in vitro* plant regeneration of the critically endangered Mediterranean knapweed (*Centaurea tchihatcheffii* Fisch et. Mey)”, Naturwissenschaften, 93:511–517, 2006.
- A.2.** Ozel ,C.A. And Khawar, K.M., “*In vitro* bulblet regeneration of *Ornithogalum oligophyllum* E. D. Clarke using twin scale bulb explants”, Propagation of ornamental plants, 2007.
- A.3.** Ozel, C.A., Khawar, K.M., Karaman, S., Ates, M.A. And Arslan, O., “Efficient *in vitro* myultiplication in *Ornithogalum ulophyllum* Hand Mazz from twin scales”, Scientia Horticulturae, 116 (1): 109-112, 2008.
- A.4.** Ozel, C.A., Khawar, K.M. And Arslan, O., “A comparison of the gelling of isubgol, agar and gelrite on *in vitro* shoot regeneration and rooting of variety Samsun of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)”, Scientia Horticulturae 117: 174-181, 2008.
- A.5.** Atici, T., Khawar, K.M., Ozel, C.A., Katircioglu, H. And Ates, M.A., “Use of psyllium (isubgol) husk as an alternative gelling agent for the culture of prokaryotic microalgae (Cyanobacteria) *Chroococcus limneticus* Lemmermann and eukaryotic green microalgae (Chlorophyta) *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) ”, Brebisson African journal of Biotechnology, Vol. 7 (8), 2008.

#### **B. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler**

- B.1.** Khawar, K.M., Ozel, C.A., Balci, S., Ozcan, S., And Arslan, O., “Efficient Shoot Regeneration in Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) Under *in vitro* Conditions”, Int. J. Agr. Biol, 7 (5):790-793, 2005.
- B.2.** Ozel, C.A., Khawar, K.M., Mirici, S., Arslan, O. And Ozcan, S., “Induction of ex vitro adventitious roots on soft wood cuttings of *Centaurea tchihatcheffii* Fisch et. Mey using Indole 3- butyric acid and α Naphthalene acetic acid.”,

International Journal of Agriculture and Biology , 8(1): 66-69(Chemical Abstracts, CAB Abstracts, Swets Blackwell), 2005

- B.3.** Ozel, C.A., Khawar, K.M. And Unal, F., “*In vitro* axillary bulblet regeneration Turkish yellow grape hyacinth, (*Muscari macrocarpum* Sweet) from twin scale explants” Research Journal of Agricultural and Biological Science, 3(6): 924-929, 2007.
- B.4.** Khawar, K.M., Ozel, C.A., Ulug, A., Sur, I., Kizilates, E. And Arslan, O., “*In vitro* adventitious shoot proliferation of *Isatis aucheri* Boiss (Turkish woad) from petiole explants”, Research Journal of Agricultural and Biological Science, 2008.
- B.5.** Ozel, C.A. And Arslan, O., “Efficient Micropropagation of English shrub rose "Heritage" under *in vitro* conditions”, J. Agr. Biol. (Int.J.Agr.Biol.,vol.8,no.5), 2006.

#### **C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler**

- C.1.** Özel, Ç.A., “Onkogenik *Agrobacterium tumefaciens* A281 Hattı ile Çivit Otu (*Isatis constricta* Davis) Bitkisinde Tümör Oluşumu”, Tarım Bilimler Dergisi (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi), 13 (4) 391-394, 2007.
- C.2.** Atıcı,T., Samancı-Keskin N., Özel, Ç.A., “İlköğretim FenBilgisi Ders Kitaplarının Biyoloji Konuları Yönünden Eleştirel Olarak İncelenmesi ve Öğretmen Görüşleri”, Türk Eğitim Bilimleri Dergisi Kış, 5(1), 115-131, 2007.

#### **D. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :**

- D.1.** Khawar,K.M., Saglam,S., Ozel,C.A., Ozturk,M., Sumlu,S., Sevimay, C. S. And Ozcan,S., “*In vitro* Somatic Embryogenesis in Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller) under Different Light Intensities”, Belgium, September, 2006.
- D.2.** Khawar, K.M., Ozel, C.A., Yildirim, S., Ozdemir, F., Cam, D., Uzuntas, F. And Ozcan, S., “Factors affecting *in vitro* Plant Regeneration of Iranian knapweed (*Centaurea depressa* Bieb.) using immature zygotic embryos”, 5<sup>th</sup> International

conference. Propagation of ornamental plants. 5-8 September 2007, Sofia Bulgaria- p-51 ,2007.

- D.3.** Khawar, K.M., **Özel, C.A.**, Ulug, A., Sur, I., Kizilates, E., Ozlu, G., Hadimogullari, B., Cam, D., And Arslan O., "Rapid and Highly efficient micropropagation of Two Turkish woody *Isatis constricta* Davis and *I. aucheri* Boiss. under *in vitro* conditions", International Symposium on Biotechnology, Session 3 OC12 S3, Sfax, Tunisia ISB 2008, May 4th – 8th, 2008 Sfax Tunisia, 2008.

#### **E. Yazılan ulusal kitaplar veya kitaplarda bölümler :**

- E.1.** Atıcı, T., Samancı K. N., **Özel, Ç.A.**, Bitki Morfolojis ve Anatomisi Laboratuvar Kitabı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2005

#### **F. Ulusal bilimsel toplantınlarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiri:**

- F.1.** **Özel, Ç.A** Samancı-Keskin, N., Arslan,O. Ve Özcan,S., "Agar'a alternatif jelleştirici madde Isubgol'ün *Nicotiana tabacum*'da adventif sürgün rejenerasyonu ve köklendirmeye etkisi", XIV. Biyoteknoloji Kongresi, 31 Ağustos - 2 Eylül 2005 Eskişehir.

#### **G. Diger yayınlar :**

- G.1. Ozel, C.A.**, Khawar, K.M. And Arslan, O., "Effects of Isubgol an Alternative Gelling Agent on Shoot Regeneration and Rooting of Tobacco", Agro Environ 2006. 4 - 7 September 2006. Ghent University, Ghent, Belgium (poster), 2006

- G.2.** Khawar, K.M., **Ozel, C. A.**, Ates, M.A. And Arslan, O., "*In vitro* propagation of bulbous plant *Ornithogalum ulophyllum* Hand- Mazz", International Congress of Plant Tissue Culture and Biotechnology. August 13-18 '006 Beijing China (poster), 2006

- G.4. Ozel, C.A., Khawar, K.M., Samancı-Keskin, N., Özdemir,F., Ateş, M.A., Çam, D., Arslan,O., Özcan,S. Ve Ünal, F.,** "Muscari macrocarpum'un *in vitro* Koşullarda Üretilimi", 18. Ulusal Biyoloji Kongresi Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kuşadası, 26-30 Haziran 2006 Kuşadası/Aydın Poater No. B 1003 – PS 137. s 136 (poster), 2006
- G.5. Ozel, C.A., Khawar, K.M., Arslan, O.And Unal, F.** "Rapid and Reliable Protocol for *in vitro* Propagation of endemic and endangered bulbous plant Muscari adilii Guner, MB, Duman H", International Symposium on Biotechnology, Session 3 / PC51 S3, Sfax, Tunus ISB 2008, May 4th – 8th, 2008 Sfax – Tunisia, 2008.
- G.6. Khawar, K.M., Ozel, C.A., Arslan, O. And Ates, M.A.,** "Factors affecting *in vitro* rooting of Ornithogalum ulophyllum Hand.-Mazz bulbs regenerated on different concentrations of BAP- NAA using NAA",5th International conference. Propagation of ornamental plants. 5-8 September 2007, Sofia Bulgaria- p-129, 2007.
- G.7. Özel, Ç.A., Khawar, K.M., Ateş, M.A., Uluğ, A., Özdemir, F., Çam, D., Doğan, A. And Arslan, O.,** "Faklı oranlarda oksin –sitokinin içeren besin ortamlarından elde edilen Ornithogalum ulophyllum Hand Mazz soğanlarının MSO ve NAA ile köklenme davranışları",Biyoteknoloji 2007, Bildiri Kitabi, XV ulusal biyoteknoloji kongresi, Antalya, 2007
- G.8. Ozel, C.A., Khawar, K.M., Dogan, A. And Unal, F.,**"Efficient *in vitro* regeneration of endangered endemic *Muscari massyanum* Grunert from bulb scale explants",5<sup>th</sup> International conference. Propagation of ornamental plants. 5-8 September 2007, Sofia Bulgaria- p-147, 2007. "
- G.9. Arslan, O., Ozel, C.A. And Khawar, K.M.,**"*In vitro* axenic culture of Turkish Sweet William (Dianthus barbatus L.) using shoot meristem and first axillary node"5th Internationa conference. Propagation of ornamental plants. 5-8 september Sofia Bulgaria- p-90 2007.
- G.10. Ozel, C.A., Sur, I., Khawar, K.M., Cam, D., Ates, M.A.,Özdemir, F., Sahbaz, R. And Arslan, O.,** "Efficient *in vitro* micropropagation of *Ornithogalum*

*oligophyllum* E. D. Clarke”, 125 years Deutsche Botanische Gesellschaft - Botanical Congress- Faculty for Mathematics, Informatics and Natural Sciences Department of Biology Hamburg University Germany September 3rd - 7th 2007-Poster No. P35: 8, 2007.

- G.11.** Ozel, C.A., Khawar, K.M., Arslan, O. And Unal, F. “Rapid and Reliable Protocol for *in vitro* Propagation of endemic and endangered bulbous plant *Muscari adilii* Guner, MB, Duman H”, International Symposium on Biotechnology, Session 3 / Poster 51 S3, Sfax, Tunus, 2008.
- G.12.** Khawar, K.M., Öznel, Ç.A., Ozdemir, F., Cam, D., Ates, M.A. ve Arslan, O.” *Urginea maritima* (L.) BAKER (ada soğanı)’nın bitki doku kültürü yolu ile çoğaltımı”, 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon,Türkiye, 23-27 Haziran 2008. 111, s 367 (Poster).
- G.13.** Sur, İ., Mengü D.S., Lieberei, R., Öznel, Ç.A., Orhan, A., Khawar, K.M., “*Gentiana scabra* Buergeri bitkisinde TIS yontem kullanarak mikro çoğaltımı ve değişik oranlarda sukrozun biyomas üzerindeki etkileri” 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon,Türkiye, 23-27 Haziran 2008. (Poster) 104. s 364.
- G.14.** Uzuntaş, F., Dilsiz, N., Arslan, O., Khawar, K.M. ve Öznel, Ç.A., *In vitro* Koşullarda Maliyeti Düşürme Amaçlı Farklı Katilaştırıcı ve Karbon Kaynakları Kullanarak Muz Çoğaltımı” 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon,Türkiye, 23-27 Haziran 2008, Sözlü Bildiri 024 s 141.
- G.15.** Khawar, K.M., Öznel Ç.A., Hadimoğulları B., Özlü, G. ve Arslan, O., “*Isatis cochlearis* (Çivit Otu) Bitkisinin Doku Kültürü Yoluyla Adventif Sürgün Rejenerasyonu” 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon,Türkiye, 23-27 Haziran 2008, Sözlü Bildiri 021 s 141.
- G.15.** Öznel, Ç.A., Khawar, K.M., Uluğ, A., Kızılataş, E. ve Arslan O., “*Centaurea depressa* Bieb. ‘nın adventif sürgün rejenerasyonu” 19. Ulusal Biyoloji Kongresi Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon,Türkiye, 23-27 Haziran 2008, Poster 110, s 366.

## **H. ATIFLAR**

- H.1.** Ankara-Gölbaşı ve *Centaurea thcihatcheffii* Ayşe Boşgelmez, İpek Boşgelmez, Ayşegül Elif Savcı, Adnan Aydemir, Hulisi Gürpınar, Birol Mutlu, Sezer Topaloğlu, Mustafa Ege, Nuran Çiçek, in: 2. Bölüm Sayfa: 131-178 *Centaurea thcihatcheffii* Ankara-Gölbaşı Sevgi Çiçeği
- H.2.** *Centaurea thcihatcheffii*'nin tarihçesi Türkiye Florasındaki yeri, yayılış alanları taksonomik özellikleri ve diğer, bitkiler ile olan birlikteliği, Sadık Erik, Birol Mutlu, Sezer Topaloğlu, Burcu Tarıkahya, Adnan Aldemir in: Bölüm 3, Sayfa: 179-258 *Centaurea thcihatcheffii* Ankara-Gölbaşı Sevgi Çiçeği
- H.3.** *Centaurea thcihatcheffii* FISCH. ET MEY.'in Çimlenme Fizyolojisi, Hüsnü Çakırlar, Nuran Çiçek, Ali Doğru, in: Bölüm 7, Sayfa: 322-324 *Centaurea thcihatcheffii* Ankara-Gölbaşı Sevgi Çiçeği
- H.4.** *Centaurea thcihatcheffii* populasyonları üzerinde etkili olan faktörler ve koruma önlemleri Ayşe Boşgelmez, Adnan Aldemir, Birol mutlu, Ayşegül Elif Savcı, İ. İpek Boşgelmez,, Hulusi Gürpınar, Mustafa Ege, Sezer Topaloğlu, Güven Boşgelmez , in: Bölüm 10, Sayfa: 407-488 *Centaurea thcihatcheffii* Ankara-Gölbaşı Sevgi Çiçeği

### **Projelerde Yaptığı Görevler:**

#### **Tamamlanan Projeler:**

1. Gen Teknolojisi ve Buna Bağlı Olarak Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Konularının Biyoloji ve Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü Öğrencilerine Laboratuar Destekli Olarak Öğretilmesinin Öğrenmeye Etkisinin Araştırılması ve Öğretmen Yetiştirmede Biyoöğretim ve Biyotekeğitim Yaklaşımının Geliştirilmesi için Altyapı Kurulması. DPT. 2003K 120470–14. **Yardımcı Araştırmacı**, 2002–2005.

2. Gen Aktarım Konusunun Biyoloji ve Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü Öğrencilerine Laboratuar Destekli Olarak Öğretilmesinin Etkisi, Gazi Üniversitesi, Araştırma Fonu. **Yardımcı Araştırcı**, 2002–2004.

### **Devam Eden Projeler**

1. *Isatis constricta* DAVIS ve *Isatis aucheri* BOISS türlerine *in vitro* adventif sürgün rejenerasyonu 04/2008–13 **Yardımcı Araştırcı**, 2008 12 ay
2. “Gen Teknolojisi Tutum Ölçeği” Geliştirilmesi, Geçerlilik ve Güvenilirlik Çalışması, 04/2007–16 **Yardımcı Araştırcı**, 2007 1 yıl 3 ay

### **Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:**

1. The International Association for Plant Tissue Culture and Biotechnology (IAPTC&B)
2. World Council For Curriculum And Instruction (WCCI)
3. Biyoteknoloji Derneği

### **Ödüller:**

2006 Gazi Üniversitesi Rektörlüğü ve TÜBİTAK yayın teşvik ödülü

### **Katıldığı kurslar ve etkinlikler:**

1. Biyoinformatik Yaz Okulu-Erzurum 22–28 Haziran 2003
2. DNA Markörlerinin Bitki İslahında Kullanılması-Adana Şubat 2006
3. Humboldt Üniversitesi, Ziraat Fakültesinde Bitki Doku Kültürü Çalışması 19-21 Aralık 2005 Hamburg/Almanya
4. Tarımsal Biyoteknoloji Sempozyumu 10–11 Eylül 2005 Tarımsal 10–11 Biyoteknoloji Sempozyumu
5. Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Sempozyumu 2006 Ankara Ticaret Odası
6. Dinleyici olarak XIII. Biyoteknoloji Kongresi 25–29 Ağustos 2003 Çanakkale