T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ÇİRİŞ (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)' DE *in vitro* MİKROÇOĞALTIM PROTOKOLÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN : Saadet SICAKYÜZ
DANIŞMAN : Doç. Dr. Burcu TUNCER

VAN–2021

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ÇİRİŞ (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)' DE *in vitro* MİKROÇOĞALTIM PROTOKOLÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Saadet SICAKYÜZ

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2019-8606 No' lu proje olarak desteklenmiştir

VAN–2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Burcu TUNCER danışmanlığında, Saadet SICAKYÜZ tarafından sunulan "Çiriş (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)' de *in vitro* Mikroçoğaltım Protokolünün Geliştirilmesi" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Ögretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 25/11/2021 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Fikret YAŞAR İmza:

Üye: Prof. Dr. Gölge SARIKAMIŞ İmza:

Üye: Doç. Dr. Burcu TUNCER İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …/ .../ ...tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

……..……..

Enstitü 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 bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Saadet SICAKYÜZ

ÖZET

ÇİRİŞ (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)' DE *in vitro* MİKROÇOĞALTIM PROTOKOLÜNÜN GELİŞTİRİLMESİ

SICAKYÜZ, Saadet
Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burcu TUNCER
Aralık 2021, 43 sayfa

Bu çalışmada, *Eremurus spectabilis* M.Bieb'de *in vitro* koşullarda çimlenme, soğancık rejenerasyonu, soğancık iriliğinin artırılması, soğancıklardan sürgün rejenerasyonu ve rizom oluşumunun sağlanması amaçlanmıştır. Uçları kesilmiş tohumların *in vitro* çimlendirilmesinde Gamborg (B5) ve White (WH) ortamı, *in vitro* soğancık rejenerasyonu denemeleri için, thidiazuron (TDZ) (0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) + naftalin asetik asit (NAA) (0, 0.1 ve 0.5 mg/l) ile 6-benzil amino purin (BAP) (0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) + NAA (0, 0.1 ve 0.5 mg/l) içeren toplam 24 Murashige ve Skoog (MS) kombinasyonu kullanılmıştır. Soğancık iriliğinin artırılması ve sürgün rejenerasyonunu denemelerinde ise, 30-35 gün arayla 2 deneme kurulmuş, 1. denemede, yukarıdaki kombinasyonlar arasından seçilen 13 MS besin ortamı, 2. denemede ise, 1. deneme sonuçlarına göre umutvar bulunmuş 9 MS besin ortam kombinasyonu kullanılmıştır.

En yüksek çimlenme oranı (% 61.5), B5 ortamından sağlanmıştır. *İn vitro* soğancık rejenerasyonu denemelerinde, incelenen parametreler bakımından MS ortamında 0.5 mg/l TDZ'nin 0.1 mg/l ve 0.5 mg/l NAA ile kombinasyonu ile 1 mg/l TDZ'nin 0.5 mg/l NAA ile kominasyonu daha başarılı bulunmuştur. Soğancık iriliğinin artırılmasında ise, her iki deneme sonuçlarının ortalamasına göre; soğancık rejenerasyonu (ortalama % 79) ve soğancık çapı bakımından (ortalama 2 cm) 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA kombinasyonu, ortalama soğancık sayısı bakımından ise 2 mg/l TDZ'nin NAA (0.1 ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonu daha başarılı olmuştur. En yüksek rizom benzeri yapı ise 1 mg/l indol bütirik asit (IBA) ilave edilmiş 1/2 MS ortamından elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Doku kültürü, *Eremurus spectabilis* M.Bieb, Liliaceae, Soğancık rejenerasyonu.

ABSTRACT

ESTABLISHMENT IN PROTOCOL FOR *in vitro* MICROPROPAGATION OF CIRIS (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)

SICAKYÜZ, Saadet
M. Sc. Thesis, Department of Horticulture
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Burcu TUNCER
December 2021, 43 pages

In this study, it was aimed to provide *in vitro* germination, bulblet regeneration, increase of bulblet size, shoot regeneration, and rhizome formation from bulblets obtained in *Eremurus spectabilis* M.Bieb. Gamborg (B5) and White (WH) media were used for *in vitro* germination of seed tip-cutting. For *in vitro* bulblet regeneration trials, thidiazuron (TDZ) (0.5, 1, 2, and 4 mg/l) + naphthalene acetic acid (NAA) (0, 0.1, and 0.5 mg/l) and 6-benzyl amino purine (BAP) (0.5, 1, 2, and 4 mg/l) + NAA (0, 0.1, and 0.5 mg/l) a total of 24 combinations of Murashige and Skoog (MS) were used. In bulblet growth and shoot regeneration, 2 trials were set up with an interval of 30-35 days. In the first trial, 13 MS nutrient media combinations selected from the above combinations were used, and in the second trial, 9 MS nutrient media combinations, which were found promising according to the first trial results, were used.

The highest germination rate (61.5 %) was obtained from B5 medium. In bulblet regeneration trials, the combination of 0.5 mg/l TDZ with 0.1 mg/l and 0.5 mg/l NAA and the combination of 1 mg/l TDZ with 0.5 mg/l NAA in MS medium was found to be more successful in terms of the parameters examined. In increasing the size of the bulblet, according to the average of the results of both trials; In terms of bulblet regeneration (mean 79 %) and bulblet diameter (mean 2 cm), 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA combination, and in terms of average bulblet number 2 mg/l TDZ + NAA (0.1 and 0.5 mg/l) was more successful. The highest rhizome-like structures from *in vitro* developed bulblets were obtained from 1/2 MS medium with 1 mg/l indole butyric acid (IBA) added.

Keywords: Tissue culture, *Eremurus spectabilis* M.Bieb, Liliaceae, Bulblet regeneration.

ÖN SÖZ

Bu çalışmamda, tez konusu seçiminden çalışmanın tamamlanmasına kadar geçen her aşamada her türlü bilgi ve desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Burcu TUNCER' e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca bu yüksek lisans tez çalışmasını, FYL-2019-8606 No' lu proje ile destekleyen, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi' ne teşekkür ederim.

2021

Saadet SICAKYÜZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT iii
ÖN SÖZ v
İÇİNDEKİLER vii
ÇİZELGELER LİSTESİ ix
ŞEKİLLER LİSTESİ xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xiii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ 5
2.1. *Eremurus* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 5
2.2. *Aloe* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 6
2.3. *Allium* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 8
2.4. *Lilium* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 10
2.5. *Fritillaria* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 12
2.6. *Chlorophytum* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 13
2.7. *Muscari* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 14
2.8. *Scilla* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 14
2.9. Diğer Liliaceae Familyası Türlerinde Yapılmış Çalışmalar 15
3. MATERYAL VE YÖNTEM 17
3.1. Materyal 17
3.2. Yöntem 17
3.2.1. Tohumların ve çalışma ortamının sterilizasyonu 17
3.2.2. *İn vitro* çimlendirme denemeleri ve eksplant hazırlığı 18
3.2.3. *İn vitro* soğancık rejenerasyonu 19
3.2.4. Soğancık iriliğinin artırılması ve sürgün rejenerasyonu 20
3.2.5. Rizom benzeri yapıların elde edilmesi 21
3.2.6. İncelenen parametrelerin hesaplanması 21
3.2.7. İstatistik analiz 22

Sayfa

4. BULGULAR 23
4.1. *İn vitro* Koşullarda Çimlenme Denemesi Sonuçları 23
4.2. *İn vitro* Koşullarda Soğancık Rejenerasyonu Deneme Sonuçları 24
4.3. *İn vitro* Koşullarda Soğancık İriliğinin Artırılması ve Sürgün Rejenerasyonu Deneme Sonuçları 26
4.4. Rizom Benzeri Yapıların Elde Edilmesine Yönelik Deneme Sonuçları 31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 33
KAYNAKLAR 37
ÖZ GEÇMİŞ 43

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.1. *İn vitro* koşullarda soğancık üretimi için kullanılan MS besin ortam kombinasyonları 20

Çizelge 3.2. Soğancık iriliğinin artırılmasında kullanılan MS besin ortam kombinasyonları (1. deneme) 21

Çizelge 3.3. Soğancık iriliğinin artırılmasında kullanılan MS besin ortam kombinasyonları (2. deneme) 21

Çizelge 4.1. *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarında farklı besin ortamlarının *in vitro* koşullarda çimlenme üzerine etkisi 23

Çizelge 4.2. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS kombinasyonlarının *in vitro* soğancık rejenerasyonu üzerine etkisi 25

Çizelge 4.3. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS kombinasyonlarının *in vitro* soğancık iriliğinin artırılması üzerine etkisi (1. deneme) 27

Çizelge 4.4. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS kombinasyonlarının *in vitro* sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi (1. deneme) 27

Çizelge 4.5. *E. spectabilis* M.Bieb' de *in vitro* soğancık iriliğinin artırılmasına yönelik 2. deneme sonuçları 29

Çizelge 4.6. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS besin ortam kombinasyonlarının *in vitro* sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi (2. deneme) 29

Çizelge 4.7. *E. spectabilis* M.Bieb' de 1/2 MS ortamında farklı IBA dozlarının *in vitro* rizom benzeri yapıların oluşumu üzerine etkisi 32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 3.1. *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarının dezenfeksiyon aşamaları; (a) benomil solüsyonunda bekletilmesi, (b) saf suda bekletilmesi, (c) tohumların % 40 sodyum hipoklorit çözeltisinde dezenfeksiyonu, (d-e) tohumların steril bidistile su ile yıkanması, (f) tohumların kurutma kağıdı üzerine alınması, (g) tohum uçlarının kesilmesi. 18

Şekil 3.2. *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarının (a) tohum uçlarının kesilmesi, (b) *in vitro* tohum ekimi, (c) çimlenme kriteri, (d-e) in vitro koşullarda gelişmiş olan hipokotil eksplantları. 19

Şekil 4.1. Gamborg (B5) ortamında *in vitro* koşullarda çimlendirilmiş; (a) gelişmekte olan, (b ve c) gelişmesini tamamlamış bitkicikler. 23

Şekil 4.2. Farklı MS besin ortam kombinasyonlarına dikilmiş hipokotil eksplantları (a) 1. gün, (b) 5. gün. 24

Şekil 4.3. Farklı MS besin ortam kombinasyonlarında hipokotil eksplantlarından gelişmiş *in vitro* soğancıklar; (a ve d) 0.5 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA, (b) 1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA, (c) 0.5 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA. 26

Şekil 4.4. *İn vitro* koşullarda gelişmiş *E. spectabilis* M.Bieb soğancıkların; (a-c) parçalanarak MS besin ortam ortamlarına dikimi, (d) gelişmeye başlayan eksplantlar. 28

Şekil 4.5. *E. spectabilis* M.Bieb' de MS ortamında *in vitro* koşullarda soğancık iriliğinin artırılmasına yönelik 2. denemeden görüntüler; (a) 4 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA, (b ve c) 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (d) 2 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA. 30

Şekil 4.6. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS besin ortam kombinasyonlarında *in vitro* sürgün rejenerasyonu (a ve b) 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA, (c ve d) 1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA. 31

Şekil 4.7. *E. spectabilis* M.Bieb' de 1 mg/l IBA ilave edilmiş 1/2 MS ortamında *in vitro* koşullarda gelişmiş rizom benzeri yapılar. 32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler	**Açıklama**
ºC	Santigrat derece
cm	Santimetre
g	Gram
g/l	Litrede gram
mg	Miligram
mg/l	Litrede miligram
mm	Milimetre
mM	Milimol
M	Molar
µM	Mikromol
%	Yüzde

Kısaltmalar	**Açıklama**
Ag NO_3	Gümüş nitrat
BA	Benzil adenin
BAP	Benzilamino purin
BDS	Dunstan ve Short besin ortamı
B5	Gamborg besin ortamı
MS	Murashige & Skoog besin ortamı
NAA	Naftalin asetik asit
SH	Shenk and Hildebrand
WH	White besin ortamı

Kısaltmalar	Açıklama
Atm	Atmosfer
Ç	Çimlenen tohum sayısı
ÇO	Çimlenme oranı
DES	Dikilen eksplant sayısı
GA_3	Giberelik asit
IAA	Indol asetik asit
IBA	Indol butürik asit
Kn	Kinetin
NaCl	Sodyum klorür
NaOCl	Sodyum hipoklorit
OÇS	Ortalama çimlenme süresi
PH	Hidrojenin gücü
T	Kullanılan tohum sayısı
TDZ	Thidiazuron
n1, n2	Çimlenen tohum sayısı
t1, t2	Çimlenmenin gerçekleştiği gün sayısı
2,4 D	2,4-Diklorofenoksi asetik asit

1. GİRİŞ

Eremurus spectabilis M.Bieb., Liliaceae familyasından çok yıllık, otsu yapıda, tıbbi öneme sahip soğanlı bitkiler grubuna ait yabani bir bitkidir. *Eremurus* cinsi içinde yaklaşık 50 civarında tür bulunmaktadır. Kuru ve taşlık yamaçlarda dağılım gösteren *Eremurus* türlerinin, Güney Asya ve Orta Asya'da geniş yayılım gösterdiği bildirilmektedir (Wendelbo, 1982; Tuzlacı, 1985; Kamenetsky ve Akhmetova, 1994). *E. spectabilis*; antioksidantlar, fenolik bileşikler ve mineral maddeler yönünden zengin olması nedeniyle besleyici ve sağlık değeri yüksek olan bir bitkidir. Halk arasında 'çiriş', 'güllük', 'yabani pırasa', 'dağ pırasası' gibi farklı adlarla bilinmektedir. Bitki, Nisan-Mayıs aylarında dağlardan toplanmakta ve halk pazarlarında satışa sunulmaktadır. Besleyici özelliğinin yüksek olması nedeniyle, sürgünleri ve yaprakları pişirilerek sebze olarak tüketilmektedir (Tosun ve ark., 2012; Tuzcu ve ark., 2017). Bitkinin genç sürgünlerinden çirişli bulgur pilavı ve yumurtalı çiriş yapılmakta, tavuk yemeklerine ve yöresel 'Ayran aşı çorbasına' katılmaktadır. Kızartılarak tüketilebildiği gibi, haşlanarak konservesi de yapılabilmektedir. Bitkinin toprak üstü kısımları salamura edildikten sonra, yöresel 'Van otlu peynirine' katılmaktadır (Tuncer, 2018).

Bitki, bu besleyici özelliklerinin yanı sıra, tıbbi açıdan da öneme sahiptir. Kökü toz haline getirildikten sonra, elde edilen merhem, uyuz ve frengi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Yapraklarının ezilmesiyle elde edilen özsu, fungal hastalıkların ve egzamanın; köklerin kaynatılması ile elde edilen özsuyun, şeker hastalığının tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir (Tuzlacı ve Doğan, 2010). Kökleri sarılık, karaciğer bozuklukları, mide tahrişi, sivilce ve kemik kırıklarını tedavi etmek için kullanılmaktadır (Pourfarzad ve ark., 2014).

Eremurus spectabilis'de çiçeklenme Haziran-Temmuz aylarında olmaktadır. Sarı renkli, buket şeklinde cezbedici çiçeklere sahiptir. Bitki yukarıda bahsedilen besleyici ve tıbbi amaçlı kullanımının yanı sıra, gösterişli çiçeklere sahip olması nedeniyle son zamanlarda Asya orijinli diğer *Eremurus* cinsine ait türler gibi, popüler süs bitkisi geofitleri arasında yer almaktadır. Bitkinin, özellikle ılıman iklim bölgelerinde, kesme çiçek üretiminde kullanıldığı bildirilmektedir (Schiappacasse ve ark., 2012). Ayrıca bitkinin köklerinin kurutulup toz haline getirildikten sonra, sanayide

doğal yapıştırıcı (zamk) madde elde edilmesinde kullanıldığı da bildirilmektedir (Dashti ve ark., 2005; Heshmatol Vaezin ve ark., 2010; Eghtedarnejad ve Mansouri, 2016; Tuncer, 2020).

Yabani bir tür olan *Eremurus spectabilis* M.Bieb'de günümüze kadar yapılmış kültüre alma çalışmaları oldukça sınırlıdır (Güngör, 2002; Rahmanpour ve ark., 2005; Aslay ve ark., 2011; Tuncer, 2017; Keskiner ve Tuncer, 2019; Tuncer, 2020; Akdağ ve Tuncer, 2020a; Akdağ ve Tuncer 2020b). Türün çoğaltımındaki zorlukların yanı sıra, birçok değerli bitki türleri gibi, *E. spectabilis*'in doğal yaşam alanlarındaki varlığı; çevre kirliliği, kentleşme ve hasat sırasında bilinçsiz şekilde bitkinin topraktan kökleriyle sökümü nedeniyle ciddi anlamda olumsuz etkilenmektedir. Bu durum, bitkinin *in vitro* tekniklerle mikroçoğaltımını ve *in vitro* germplazm muhafazasını gerekli kılmaktadır. Bitki doğal habitatında vejetatif (kök ve rizom gövde) ya da generatif (tohumla) yolla çoğalmaktadır. Tohumla çoğaldığında, tohum ekiminden çiçeklenmeye kadar geçen süre yaklaşık 4-6 yılı bulmaktadır. Ayrıca tohumlarında dormansi görülmekte ve tohumla çoğaltım yapılabilmesi için tohumlarının uzun süreli soğuklama ihtiyacının karşılanması gerekmektedir. Vejetatif yöntemlerle (rizom ve köklerle) çoğaltım yapıldığında ise, kış aylarını toprak altında uyur halde geçiren rizom gövdeler üzerindeki gözlerden, ertesi ilkbahar döneminde sürgünler sürmekte ve bitki sökülebilecek duruma gelmektedir. Ancak bu durumda da yukarıda sayılan nedenlerden dolayı (çevre kirliliği, kentleşme, hasat sırasında bilinçsiz şekilde bitkinin topraktan kökleriyle sökümü), türü koruma altına alacak ve ileride neslinin devamını sağlayacak, germplazm muhafazasında etkin olabilecek *in vitro* tekniklerle vejetatif çoğaltım metotlarının geliştirilmesi gerekmektedir.

E. spectabilis'in tohumla çoğaltımında karşılaşılan sorunlar (tohum dormansisi), yapılan bir dizi çalışmalar sonucunda çözüme kavuşturulmuştur (Keskiner, 2017; Keskiner ve Tuncer, 2019; Akdağ, 2019; Akdağ ve Tuncer, 2020a; Akdağ ve Tuncer, 2020b). Keskiner ve Tuncer (2019) tarafından, *E. spectabilis* tohumlarında görülen dormansinin giderilmesi amacıyla tohumlara farklı uygulamalar yapılmıştır. Araştırma sonunda sadece uzun süreli soğukta (4°C, 80-100 gün) nemli katlama uygulamalarından cevap alınabilmiş, *in vitro* çimlendirme denemelerinden ise olumlu sonuç alınamamıştır.

Akdağ ve Tuncer (2020a), *E. spectabilis* M.Bieb'in tohumlarında, çimlenme için gerekli olan soğukta nemli katlama süresini kısaltabilmek, çimlenme ve çıkış performansını artırmak amacıyla, tohumlara soğukta nemli katlama uygulamaları ile birlikte farklı uygulamaları kombine olarak uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, tohum ucu kesme uygulamaları + soğukta nemli katlama uygulamaları kombinasyonundan oldukça olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu uygulama kombinasyonunda, uçları kesilmiş tohumlarda 30 günden daha kısa süreli (20-25 günde) soğukta nemli katlama uygulamalarından kısa sürede yüksek oranda çimlenmeler elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlar, tohumdan *in vitro* koşullarda çoğaltımın ilk aşaması olan *in vitro* çimlendirme çalışmaları için oldukça umutvar bulunmuştur.

Akdağ ve Tuncer (2020a)'nin yapmış oldukları çalışma sonuçları dikkate alınarak, Tuncer (2020) tarafından türün ileride germplazm muhafazası ve devamlılığını sağlamak amacıyla, *E. spectabilis* M.Bieb'nin *in vitro* rejenerasyon üzerine dünya literatüründe ilk olan kapsamlı bir çalışma yapılmıştır. Yapılmış olan bu çalışmada, uçları kesilmiş *E. spectabilis* tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi kısa sürede sağlanmış, *in vitro* çimlenme ve çıkış denemelerinden başarılı sonuçlar alınmıştır. Araştırıcı yapmış olduğu çalışmada, *in vitro* koşullarda geliştirilmiş steril bitkiciklerden, MS besin ortamında 36 farklı hormon kombinasyonunda, ortam bileşimlerine göre değişen oranlarda *in vitro* soğan üretimi gerçekleştirildiğini bildirmiştir.

İn vitro doku kültürü teknikleri; doğada yok olma tehlikesi altında bulunan, nadir endemik bitkiler, kültüre alınmayan yabani bitkiler, tıbbi, aromatik ve ekonomik öneme sahip olan türlerin gelecekte korunması ve çoğaltılması amacıyla yaygın olarak kullanılan tekniklerdir. *İn vitro* rejenerasyon çalışmalarında, ilgili türde uygun protokol geliştirildiği takdirde, o türün hızlı klonal çoğaltımının yapılabilmesine olanak sağlanmaktadır.

Tuncer (2020), *E. spectabilis* M.Bieb'de dünya literatüründe *in vitro* rejenerasyon üzerine ilk defa yapılmış olan çalışmasında, etkili *in vitro* rejenerasyon protokollerinin geliştirilebilmesi için, ileride bu türde yapılacak *in vitro* çoğaltım çalışmalarında, kendi çalışmasında kullanmış olduğu besin ortam kombinasyonlarının yanı sıra başka hormon kombinasyonlarının da modifiye edilip geliştirilmesinin faydalı olacağını belirtmiştir.

Bu amaçla, burada yapılan bu çalışma, Tuncer (2020) tarafından yapılan çalışmanın devamı niteliğindedir. Tuncer (2020)'nin yapmış olduğu çalışmadan farklı olarak; yapılacak olan bu çalışmada, Tuncer (2020) tarafından umutvar bulunan MS besin ortam kombinasyonlarına ilaveten farklı besin ortam kombinasyonları da deneme planına alınmıştır. Bu sayede hızlı klonal *in vitro* soğan üretim olanakları araştırılacak ve *in vitro* koşullarda elde edilen soğancık iriliğinin artırılması yoluna gidilecektir. Çalışma kapsamında tohumların *in vitro* çimlendirilmesi, *in vitro* soğancık üretimi, sürgün rejenerasyonu, soğancık iriliğinin artırılması ve rizom benzeri yapıların elde edilmesine yönelik araştırmalar yer almakta ve bunların yapılması amaçlanmaktadır.

Bu amaçlar doğrultusunda, elde edilen sonuçlar sayesinde, 1 generasyondan daha kısa sürede *E. spectabilis* M.Bieb'de, *in vitro* koşullarda klonal çoğaltım sağlanacak ve önemli olan bu yabani türün *in vitro* koşullarda kültüre alma çalışmalarına katkıda bulunulacaktır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Liliaceae familyasına ait olan çiriş (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)'de yapılan *in vitro* rejenerasyon çalışmaları, Tuncer (2017) ve Tuncer (2020) tarafından yapılan çalışmalar dışında dünya literatüründe bulunmamaktadır. Burada sunulan çalışmada, ilgili türde literatür sayısının kısıtlı olması nedeniyle, çiriş (*Eremurus spectabilis* M.Bieb)'in de içinde yer aldığı Liliaceae familyasına giren soğanlı türler ile farklı familyalara ait ancak soğan yapıları *E. spectabilis* M.Bieb ile benzerlik gösteren diğer türlerde yapılmış olan *in vitro* rejenerasyon çalışmalarına yer verilmiştir.

2.1. *Eremurus* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Eremurus türlerinde *in vitro* rejenerasyon üzerine yapılmış olan dünyada sadece 2 çalışmanın mevcut olduğu tespit edilmiştir.

İlk çalışma Tuncer (2017) tarafından, 3 farklı yabani türde (*Ferula orientalis* L., *Chaerophyllum macrospermum* (Spreng.) Fisch. & C.A.Mey. ve *Eremurus spectabilis* M.Bieb)'de yapılmıştır. Araştırıcı, *E. spectabilis*'de yaprak ve rizom eksplantlarını, MS ortamında sadece 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) (0.5–2.0 mg/l) veya 6-benzilaminopürin (BAP) (1.0–2.0 mg/l) + 2,4-D (0.5–2.0 mg/l) içeren kombinasyonlarda kültüre aldığında, hiçbir ortam bileşiminden sürgün elde edilemediğini bildirmiştir.

Tuncer (2017)'nin yapmış olduğu ilk çalışmayı takiben, *E. spectabilis*'de dünyada ilk kapsamlı çalışma ise yine Tuncer (2020) tarafından yapılmıştır. Tuncer (2020), uçları kesilmiş *E. spectabilis* tohumlarını, *in vitro* koşullarda Murashige and Skoog (MS), Gamborg (B5), White (WH) ve Shenk and Hildebrandt (SH) olmak üzere 4 farklı besin ortamında çimlendirmiştir. Araştırıcı, *in vitro* koşullarda soğancık ve/veya sürgün oluşumunu uyarmak için, *in vitro* çimlenmiş 35-40 günlük bitkiciklerin hipokotil kısımlarını 0.5-1.0 cm uzunluğunda keserek, MS ortamında 2,4-D (0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/l) + Kinetin (0.5 mg/l), Thidiazuron (TDZ) (0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/l) + 1-Naftelenasetik asit (NAA) (0, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l), BAP (0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/l) + 2,4-D (0, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l) olmak üzere toplam 36 farklı hormon kombinasyonunda

kültüre almıştır. Araştırma sonucunda, *in vitro* çimlenme denemelerinde, çimlenme oranı (%57.49) ve ortalama çimlenme süresi (3.69 gün) bakımından en iyi sonuç B5 ortamından alınmıştır. *İn vitro* rejenerasyon denemesi sonucunda, MS ortamında TDZ (0.5 mg/l) ve NAA (0.5 ve 0.1 mg/l) içeren kombinasyonlarında % 100 oranla soğancık oluşumları görüldüğü, bu ortam bileşimlerini yalnızca 0.5 mg/l BAP (%81.3) içeren ortam bileşiminin izlediği belirtilmiştir. Yine aynı ortam kombinasyonlarında sürgün oluşum oranı %60-70, eksplant başına sürgün sayısı ise 1.4–2.4 adet arasında tespit edilmiştir. Araştırıcı, ileride bu türde yapılacak *in vitro* çoğaltım çalışmalarında, soğan iriliğinin artırılmasına yönelik farklı hormon kombinasyonlarının da denenmesinin faydalı olacağını belirtmiştir.

2.2. *Aloe* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Aloe türleri tıbbi özellikleri ve ticari önemleri nedeniyle dünyada yaygın olarak üretilmektedir. Suh ve ark. (2015), *Aloe arborescens* türünün *in vitro* koşullarda düşük rejenerasyon olanağına sahip olduğunu, bu durumu ortadan kaldırmak için besin ortamına etilen inhibitörü olan gümüş nitrat ($AgNO_3$)'ın uygulanabileceğini bildirmişlerdir. Bu amaçla, *Aloe arborescens*'in meristem uçlarını BAP veya kinetin içeren MS ortamında kültüre almışlar, en yüksek sürgün rejenerasyonunun (3.9 sürgün/eksplant), 1 mg/l BAP ilave edilmiş ortamdan sağlandığını, aynı ortama 10 mg/l $AgNO_3$ katıldığında ise eksplant başına 5.6 adet sürgün oluşumunun gözlendiğini bildirmişlerdir.

Choudhary ve ark. (2011), Liliaceae familyasına ait bir tür olan *Aloe vera* L.'nın tıbbi bir bitki olarak önem taşıdığını, ancak bitkide görülen erkek kısırlığı nedeniyle büyüme oranının zor olduğunu bildirmişlerdir. 1-2 cm uzunluğundaki sürgün uçlarını *in vitro* koşullarda kültüre aldıklarında, en iyi kallus oluşumunun 0.5 mg/l kinetin ve 2,4-D ilavesi yapılmış MS ortamından elde edildiğini, sürgün oluşturma yönünden ise BAP (1.0 mg/l) + NAA (0.5 mg/l) ortamının daha başarılı olduğunu belirlemişlerdir.

Razib ve ark. (2016), *Aloe vera* L.'de sürgün ucu eksplantlarını 2.0 mg/l Benziladenin (BA) + 0.5 mg/l NAA + 40.0 mg/l Ads ilave edilmiş MS ortamında kültüre aldıklarında, %90 oranında sürgün elde edildiğini, kültürün 120. gününde eksplant başına ortalama sürgün sayısının 36.70 adet, ortalama sürgün uzunluğunun ise

10.60 cm olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar ayrıca, en iyi köklenme oranının 1.0 mg/l içeren 1/2 MS ortamından sağlandığını ve bu ortamdan sürgün başına 12.60 adet kök elde ettiklerini, ortalama kök uzunluğunun ise 6.90 cm olduğunu saptamışlardır.

Saggoo ve Kaur (2010), *Aloe vera* L.'de, kallus uyartımı için, sürgün parçalarını MS ortamında farklı hormon konsantrasyonlarında kültüre almışlardır. Kallus uyartımı için 1mg/l 2, 4-D+ 0.2 mg/l kinetin, sürgün rejenerasyonu için ise; MS + 0.2 mg/l BA + 0.2 mg/l indol-3-butürik asit (IBA) içeren ortamın daha başarılı olduğunu, elde edilen sürgünlerden, maksimum kök rejenerasyonunun ise 0.3 mg/l NAA içeren MS ortamından sağlandığını bildirmişlerdir.

Molsaghi ve ark. (2014), *Aloe vera* Linn. (Liliaceae)' de, sürgün ucu ekplantlarını MS ortamında kültüre aldıklarında, maksimum sürgün rejenerasyonunun, 1 mg/l indol asetik asit (IAA) + 4 mg/l BAP (%58.88) ile 0.2 mg/l IAA + 0.8 mg/l BAP (% 48.03) ortamından sağlandığını saptamışlardır.

Garro-Monge ve ark. (2008), *Aloe barbadensis* Mill'de farklı eksplant tiplerinde, % 4'lük sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde farklı dezenfeksiyon sürelerinin (2, 3, 4, 5 10 ve 15 dakika) etkisini araştırdıklarında, en yüksek canlılık oranı (% 85) ve en düşük kontaminasyonun (% 15) 5 dakika NaOCl çözeltisinde bekletme uygulamasından elde etmişlerdir. Araştırıcılar, kültüre aldıkları tüm eksplant tiplerinden (yaprak, zigotik embriyo ve apikal meristem) gevşek yapılı kalluslar elde ettiklerini, en yüksek kallus oluşum oranının (%89) ise, yaprak eksplantlarından 2.5 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP + 40 mg/l adenin sülfat ilave edilmiş MS ortamından sağlandığını bildirmişlerdir. Sürgün sayısı bakımından en başarılı ortam; zigotik embriyo kökenli kallusların kültüre alındığı, MS + 0.05 mg/l 2,4-D + 2 mg/l BAP ortamı olmuştur.

Jakhar ve ark. (2012), *Aloe barbadensis* Mill.'de genç yapraklı mikro sürgünleri farklı konsantrasyonlarda sitokinin (BAP/Kinetin) ve oksin (NAA/2,4-D) katkısı yapılmış MS ortamında kültüre almışlardır. Maksimum sürgün rejenerasyonunun 0.5 mg/l BAP içeren ortamdan, kallus oluşumunun ise 0.5 mg/l Kn + 2.0 mg/NAA ilave edilmiş ortamdan sağlandığını bildirmişlerdir.

Sharma ve ark. (2015), *Aloe vera* L.'da genç sürgün uçlarını (1-1.5 cm), 2 mg/l BAP, 0.5 mg/l kinetin ve 0.2 mg/l NAA ilave edilmiş; kontrol ortamı (MS+30 g sakkaroz+8 g agar/l) ve düşük maliyetli ortamda (MS + 30 g sofra şekeri + 100 g nişasta granülü) kültüre almışlardır. Ortamlardan sırasıyla % 81.66 ve % 79.33 oranlarla

sürgün rejenerasyonu sağlamışlardır. Elde edilen sürgünlerin çoğaltımı amacıyla her iki ortama da BAP (2 mg/l) ve kinetin (2 mg/l) ilavesi yapmışlardır. Araştırıcılar, kontrol ve düşük maliyetli ortamdan sırasıyla %81.99 ve %81.80 oranla sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. 1/4 MS + 30 g sakkaroz + 8 g/l agar ortamında %77.67 oranla köklenme, 1/4 MS + 30 g sofra şekeri +100 g nişasta granülü ortamından ise %78 oranla kök elde ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırıcılar, düşük maliyetli ortamın kontrol ortamının yerine kullanılabileceğini belirlemişlerdir.

Bairu ve ark. (2007), bitki doku kültürü çalışmalarında sitokinin grubu hormonlardan BA'nın sıklıkla kullanıldığını, ancak bu hormonun bitki genetik yapısında değişikliğe neden olarak anormal bitki gelişimine neden olduğunu, doğal bir sitokonin olan zeatin hormonunun ise daha pahalı olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmadığını bildirmişlerdir. Hormonların olumsuz etkisini engellemek amacıyla, bu hormonların yerine meta-topolin ve türevlerini kültür ortamına ilave etmişlerdir. Araştırıcılar, *Aloe polyphylla*'nın tohumlarını, MS ortamında farklı konsantrasyonlarda sitokinin (5, 0.5, 0.05, 0.005 ve 0.0005 mM) veya meta-topolin (0.0, 0.5, 2.5, 5.0, 7.5 ve 15.0 mM) düzeylerinde %1 agar ortamında kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda, meta-topolin türevlerinin (5.0 mM) hem sürgün hem de kök rejenerasyonu bakımından sitokinin ilavesi yapılmış ortamlardan daha başarılı olduğu saptanmıştır.

Baskaran ve ark. (2015), *Aloe pruinosa*'da sürgün ucu ve yaprak eksplantlarını MS ortamında BA, IAA ve phloroglukinol içeren hormon kombinasyonlarında kültüre almışlardır. Eksplant başına en yüksek sürgün rejenerasyonu (15.4 sürgün) MS + 5 µM BA + 4 µM IAA ortamından elde edilmiştir. 1/2 MS + 2 µM IBA + 40 µM phloroglukinol içeren ortamda ise maksimum köklenme (8.6 kök/sürgün) sağlandığı bildirilmiştir.

2.3. *Allium* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Alizadeh ve ark. (2013), Güneydoğu ve Orta Asya'da geniş yayılım gösteren, tedavi amaçlı kullanılan ve yaprakları tüketilen frenk soğanında (*Allium tuberosum* Rottl. ex Sprang) *in vitro* mikroçoğaltım protokolünü geliştirmek amacıyla, *in vitro* koşullarda geliştirilmiş 1 haftalık fideciklerinden aldıkları mezokotil eksenlerini, MS ortamında farklı bileşimlerde TDZ + NAA, TDZ + 2,4-D ve BAP + IBA hormon

kombinasyonlarında kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda, eksplant başına maksimum soğancık oluşumunun (7.2 soğan), 1 mg/l BAP + 2 mg/l IBA içeren ortamdan elde edildiğini, 0.5 mg/l IBA içeren MS ortamında ise köklenmenin kolay olduğunu bildirmişlerdir.

Salam ve ark. (2010), sarımsak (*Allium sativum* L.) dişlerini, MS ortamında çimlendirmişler ve çimlenmiş fideciklerden elde edilen yaprak disklerini kallus oluşumu için, MS ortamında farklı konsantrasyonlarda 2,4-D (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mg/l) içeren ortamlara dikmişlerdir. En yüksek oranda kallus oluşumunun (%71.42), 1.0 mg/l 2,4-D içeren ortamdan elde edildiğini, kalluslardan en yüksek sürgün rejenerasyonun (% 71.42) ise; BA (1.0 mg/l) + NAA (1.0 mg/l) ilave edilmiş MS ortamından sağlandığını belirtmişlerdir.

Monemi ve ark. (2014), Liliaceae familyasından İran şallotu aynı zamanda pırasa olarak adlandırılan *Allium ampeloprasum*'da, tohumları *in vitro* olarak hormonsuz MS ortamında çimlendirmişlerdir. Steril fidelerden elde edilen yaprak eksplantlarını, MS ortamında 2,4-D (0.1, 0.5 mg/l), BAP (0.1, 0.5 mg/l) ve kinetin (0.5 mg/l) içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Kallus oluşumu için en iyi ortam bileşiminin MS + 0.5 mg/l 2, 4–D + 0.1 mg/l BAP ile MS + 0.5 mg/l kinetin + 0.1 mg/l 2, 4–D ortamları olduğunu saptamışlardır.

Hailekidan ve ark. (2013), şallot grubu soğanda (*Allium cepa* var. *aggregatum) in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, maksimum kallus oluşumunu (% 81.11), basal disklerden 1mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS ortamından, maksimum kallus ağırlığını ise MS + 2,4-D (1 mg/l) + BAP (1 mg/l) kombinasyonundan elde etmişlerdir. En yüksek sürgün rejenerasyonunu (%91.11), MS + BAP (5 mg/l) + NAA (0.1 mg/l) ortamından, optimum kök oluşumunu ise (%86.66) ise MS + IBA (1.5 mg/l) + BAP (2 mg/l) kombinasyonundan sağlamışlardır.

Yanmaz ve ark. (2010), yok olma tehtidi altında bulunan Tunceli sarımsağında (*Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthews, Siraneci), MS ortamında düşük dozda IAA (0.1 mg/l) ve BA (0.1 mg/l) içeren ortamda, eksplant başına 1-2 adet sürgün elde etmişlerdir.

Kızıl ve ark. (2014), Tunceli sarımsağında *in vitro* çoğaltım protokolü geliştirmek amacıyla farklı eksplant tiplerinde yaptıkları çalışmada, soğan rejenerasyonu için en uygun eksplant tipinin kök uçları, besin ortamının ise MS + BAP

(5 mg/l) + NAA (0.5 mg/l) olduğunu belirtmişlerdir. Wawrosch ve ark. (2001) tarafından, tıbbi ve baharat bitkisi *A. wallichii*'de, en yüksek sürgün oluşumunun 20 mM zeatin ilavesi yapılmış MS ortamından elde edildiği, en iyi köklenme ortamının ise 1/2MS + IAA (10 µM) olduğu saptanmıştır.

Kozak ve Stelmaszczuk (2013), süs bitkisi olarak kullanılan *A. aflatunense*'de, yaprak tabanı eksplantlarını, MS ortamında 1 mg/l NAA içeren BA (2 mg/l ve 5 mg/l) ile TDZ (1 mg/l) içeren kombinasyonlarda kültüre aldıklarında adventif sürgün sayısının 3.1-5.4 adet, sürgün boyunun ise 7.4-8.3 mm arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kwon ve ark. (2018), *Allium ampeloprasum* L.'nın olgunlaşmamış brakte yapraklarından en yüksek sürgün sayısının (14.9 adet), 2 mg/l kinetin ve 0.5 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamından elde edildiğini saptamışlardır. Araştırıcılar, soğan parçalarını aynı ortam kombinasyonuna 30 mg/l adenine ilavesi yapılmış MS ortamında kültüre aldıklarında, soğancık çoğalması ve büyümesinin hızlandığını (%48) ve besin ortamına %7 sakkaroz ilavesinin soğancık oluşumunu (%98.2) artırdığını bildirmişlerdir. Kaska ve ark. (2016), *A. ampeloprasum* L.'de, açmamış çiçek tomurcuklarından en yüksek sürgün rejenerasyonunu (%6), 2 mg/l BAP ve 100 g/l sakkaroz ilavesi yapılmış Dunstan ve Short besin (BDS) (Dunstan ve Short, 1977) ortamından elde etmişlerdir.

Chauhan ve ark. (2015), *Allium hookeri*'nin soğan parçalarından, en yüksek oranda soğan oluşumunun (%91.66) ve sürgün uzunluğunun (8 cm), 1.5 mg/l BA ilavesi yapılmış MS ortamından elde edildiğini, köklenme yönünden ise en iyi ortamın MS + 1.5 mg/l BA + 0.5 mg/l IBA olduğunu bildirmişlerdir.

2.4. *Lilium* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Kedra ve Bach (2005), *Lilium martagon* L.'de *in vitro* çimlendirilmiş fidelerden aldıkları farklı kısımları (hipokotil, kök ve fide soğanlarını, adventif soğancıkları) eksplant olarak kullanmışlardır. Farklı eksplant tiplerini kültüre aldıklarında pikloram ilave edilmiş ortamlarda sarı renkli, gevşek ve granül yapılı kalluslar elde edildiğini, yalnız BA ilave edilmiş ortamlarda ise kompakt yapılı, krem-beyaz renkli kallusların, BA+Picloram içeren MS ortamında ise sarı renkli, kompakt yapıda granül kallusların

elde edildiğini gözlemlemişlerdir. Araştırıcılar ayrıca, ekspant olarak fide soğanları ve adventif soğancıklar daha başarılı olduğunu, embriyonik kallus oluşumu açısından ise en başarılı ortamın BA (5 µM) + Picloram (5 µM) katılmış MS ortamı olduğunu bildirmişlerdir.

Mao ve ark. (2002), tehlike altındaki nadir endemik bir tür olan *Lilium mackliniae* Sealy (Liliaceae)'de, dış koşullardan alınan olgun soğan parçalarının yanı sıra *in vitro* çimlenmiş 1 aylık fideciklerden alınan kotiledon eksplantları ile 4-5 aylık *in vitro* gelişmiş fidelerden elde edilen kök ve yaprak parçalarını eksplant olarak kullanmışlardır. Eksplantları MS ortamında farklı dozlarda NAA ve BA içeren ortamlarda kültüre aldıklarında, maksimum soğan oluşumunun (5 soğancık/eksplant) yalnızca NAA (0.54 µM) içeren ortamdan elde edildiğini saptamışlardır.

Bakhshaie ve ark. (2010), yok olma tehlikesi altında olan *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss.'de somatik embriyogenesis çalışmaları yürütmüşlerdir. Eksplant olarak, soğan parçalarından aldıkları ince hücre katmanlarını kullanmışlardır. Soğan parçacıklarını, farklı konsantrasyonlarda BA (0, 0.44, 2.22 µM), NAA (0, 0.54, 2.69 µM) ve TDZ (0, 0.45, 2.27 µM) içeren MS ortamında (%3 sakkaroz, %0.8 agar) karanlık koşullarda kültüre almışlardır. 3 ay sonra BA ve NAA içeren ortamlarda embriyo benzeri yapılar gözlemlemişlerdir. Maksimum embriyo oluşumunun (% 65.55), 0.54 µM NAA ve 0.44 µM BA içeren MS kombinasyonundan sağlandığını belirtmişlerdir.

Haibin ve Jiajun (2006), *L. lancifolium*'de, dış, orta ve iç kısımlardan aldıkları soğan parçalarını, MS ortamında kültüre aldıklarında, eksplant olarak dış kısımdan alınan soğan parçalarının daha başarılı olduğunu, MS + BA (1.5 mg/l) + NAA (0.2 mg/l) ortamından çok sayıda güçlü sürgünlerin elde edildiğini, en iyi çoğaltım ortamının ise MS + BA (1 mg/l) + NAA (0.2 mg/l) olduğunu saptamışlardır.

Ault ve Siqueira (2008), *Lilium michiganense*'de *in vitro* sürgün, kök ve kallus rejenerasyonu üzerine araştırma yapmışlardır. Bu amaçla, tohumları MS ortamında (7 g/l agar, 30 g/l sakkaroz), 20°C sıcaklık, 14 saat fotoperiyot düzeninde *in vitro* çimlendirmişlerdir. 5-5.5 ay sonra fidelerden yaprak ve kökler ile soğan parçalarını keserek, dikamba (0.0, 1.0, 2.0, 4.0 ve 8.0), pikloram, K-NAA veya 2,4-D içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Uygulamalardan 4 ay sonra; dikamba, picloram ve K-NAA içeren ortamlarda, kontrol (2.5 sürgün/eksplant) grubuna göre daha yüksek sürgün

oluşumunun teşvik edildiğini bildirmişlerdir. Ekplant başına maksimum sürgün rejenerasyonu (7.9 sürgün), sırasıyla 4.0 µM K-NAA ve 1.0 µM dicamba içeren ortamlardan sağlanmıştır. Araştırma sonucunda, kök ve kallus oluşumunun hormon gruplarına göre önemli farklılık gösterdiği, hormon kullanımının kök oluşumunu kontrol grubuna (% 100) göre engellediği, buna karşın hormon kullanımının kallus oluşumunu kontrol grubuna (% 19) göre teşvik ettiği belirlenmiştir. Tang ve ark. (2009), *L. longiflorum*'nın yaprak eksplantlarını, MS ortamında farklı dozlarda BAP (0.1 mg/l) ve NAA (0.5 ve 2.0 mg/l) içeren ortamlarda kültüre aldıklarında, bütün ortam kombinasyonlarında direkt soğan oluşumu olduğunu, ortamdaki sakkaroz dozunun artmasıyla soğan genişliğinin arttığını, 0.2 mg/l NAA içeren ortamda ise köklerin oluştuğunu bildirmişlerdir. Yang ve ark. (2010), *L. tsingtauense*'da soğan parçacıklarını, MS + 0.1 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA ortamında kültüre aldıklarında, adventif sürgünlerden 52 adet bitkicik elde edildiğini, 0.1 mg/l NAA + 2.0 mg/l TDZ içeren MS ortamında 2 adet bitkiciğin, 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D içeren ortamda ise bitkicik elde edilemediğini saptamışlardır. Sun ve Jin (2011), *L. longiflorum*'da soğan parçacıklarını, MS ortamında 10 hormon kombinasyonunda kültüre aldıklarında, sürgün oluşumu yönünden en iyi ortamın 2 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA ilave edilmiş ortam olduğunu bildirmişlerdir. Zhang ve Jia (2014) yaptıkları çalışmada, *Lily* (cv. Siberia)'nin soğan parçacıklarından en yüksek oranda sürgün rejenerasyonunun (% 88.91), 1.07 µM NAA, 4.44 µM BA ve 30 g/l sakkaroz ilave edilmiş MS ortamından elde ettiklerini bildirmişlerdir.

2.5. *Fritillaria* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Mohammadi-Dehcheshmeh ve ark. (2007), yok olma tehlikesi altında bulunan ve soğanlı bir bitki olan *Fritillaria imperalis*'de, somatik embriyogenesisi uyartım amacıyla, petal eksplantlarını farklı konsantrasyonlarda BAP, NAA ve IAA içeren Gamborg besin ortamında (B5) (Gamborg ve ark., 1968) kültüre almışlardır. Soğancık oluşumu (6 soğancık/embriyonik kallus) için en iyi besin ortam kombinasyonunun 0.1 mg/l BAP + 0.6 mg/l NAA + 0.4 mg/l IAA içeren ortam olduğu belirlenmiştir.

Çakmak ve ark. (2016), Liliaceae familyasına ait bir tür olan *Fritillaria persica'*da *in vitro* çimlenme ve soğancık rejenerasyonu üzerine yaptıkları çalışmada,

4°C'de 2-3 ay süreyle bekletilen tohumlarda *in vitro* çimlenme oranlarını sırasıyla, %86.7 ve % 96.7 olarak tespit etmişlerdir. Çimlenmenin ardından *in vitro* gelişmiş fideciklerden alınan soğan eksplantlarını 0.5-2.0 mg/l thidiazuron (TDZ) içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Maksimum soğan rejenerasyon oranı ve eksplant başına soğancık oluşumu 2.0 mg/l TDZ ilave edilmiş ortamdan sağlanmıştır. *İn vitro* çimlenmiş fidelerden alınan yaprak eksplantlarını ise; 2, 4-D (2-6 mg/l) ve 0.2 mg/l kinetin olan MS ortamında kültüre aldıklarında, en yüksek oranda soğan oluşumunun 2 mg/l 2, 4-D ve 0.2 mg/l kinetin ilave edilmiş ortamdan elde edildiğini belirtmişlerdir. Araştırıcılar ayrıca, *in vitro* gelişmiş soğancıkları olgunlaştırmak ve güçlendirmek amacıyla iki farklı uygulamaya tabi tutmuşlardır. İlk uygulamada, 16 hafta süreyle 1.5 g/l agar ve 1.6 g/l gelrite içeren ortamda maksimum soğan çapı ve yüksek sayıda köklenme sağladıklarını, ikinci uygulamada ise soğancıkların 10 g/l NaCl ilave edilmiş MS ortamında 15 gün boyunca bekletilmesinin köklenme, yaprak oluşumu ve sekonder soğan oluşumu üzerine oldukça olumlu etki yaptıklarını saptamışlardır. Araştırıcılar ayrıca, dış koşullara alıştırma aşamasından önce *in vitro* gelişmiş soğancıkların 10 g/l NaCl ve 20 g/l sakkaroz içeren ortamda 4°C'de 2 ay süreyle bekletilmesinin faydalı olduğunu da vurgulamışlardır.

2.6. *Chlorophytum* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Lattoo ve ark. (2006), yok olma tehditi altında bulunan ve tıbbi bitki olarak önem taşıyan *Chlorophytum arundinaceum'*da, sürgün uçlarını MS ortamında, BAP, kinetin ve farklı oksin grubu hormon kombinasyonları içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda optimum rejenerasyon oranının (%87, 2.77 sürgün/eksplant), $4x10^{-6}$ M kinetin + $2x10^{-6}$ M IBA içeren MS ortamından sağlandığını belirlemişlerdir. Elde edilen sürgünlerin çoğaltımında ise; $1x10^{-5}$ M kinetin + $5x10^{-6}$ M IBA içeren MS ortamının (18.74 sürgün/kültür, 7.6 cm sürgün uzunluğu) daha başarılı olduğunu saptamışlardır. Kemat ve ark. (2010), *Chlorophytum borivilianum'*da, genç sürgün eksplantlarını, farklı konsantrasyonlarda BAP (1, 3, 5, 10, 15 mg/l) ve kinetin (1, 3, 5, 10, 15 mg/l) içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Kültürlerden 28 gün sonra, en yüksek sürgün rejenerasyonu (18.9 sürgün/eksplant) ve ortalama sürgün

uzunluğunun (6.0 cm), 3 mg/l BAP ilave edilen ortamdan sağlandığını, köklenme ortamı olarak ise 1 mg/l IBA katılan ortamın daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

2.7. *Muscari* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Özel ve ark. (2015), endemik bir tür olan *Muscari muscarimi* Medikus'da, soğan eksplantlarını 4.44, 8.88, 17.76 µM BAP ve 2.685, 5.37, 10.74 µM NAA içeren 1xMS ortamında kültüre almışlardır. Maksimum soğan oluşumunun, 19 adet aksiler soğancık/eksplant ve 16 adet adventif soğancık/eksplant olarak sırasıyla MS + 17.76 µM BAP + 10.74 µM NAA ve 17.76 µM BAP + 2.685 µM NAA içeren ortamlardan elde ettiklerini bildirmişlerdir. Elde edilen soğanların 1xMS + 4.9 µM IBA ortamında kolayca köklendirildiğini, soğan çapının ise MS + 4.44 µM BAP + 5.37 µM NAA içeren ortamda artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Özdemir ve ark. (2017), *Muscari aucheri* (Boiss.) Baker'da gövde eksplantlarından *in vitro* soğan üretimini araştırmışlardır. Bu amaçla, gövde eksplantlarını MS ortamında TDZ (1, 3 ve 5 mg/l) ve NAA içeren (0, 0.1, 0.2 ve 0.4 mg/l) toplam 12 ortam kombinasyonda kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda gövde eksplantlarından direkt soğan rejenerasyonu sağladıklarını, MS + 3 mg/l TDZ + 0.4 mg/l NAA içeren ortamda % 100 soğan elde ettiklerini, MS + 5 mg/l TDZ + 0.2 mg/l NAA içeren ortamda ise eksplant başına ortalama soğancık sayısının (37.3 adet/eksplant) daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Soğancıkların, 40 g/l sakkaroz içeren MS ortamında kültüre alınarak, çaplarının artırılması ve köklendirilmesi sağlanmıştır.

2.8. *Scilla* Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Kamaleswari ve ark. (2016), Liliaceae familyasından *Scilla hyacinthina'*da, yaprak ve soğan parçaçıklarını eksplant olarak MS ortamında kültüre aldıklarında, soğan eksplantlarında maksimum sürgün sayısının (13.2 adet) 2 mg/l TDZ katılmış ortamdan, yaprak eksplantlarında ise 2 mg/l BAP (13.4 adet) katılmış ortamdan elde edildiğini saptamışlardır. Sürgün boylarının uzatılmasında ise; en yüksek sürgün uzunluğunu (6.5 cm) 1.5 mg/l GA_3 katılmış ortamdan, kök rejenerasyonunun ise 1/2

MS + 1.5 mg/l IAA ortamından elde etmişlerdir. Banciu ve ark. (2010), Romanya'da tehlike altında olan ve kırmızı listede yer alan *Scilla autumnalis* L., tohumlarını MS + 5 mg/l GA_3 ortamında çimlendirdiklerinde % 95 oranında çimlenme elde ettiklerini, hormon ilave edilmemiş MS ortamında ise 14.9 adet sürgün elde ettiklerini, maksimum köklenme oranının (% 100) ise MS + 1.8 mg/l IAA + 0.022 mg/l kinetin içeren ortamdan sağlandığını bildirmişlerdir.

Özdemir ve ark. (2016), doğal habitatlarında 4-5 yılda gelişen *Scilla siberica* subsp. *armena* soğanlarında, *in vitro* koşullarda soğan oluşumunu hızlandırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, çiçek sapı ve soğan parçacıkları ekspantlarını MS ortamında TDZ (0.25, 0.5, 1 ve 2 mg/l) ve 2,4-D (0.1, 0.2 mg/l) içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Araştırıcılar, soğan eksplantlarının, tüm ortam kombinasyonlarında yoğun enfeksiyon göstermesi nedeniyle denemeden çıkartıldığını, çiçek sapı eksplantlarından direkt soğan rejenerasyonunun sağlandığını bildirmişlerdir. Maksimum soğancık sayısı ve çapının MS + TDZ (1 mg/l) + 2,4-D (0.2 mg/l) ortamından elde edildiğini, elde edilen soğancıkların ise 40 mg/l sakkaroz katılmış ortamda çaplarının artırıldığını ve köklendirildiğini bildirmişlerdir.

2.9. Diğer Liliaceae Familyası Türlerinde Yapılmış Çalışmalar

Venkatachalam ve ark. (2012), Liliaceae familyasından kanser önleyici önemli bir tıbbi bitki olan *Gloriosa superba* L.'da, tuber eksplantlarını sürgün rejenerasyonu için farklı konsantrasyonlardaki BAP (1, 2, 3, 4 mg/l), kinetin (0.5 mg/l) + BAP (1, 2, 3 mg/l) ve 2,4-D (1, 2, 3 mg/l) içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Kültürlerden 3 hafta sonra en yüksek sürgün rejenerasyonu (%80.2, 6.2 sürgün/eksplant), BAP (2 mg/l) + kinetin (0.5 mg/l) ilave edilmiş MS ortamından sağlanmıştır. Sürgünlerin köklendirilmesinde ise en başarılı ortamının, 1 mg/l IBA katılmış 1/2 MS ortamı olduğunu belirtmişlerdir. Ulukapı ve ark. (2014), Liliaceae familyasına ait yabani bir bitki olan *Asparagus stipularis* Forssk'de, etkili *in vitro* çoğaltım tekniğini geliştirmek amacıyla çiçek tomurcukları ve apikal tomurcukları MS ortamında BAP ve NAA içeren hormon kombinasyonlarında kültüre almışlardır. Eksplant başına en fazla sürgün rejenerasyonu, apikal tomurcuk eksplantlarının kültüre alındığı MS + BAP (2 mg/l) + NAA (0.5 mg/l) içeren kombinasyon olmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırma, 2019-2020 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan *E. spectabilis* M.Bieb tohumları, Van ili Gürpınar ilçesi Kırkgeçit Köyü'nden temin edilmiştir. Tohumlar hasat edildikten sonra, deneme kuruluncaya kadar buzdolabında hava ve nem almayan tüpler içerisinde kuru koşullarda saklanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Tohumların ve çalışma ortamının sterilizasyonu

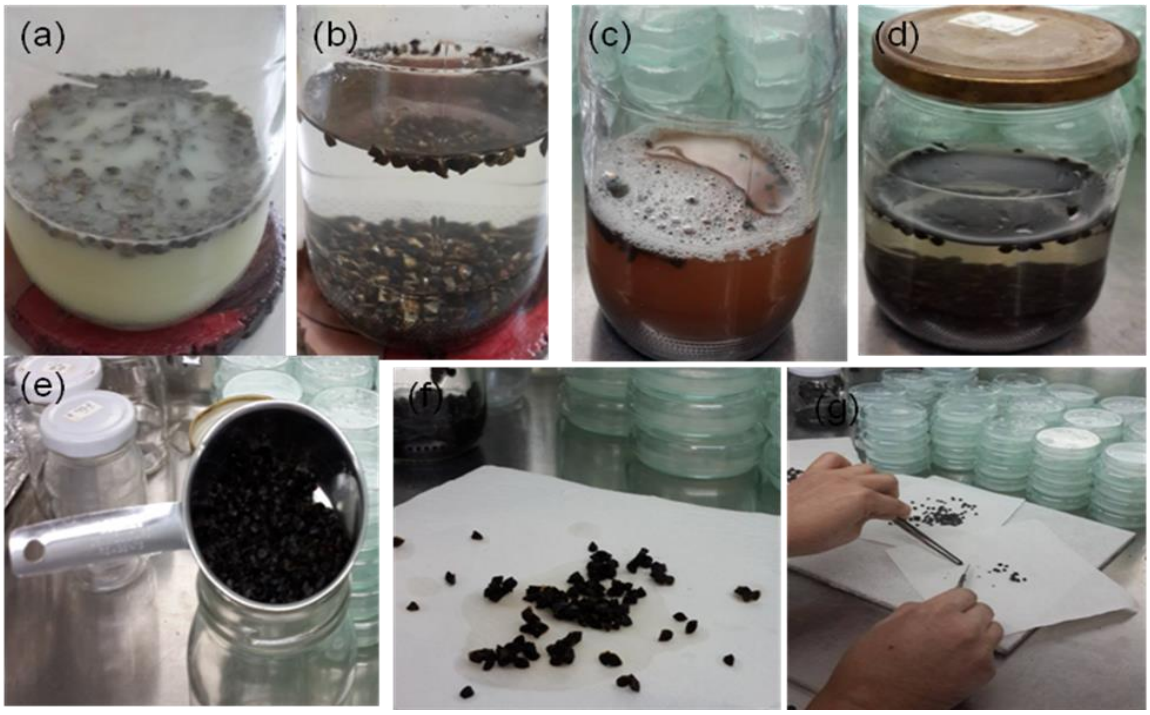
Tohumların sterilizasyon işlemi 3 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir:

1. aşama: Fungal hastalık etmenlerini uzaklaştırmak amacıyla tohumlar, %0.3 Benomil solüsyonunda 1 saat bekletilmiş, ardından saf suyla yıkanmış ve 1 saat boyunca saf suda bekletilmiştir (Şekil 3.1a-b).

2. aşama: Tohumlar steril dikim kabini içine alınarak, %70'lik etil alkolde 5 sn kadar tutulup, ardından bidistile su ile birkaç defa çalkalanarak yıkanmıştır.

3. aşama: Olası bakteriyel enfeksiyonu önlemek amacıyla, birkaç damla Tween 20 içeren %40'lık sodyum hipoklorit çözeltisi içinde 10 dakika bekletildikten sonra 3 kez 5'er dakika steril bidistile suyla çalkalanarak yıkanmıştır. Dezenfeksiyonu yapılmış olan tohumlar filtre kâğıtları üzerine alınarak fazla sularından arındırılmıştır (Şekil 3.1c-d-e-f).

Denemelerde kullanılan malzemeler (cam petri kutuları, kavanozlar, filtre kağıtları, pens, bistüri, fayans vs.) otoklav ile 121ºC, 1.2 atm. basınçta, 1.5 saat süreyle, besin ortamları ise 121ºC'de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

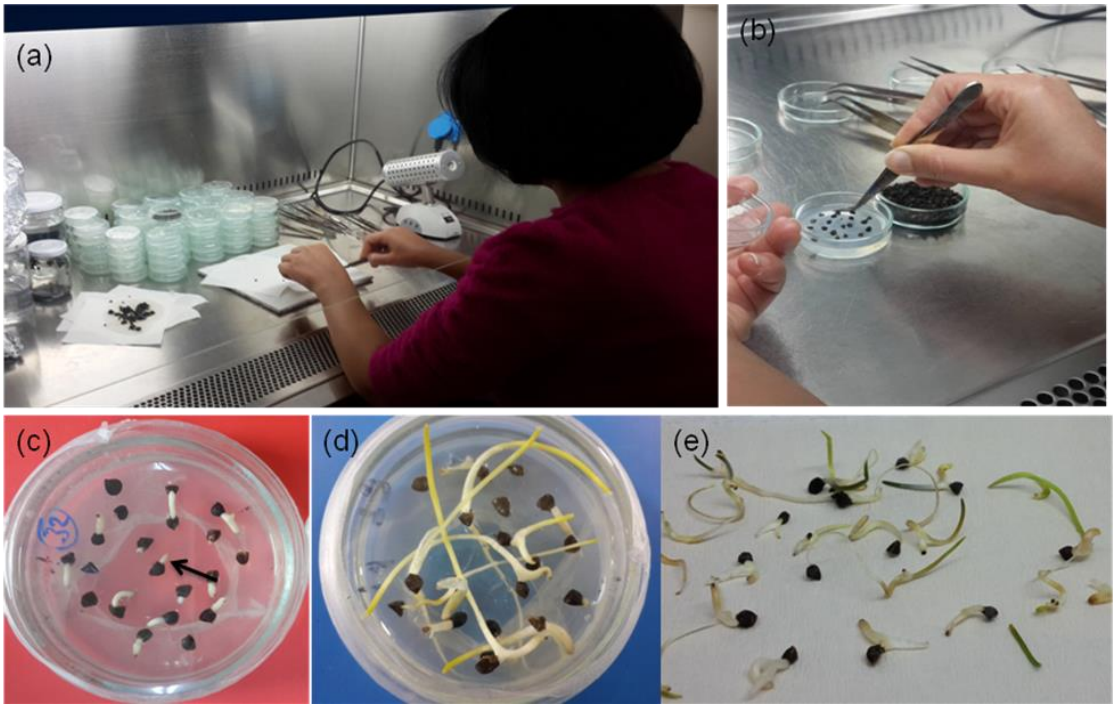


Şekil 3.1. *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarının dezenfeksiyon aşamaları; (a) benomil solüsyonunda bekletilmesi, (b) saf suda bekletilmesi, (c) tohumların % 40 sodyum hipoklorit çözeltisinde dezenfeksiyonu, (d-e) tohumların steril bidistile su ile yıkanması, (f) tohumların kurutma kağıdı üzerine alınması, (g) tohum uçlarının kesilmesi.

3.2.2. *İn vitro* çimlendirme denemeleri ve eksplant hazırlığı

Daha önce Akdağ ve Tuncer (2020a) ile Tuncer (2020) tarafından yapılan çalışmalarda, *E. spectabilis* M.Bieb'in tohumlarında görülen dormansiyi ortadan kaldırmada en etkili uygulamanın uçları kesilmiş tohumlarla çimlendirme denemelerinin kurulması olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, burada sunulan çalışmada, sterilizasyonu yapılan tohumların uçları kesilmiş (Şekil 3.1g), Tuncer (2020)'in bulguları dikkate alınarak, tohumlar çimlenme oranı, ortalama çimlenme süresi ve çimlenme hızı bakımından daha başarılı bulunan B5 (Gamborg ve ark., 1968) besin ortamının yanı sıra, WH (White, 1943) ortamında da *in vitro* olarak çimlendirmiştir (Şekil 3.2a-b). Besin ortamlarına ortam katılaştırıcı olarak 7 g/l agar, 20 g/l sakkaroz, 0.75 g/l GA_3 ve 50 mg/l sitrik asit ilave edilmiş, çimlendirme ortamlarının pH' sı 5.8' e ayarlanmıştır. Petri kutularının ağzı parafilmle sarıldıktan sonra, ilk çimlenmeler görülünceye kadar (ekimden yaklaşık 20-25 gün sonra), petriler buzdolabı sıcaklığında (4°C) bekletilmiştir. Daha sonra petri kutuları buzdolabından alınmış, 13-14°C sıcaklık

ve karanlık koşullara ayarlanmış inkübatörde çimlendirilme işlemi tamamlanmıştır. Çimlenme kriteri olarak; tohum kabuğundan 2 mm kökçük çıkışı esas alınmıştır (Şekil 3.2c). Çimlendirme denemeleri sonunda çimlenme oranı (%), ortalama çimlenme süresi (gün) ve çimlenme hızı (gün) hesaplanmıştır. Eksplant olarak, 0.5-1 cm uzunluğunda kesilmiş hipokotil parçaları kullanılmıştır (Şekil 3.2d-e).



Şekil 3.2. *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarının (a) tohum uçlarının kesilmesi, (b) *in vitro* tohum ekimi, (c) çimlenme kriteri, (d-e) *in vitro* koşullarda gelişmiş olan hipokotil eksplantları.

3.2.3. *İn vitro* soğancık rejenerasyonu

İn vitro soğancık üretimi için; aseptik koşullarda çimlenmiş bitkiciklerden alınan eksplantlar MS ortamında, TDZ (0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) + NAA (0, 0.1 ve 0.5 mg/l), BAP (0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) + NAA (0, 0.1 ve 0.5 mg/l) içeren toplam 24 kombinasyonda (7 g/l agar, 30 g/l sakkaroz, pH: 5.8), 25°C 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullardaki iklim odasında kültüre alınmıştır. *İn vitro* koşullarda soğancık üretimi için kullanılan MS besin ortam kombinasyonları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Deneme sonucunda; soğancık rejenerasyonu (%), soğancık sayısı/eksplant, ortalama soğancık sayısı (adet) ve çapı (cm) hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1. *İn vitro* koşullarda soğancık üretimi için kullanılan MS besin ortam kombinasyonları

Besin ortam no	Besin Ortam Kombinasyonları (mg/l)	
	TDZ	**NAA**
1	0.5	0
2	0.5	0.1
3	0.5	0.5
4	1	0
5	1	0.1
6	1	0.5
7	2	0
8	2	0.1
9	2	0.5
10	4	0
11	4	0.1
12	4	0.5
	BAP	**NAA**
13	0.5	0
14	0.5	0.1
15	0.5	0.5
16	1	0
17	1	0.1
18	1	0.5
19	2	0
20	2	0.1
21	2	0.5
22	4	0
23	4	0.1
24	4	0.5

3.2.4. Soğancık iriliğinin artırılması ve sürgün rejenerasyonu

Soğancık iriliğinin artırılması amacıyla, 30-35 gün arayla 2 farklı deneme kurulmuştur. İn vitro koşullarda elde edilmiş soğanlar parçalara ayrılarak, 1. denemede, yukarıda belirtilen 24 besin kombinasyonu arasından daha başarılı bulunan 13 MS besin ortam kombinasyonu (Çizelge 3.2), 2. denemede ise, 1. deneme sonuçlarına göre umutvar bulunmuş 9 MS besin ortam kombinasyonu seçilmiş (Çizelge 3.3) ve seçilen besin ortamları soğancık iriliğinin artırılmasında kullanılmıştır. Deneme sonucunda; şişen eksplant oranı (%), soğancık rejenerasyonu (%), ortalama soğancık sayısı (adet), soğancık sayısı/eksplant, ortalama soğancık çapı (cm), soğancıklardan elde edilen sürgün rejenerasyon oranı (%), sürgün sayısı (adet)/soğancık hesaplanmıştır.

Çizelge 3.2. Soğancık iriliğinin artırılmasında kullanılan MS besin ortam kombinasyonları (1. deneme)

Besin ortam no	Besin Ortam Kombinasyonları (mg/l)	
	TDZ	**NAA**
2	0.5	0.1
3	0.5	0.5
5	1	0.1
6	1	0.5
7	2	0
8	2	0.1
9	2	0.5
10	4	0
11	4	0.1
12	4	0.5
	BAP	**NAA**
19	2	0
22	4	0
23	4	0.1

Çizelge 3.3. Soğancık iriliğinin artırılmasında kullanılan MS besin ortam kombinasyonları (2. deneme)

Besin ortam no	Besin Ortam Kombinasyonları (mg/l)	
	TDZ	**NAA**
5	1	0.1
6	1	0.5
8	2	0.1
9	2	0.5
11	4	0.1
12	4	0.5
	BAP	**NAA**
19	2	0
22	4	0
23	4	0

3.2.5. Rizom benzeri yapıların elde edilmesi

Bu amaçla; 1/2 MS ortamında 2 farklı IBA dozu (0.5 mg/l ve 1 mg/l) kullanılmıştır.

3.2.6. İncelenen parametrelerin hesaplanması

Çimlenme parametrelerin hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır:

Çimlenme oranı (Ç.O) (%) = (Ç/T) × 100 (1)

Çimlenme hızı = n1/t1+n2/t2+…….+nn/tn (2)

Ortalama çimlenme süresi (gün) (OÇS) = [(1.günde Ç × 1. gün) + (2. günde Ç × 2.gün) +…+ (n.günde Ç × n.gün)] / Toplam Ç (3)

Ç: Çimlenen tohum sayısı, T: Kullanılan tohum sayısı, n1, n2…: Çimlenen tohum sayısını, t1, t2…: Çimlenmenin gerçekleştiği gün sayısını ifade etmektedir.

İn vitro rejenerayon denemelerindeki parametrelerin hesaplanmasında kullanılan formüller ise aşağıda belirtilmiştir:

Şişen eksplant oranı (%) = (Şişen eksplant sayısı / Toplam eksplant sayısı) × 100 (4)

Soğancık rejenerasyonu (%) = (Soğancık oluşturan eksplant sayısı / Toplam eksplant sayısı) × 100 (5)

Eksplant başına soğancık sayısı (adet) = (Soğancık sayısı / Soğancık oluşturan eksplant sayısı) (6)

Sürgün rejenerasyon oranı (%) = (Sürgün oluşturan eksplant sayısı / Toplam eksplant sayısı) × 100 (7)

Soğancık başına sürgün sayısı (adet) = (Sürgün sayısı / Sürgün oluşturan soğancık sayısı) (8)

3.2.7. İstatistik analiz

İn vitro çimlendirme denemeleri; 4 tekerrürlü her tekerrürde 10 petri (12-15 tohum/petri), *in vitro* soğancık üretimi ve sürgün rejenerasyonu denemesi; 6 tekerrürlü her tekerrürde 5-10 eksplant, soğancık iriliğinin artırılması ve sürgün rejenerasyonu denemeleri; 1. deneme için; 4 tekerrürlü her tekerrürde 9-10 eksplant, 2. deneme için; 4 tekerrürlü her tekerrürde 6-8 eksplant, *in vitro* rizom denemeleri ise; 4 tekerrürlü her tekerrürde 5-6 eksplant olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. İncelenen tüm parametrelerinin karşılaştırılmasında, varyans analizi yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %1 olarak alınmış ve hesaplamalar için Statgraphics istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

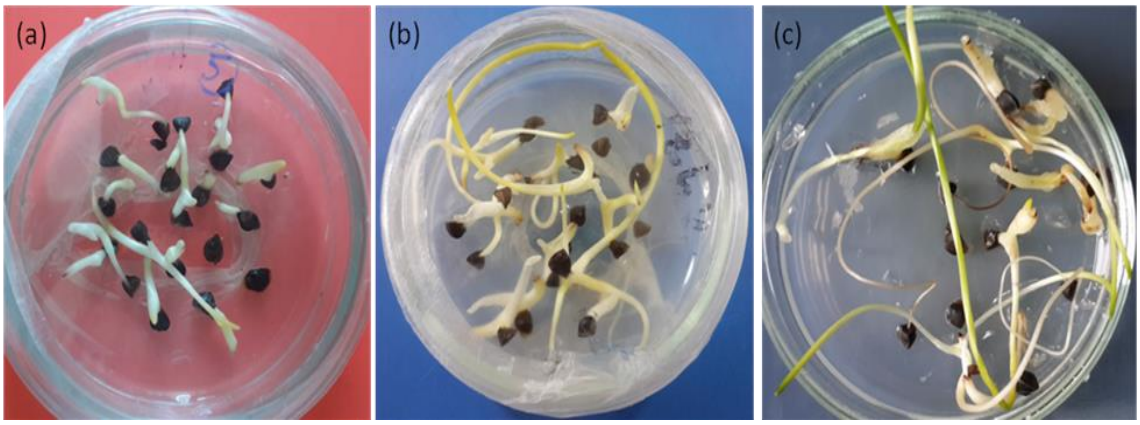
4.1. *İn Vitro* Koşullarda Çimlenme Denemesi Sonuçları

E. spectabilis M. Bieb tohumlarının, *in vitro* koşullarda çimlenme denemesi sonuçları Çizelge 4.1' de verilmiştir. Çimlenme oranı (%) bakımından besin ortamları arasında görülen farklılık istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek çimlenme oranı (%61.5) B5 ortamından elde edilirken, bunu % 51.3 oranla WH ortamı izlemiştir. Çimlenme hızı ve ortalama çimlenme süresi bakımından ise besin ortamları arasındaki farklılık istatistik yönden önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.1). Şekil 4.1' de B5 ortamında *in vitro* koşullarda çimlenmiş ve gelişmesini tamamlamış *E. spectabilis* M.Bieb bitkicikleri görülmektedir.

Çizelge 4.1. *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarında farklı besin ortamlarının *in vitro* koşullarda çimlenme üzerine etkisi

Besin ortamı	Çimlenme oranı (%)	Çimlenme hızı (gün)	Ortalama çimlenme süresi (gün)
B5	61.5 ± 0.8 a	2.3 ± 0.1	10.1 ± 0.9
WH	51.3 ± 1.3 b	1.9 ± 1.9	10.1 ± 0.4
P Değeri	0.000**	öd	öd

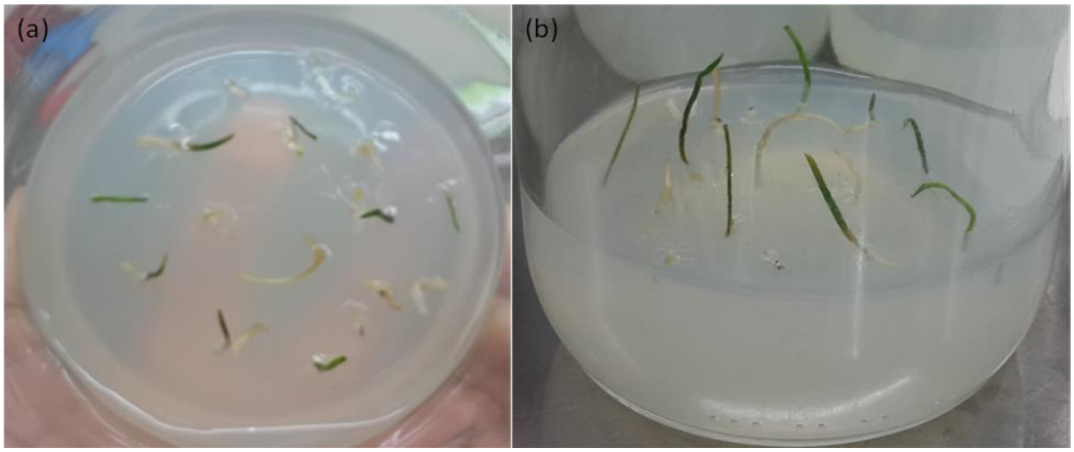
Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortamları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **p<0.01, öd: önemli değil).



Şekil 4.1. Gamborg (B5) ortamında *in vitro* koşullarda çimlendirilmiş; (a) gelişmekte olan, (b ve c) gelişmesini tamamlamış bitkicikler.

4.2. *İn vitro* Koşullarda Soğancık Rejenerasyonu Deneme Sonuçları

E. spectabilis M.Bieb'de *in vitro* koşullarda gelişmiş hipokotil eksplantlarından soğancık oluşumunu uyarmak amacıyla MS ortamında 24 farklı hormon kombinasyonu deneme planına alınmıştır (Çizelge 4.2). Farklı MS besin ortam kombinasyonlarına dikilen hipokotil eksplantlarının 1. ve 5. gündeki gelişimleri Şekil 4.2' de görülmektedir.



Şekil 4.2. Farklı MS besin ortam kombinasyonlarına dikilmiş hipokotil eksplantları (a) 1. gün, (b) 5. gün.

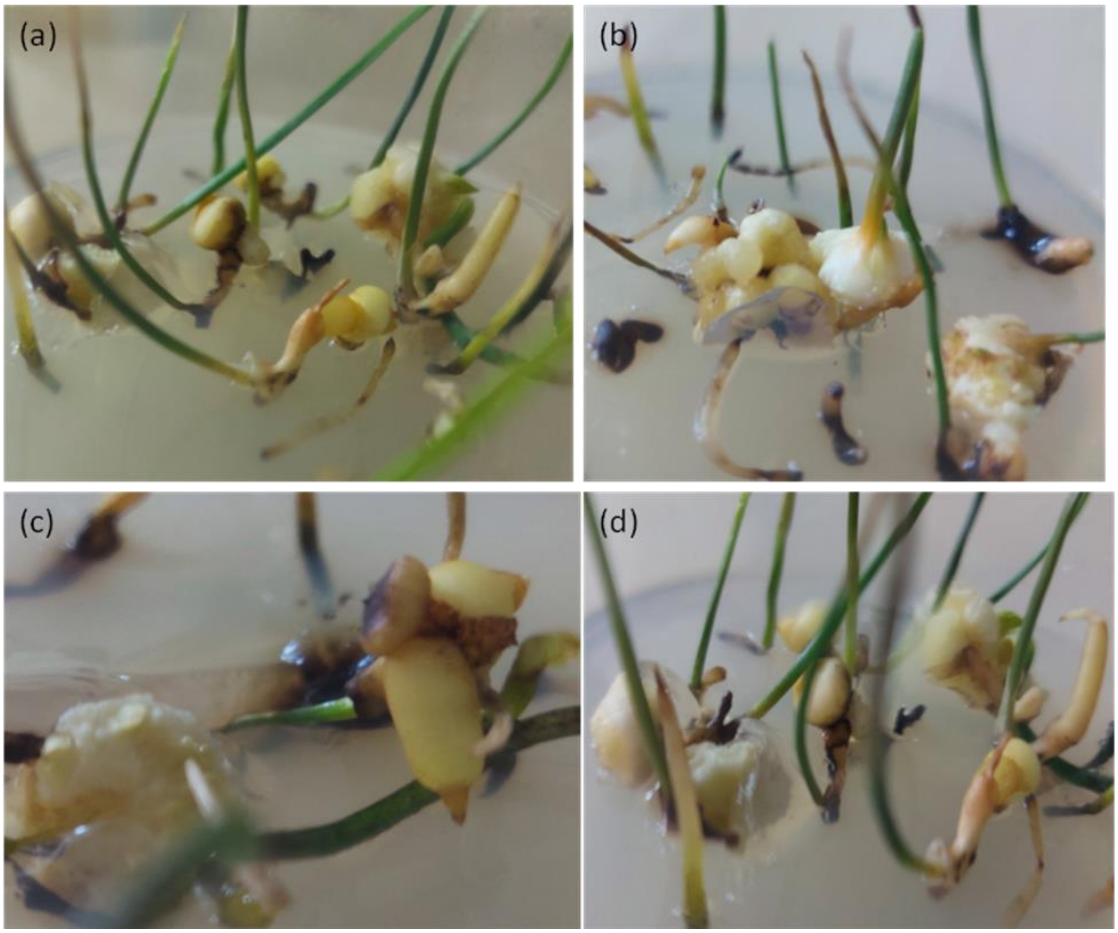
Çizelge 4.2 incelendiğinde, incelenen tüm parametreler (soğancık rejenerasyonu, ortalama soğancık sayısı, soğancık sayısı/eksplant, ortalama soğancık çapı) bakımından besin ortam kombinasyonları arasında görülen farklılık istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En iyi soğancık oluşum oranı (%), aynı istatiksel grup içinde yer alan 0.5 mg/l TDZ'nin 0.1 mg/l (% 65.8) ve 0.5 mg/l NAA (% 65.3) ile kombinasyonu ile 1 mg/l TDZ'in 0.5 mg/l NAA kombinasyonundan (% 65.1) elde edilmiştir. Ortalama soğancık sayısı (adet) bakımından ise, en başarılı kombinasyon 1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA (17.5 adet) olmuş, bunu 0.5 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (12.3 adet) kombinasyonu izlemiştir. MS ortamında 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA kombinasyonunda, eksplant başına en yüksek soğancık sayısına (2.1 adet) ulaşılmıştır. En yüksek ortalama soğancık çapı (cm), 4 mg/l TDZ (0.59 cm) içeren MS ortamından elde edilirken, bunu 0.54 cm soğan çapı değeriyle aynı istatistik grup içinde yer alan 0.5 mg/l TDZ'nin NAA (0.1 mg/l ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonları ve MS ortamında yalnızca 2 mg/l BAP içeren uygulamalar izlemiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS kombinasyonlarının *in vitro* soğancık rejenerasyonu üzerine etkisi

Hormon (mg/l)	DES	Soğancık rejenerasyonu (%)	Ortalama soğancık sayısı (adet)	Soğancık sayısı/eksplant	Ortalama soğancık çapı (cm)
TDZ + NAA					
0.5 +0	34	33.6 ± 1.1 h	5.6 ± 0.2 g	1.6 ± 0.1 c-e	0.30 ± 0.03 f-h
0.5 + 0.1	30	65.8 ± 1.7 a	12.3 ± 0.9 b	2.0 ± 0.1 ab	0.54 ± 0.04 ab
0.5 + 0.5	30	65.3 ± 1.4 a	7.6 ± 0.5 f	1.3 ± 0.1 e-h	0.54 ± 0.04 ab
1 + 0	30	23.1 ± 0.5 jk	3.6 ± 0.2 j-l	1.1 ± 0.1 f-i	0.20 ± 0.02 i
1 + 0.1	45	52.1 ± 0.9 e	9.0 ± 0.4 d-f	1.1 ± 0.1 f-i	0.30 ± 0.03 f-h
1 + 0.5	56	65.1 ± 0.9 a	17.5 ± 1.1 a	2.1 ± 0.1 a	0.51 ± 0.01 bc
2 + 0	25	55.8 ± 0.6 cd	10.1 ± 0.7 cd	1.9 ± 0.2 a-c	0.50 ± 0.01 bc
2 + 0.1	25	56.5 ± 0.6 c	9.0 ± 0.5 d-f	1.8 ± 0.2 a-d	0.43 ± 0.03 cd
2 + 0.5	44	56.2 ± 1.2 cd	8.5 ± 0.6 ef	1.4 ± 0.2 d-f	0.37 ± 0.01 d-f
4 + 0	30	53.1 ± 1.0 de	10.5 ± 0.3 c	1.3 ± 0.1 e-h	0.59 ± 0.04 a
4 + 0.1	28	60.2 ± 1.1 b	9.2 ± 0.5 c-e	1.3 ± 0.2 e-g	0.40 ± 0.03 de
4 + 0.5	31	56.3 ± 0.8 cd	9.6 ± 0.6 c-e	1.6 ± 0.1 c-e	0.41 ± 0.03 d
BAP + NAA					
0.5 +0	28	15.3 ± 0.3 l	0.8 ± 0.3 o	0.8 ± 0.1 i	0.23 ± 0.02 hi
0.5 + 0.1	33	25.0 ± 0.9 ij	1.2 ± 0.2 m-o	1.0 ± 0.1 g-i	0.27 ± 0.02 g-i
0.5 + 0.5	31	13.8 ± 0.4 l	1.2 ± 0.3 no	0.9 ± 0.1 hi	0.30 ± 0.02 f-h
1 + 0	28	35.8 ± 1.2 h	2.5 ± 0.2 l-n	1.1 ± 0.1 f-i	0.23 ± 0.03 hi
1 + 0.1	29	22.5 ± 1.0 jk	1.5 ± 0.4 m-o	0.7 ± 0.2 i	0.28 ± 0.02 gh
1 + 0.5	30	43.6 ±1.4 g	4.0 ± 0.4 h-j	1.7 ± 0.2 b-e	0.23 ± 0.01 hi
2 + 0	25	61.1 ± 1.6 b	3.8 ± 0.6 j-l	2.0 ± 0.2 ab	0.54 ± 0.02 ab
2 + 0.1	30	27.1 ± 1.3 i	2.8 ± 0.5 k-m	1.0 ± 0.1 g-i	0.27 ± 0.01 g-i
2 + 0.5	28	14.1 ± 1.0 l	1.2 ± 0.3 m-o	0.8 ± 0.1 i	0.32 ± 0.04 e-g
4 + 0	27	48.3 ± 1.9 f	4.8 ± 0.5 g-i	1.6 ±0.2 c-e	0.44 ± 0.03 cd
4 + 0.1	31	52.5 ± 1.5 e	5.3 ± 0.4 gh	1.3 ± 0.2 e-g	0.43 ± 0.05 cd
4 + 0.5	19	20.8 ± 0.7 k	2.6 ± 0.5 k-m	1.1 ± 0.1 f-i	0.26 ± 0.02 g-i
P Değeri		0.000**	0.000**	0.000**	0.000**

Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortam kombinasyonları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **p<0.01), DES: dikilen eksplant sayısı.

Şekil 4.3' de farklı MS besin ortam kombinasyonlarında, *in vitro* koşullarda hipokotil eksplantlarından elde edilmiş soğancıklar görülmektedir.



Şekil 4.3. Farklı MS besin ortam kombinasyonlarında hipokotil eksplantlarından gelişmiş *in vitro* soğancıklar; (a ve d) 0.5 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA, (b) 1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA, (c) 0.5 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA.

4.3. *İn Vitro* Koşullarda Soğancık İriliğinin Artırılması ve Sürgün Rejenerasyonu Deneme Sonuçları

E. spectabilis M.Bieb'de, *in vitro* soğancık iriliğinin artırılmasına yönelik, 30-35 gün arayla 2 farklı deneme kurulmuştur. Bu amaçla, *in vitro* koşullarda gelişen soğanlar, steril dikim kabini içinde parçalara ayrılmış ve bu soğan parçaçıklarının farklı MS ortam kombinasyonlarına dikimi yapılmıştır (Şekil 4.4a-d).

1. denemede, soğancık rejenerasyonu denemesinde kullanılmış olan 24 farklı MS kombinasyonu arasından daha başarılı bulunan 13 farklı MS ortam kombinasyonu seçilerek deneme planına alınmış ve sonuçlar Çizelge 4.3' de sunulmuştur. Aynı ortam kombinasyonlarındaki *in vitro* sürgün rejenerasyonu deneme sonuçları ise Çizelge 4.4.' de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS kombinasyonlarının *in vitro* soğancık iriliğinin artırılması üzerine etkisi (1. deneme)

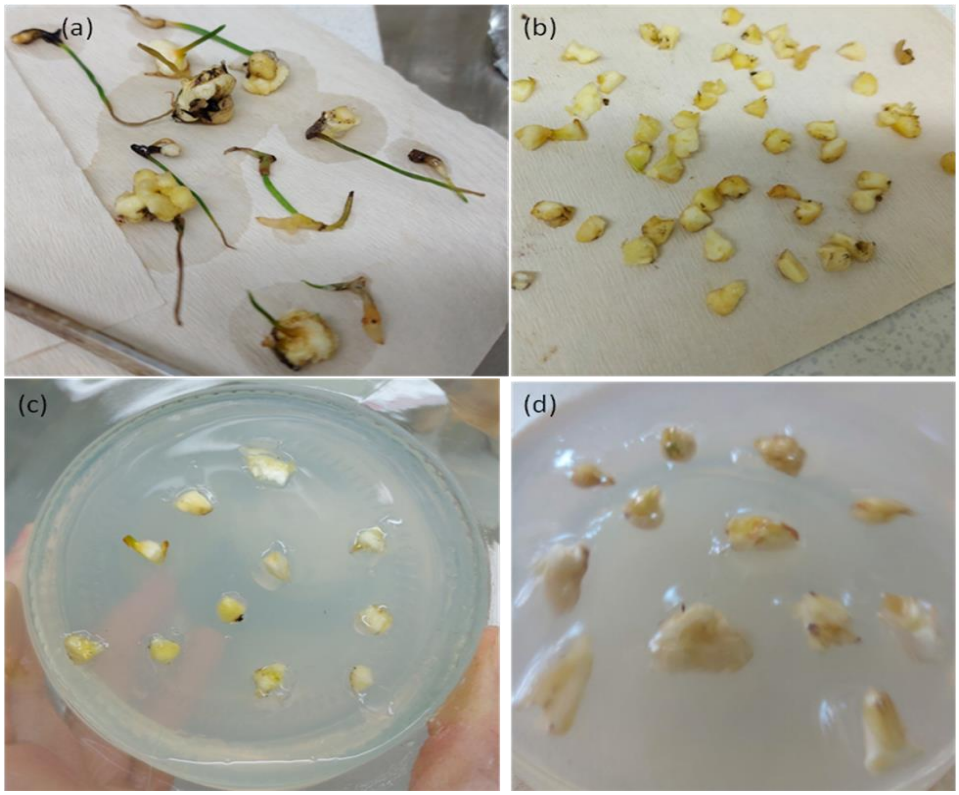
Hormon (mg/l)	DES	Şişen eksplant oranı (%)	Soğancık rejenerasyonu (%)	Ortalama soğancık sayısı (adet)	Soğancık sayısı / eksplant	Ortalama soğan çapı (cm)
TDZ + NAA						
0.5 + 0.1	33	59.4 ± 1.7 cd	55.9 ± 2.8 d	9.3 ± 0.9 ef	1.5 ± 0.3 de	1.7 ± 0.1 ab
0.5 + 0.5	36	56.3 ± 2.0 c-e	41.3 ± 1.1 e	10.3 ± 0.8 ef	2.8 ± 0.4 bc	1.2 ± 0.1 b-d
1 + 0.1	32	81.8 ± 2.6 a	78.9 ± 1.1 a	32.0 ±2.9 b	3.4 ± 0.4 b	2.0 ± 0.2 a
1 + 0.5	41	54.3 ± 1.5 de	54.8 ± 1.2 d	17.0 ± 1.1 d	2.2 ± 0.4 c-e	1.1 ± 0.3 b-d
2 + 0	44	38.7 ±4.3 f	23.8 ±2.4 f	5.3 ± 0.5 g	2.3 ± 0.1 c-e	1.4 ± 0.3 b-d
2 + 0.1	31	81.4 ± 3.6 a	73.6 ± 0.9 ab	37.0 ± 1.3 a	4.9 ± 0.3 a	1.5 ± 0.2 a-d
2 + 0.5	38	55.8 ±1.7 c-e	54.2 ± 1.6 d	18.8 ± 1.4 cd	2.7 ± 0.8 bc	0.9 ± 0.1 d
4 + 0	39	61.5 ± 0.6 bc	55.2 ± 1.8 d	7.8 ± 0.8 fg	1.7 ± 0.3 de	1.1 ± 0.1 b-d
4 + 0.1	41	66.6 ± 1.7 b	42.9 ± 2.4 e	11.5 ±0.6 e	1.3 ± 0.1 e	1.0 ± 0.2 cd
4 + 0.5	40	80.0 ± 4.1 a	72.5 ± 3.2 b	16.5 ±0.6 d	2.3 ± 0.1 cd	1.5 ± 0.2 a-c
BAP + NAA						
2 + 0	35	53.1 ± 2.0 de	54.3 ± 0.5 d	15.5 ± 1.0 d	3.0 ± 0.3 bc	1.4 ± 0.2 b-d
4 + 0	35	51.1 ± 0.8 e	64.0 ± 1.8 c	11.0 ±1.1 ef	1.7 ± 0.2 de	1.1 ± 0.1 b-d
4 + 0.1	40	78.3 ± 1.4 a	75.8 ± 1.5 ab	22.3 ± 1.3 c	2.8 ± 0.1 bc	1.0 ± 0.2 cd
P Değeri		0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.0175*

Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortamları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **p<0.01, :* p<0.05), DES: dikilen eksplant sayısı.

Çizelge 4.4. *E. spectabilis* M.Bieb'de farklı MS kombinasyonlarının *in vitro* sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi (1. deneme)

Hormon (mg/l)	DES	Sürgün rejenerasyonu (%)	Sürgün sayısı (adet)/ soğan
TDZ+ NAA			
0.5 + 0.1	33	23.7 ± 2.1 c	0.8 ± 0.1ab
0.5 + 0.5	36	6.1 ± 0.7 f	0.1 ± 0.1 d
1 + 0.1	32	48.6 ± 1.8 a	0.3 ± 0.1 b-d
1 + 0.5	41	20.6 ± 0.9 cd	0.5 ± 0.2 b-d
2 + 0	44	19.4 ± 1.4 cd	0.2 ± 0.1 cd
2 + 0.1	31	24.3 ± 1.3 c	0.4 ± 0.1 b-d
2 + 0.5	38	18.1 ± 1.2 d	1.1 ± 0.2 a
4 + 0	39	18.3 ± 1.4 d	0.6 ± 0.1 a-d
4 + 0.1	41	21.4 ± 1.5 cd	0.5 ± 0.2 b-d
4 + 0.5	40	32.5 ± 3.2 b	0.4 ± 0.1 b-d
BAP + NAA			
2 + 0	35	12.3 ± 0.9 e	0.2 ± 0.1 cd
4 + 0	35	29.1 ± 0.6 b	0.7 ± 0.1 a-c
4 + 0.1	40	21.6 ± 1.7 cd	0.4 ± 0.1 b-d
P Değeri		0.000**	0.0058**

Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortamları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **p<0.01), DES: dikilen eksplant sayısı.



Şekil 4.4. *İn vitro* koşullarda gelişmiş *E. spectabilis* M.Bieb soğancıkların; (a-c) parçalanarak MS besin ortam ortamlarına dikimi, (d) gelişmeye başlayan eksplantlar.

1. denemede, besin ortam kombinasyonları arasında görülen farklılık ortalama soğan çapı hariç, incelenen tüm parametrelerde $p<0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. En yüksek soğan rejenerasyonu %78.9 oranla MS ortamında 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA ortamından elde edilirken, bunu sırasıyla aynı istatistik grup içinde yer alan 4 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA (% 75.8) ve 2 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (% 73.6) takip etmiştir (Çizelge 4.3). Ortalama soğancık sayısı ve eksplant başına soğancık sayısı bakımından da yine; 2 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (37 soğancık, 4.9 adet/eksplant) ve 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (32 soğancık, 3.4 adet/eksplant) kombinasyonlarında en yüksek değerlere ulaşılmıştır. En yüksek soğan çapı (2 cm) ise 1 mg/l TDZ ve 0.1 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamından sağlanmıştır (Çizelge 4.3). 1. deneme sonuçlarına göre sürgün rejenerasyon oranı %6.1- 48.6 arasında değişim gösterirken, en yüksek sürgün rejenerasyonu (%48.6) 1 mg/l TDZ ve 0.1 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamından, soğan başına en yüksek sürgün sayısı ise MS + 2 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA kombinasyonundan (1.1 sürgün/soğan) elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

1. denemeden 30-35 gün sonra kurulan 2. denemede, *in vitro* soğan iriliğinin artırılmasına ait sonuçlar Çizelge 4.5' de, sürgün rejenerasonuna ait sonuçlar ise Çizelge 4.6' da özetlenmiştir.

Çizelge 4.5. *E. spectabilis* M.Bieb' de *in vitro* soğancık iriliğinin artırılmasına yönelik 2. deneme sonuçları

Hormon (mg/l)	DES	Şişen eksplant oranı (%)	Soğancık rejenerasyonu (%)	Ortalama soğancık sayısı (adet)	Soğancık sayısı / eksplant	Ortalama soğan çapı (cm)
TDZ + NAA						
1 + 0.1	24	78.3 ± 2.4 ab	79.2 ± 2.9 a	29.2 ± 1.1 ab	5.8 ± 0.9 bc	2.1 ± 0.2 a
1 + 0.5	23	73.3 ± 3.9 bc	51.6 ± 1.5 d	22.0 ± 1.6 d	6.1 ± 0.6 bc	1.4 ± 0.2 bc
2 + 0.1	29	78.6 ± 2.7 ab	66.6 ± 1.6 b	27.5 ± 1.0 bc	5.3 ± 0.5 bc	1.5 ± 0.2 bc
2 + 0.5	26	82.1 ± 1.4 a	58.9 ± 2.3 c	32.5 ± 2.1 a	8.3 ± 0.9 a	1.1 ± 0.1 c
4 + 0.1	28	51.6 ± 1.5 e	49.3 ± 1.2 de	16.8 ± 1.6 e	4.6 ± 0.8 cd	1.1 ± 0.2 c
4 + 0.5	29	67.8 ± 0.8 c	67.8 ± 1.9 b	29.0 ± 1.3 ab	5.1 ± 0.9 bc	1.7 ± 0.1 ab
BAP + NAA						
2 + 0	23	61.5 ± 1.0 d	45.5 ± 1.5 e	13.8 ± 1.6 ef	4.3 ± 0.5 cd	1.5 ± 0.1 bc
4 + 0	18	53.4 ± 1.1 e	54.1 ± 0.9 cd	11.0 ± 0.9 f	2.7 ± 0.5 d	1.2 ± 0.1 bc
4 + 0.1	18	68.3 ± 0.7 c	66.6 ± 1.2 b	23.7 ± 1.3 cd	6.8 ± 0.3 ab	1.1 ± 0.1 c
P Değeri		0.000**	0.000**	0.000**	0.0006**	0.0083**

Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortamları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **p<0.01), DES: dikilen eksplant sayısı.

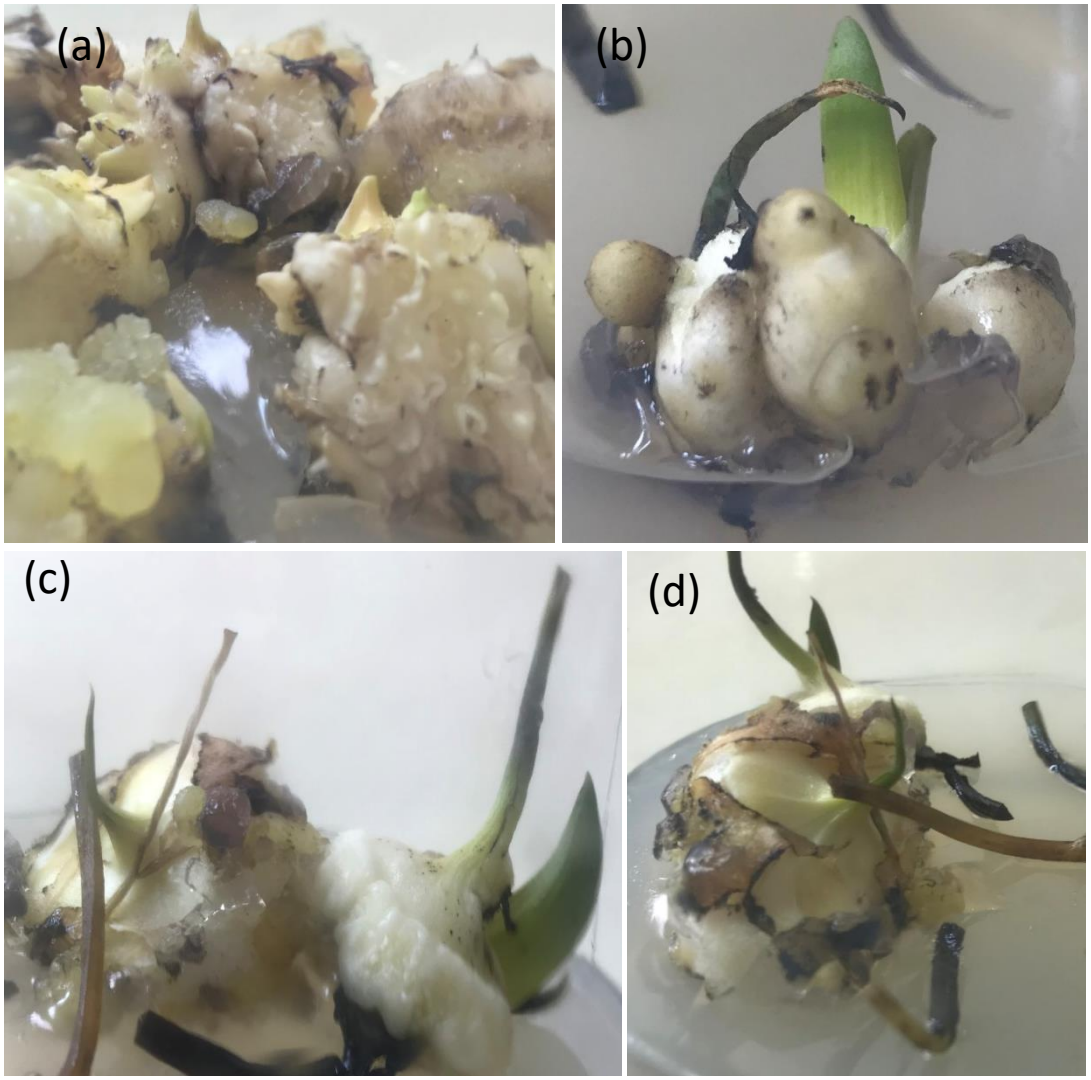
Çizelge 4.6. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS besin ortam kombinasyonlarının *in vitro* sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi (2. deneme)

Hormon (mg/l)	DES	Sürgün rejenerasyonu (%)	Sürgün sayısı (adet)/ soğan
TDZ + NAA			
1 + 0.1	24	16.7 ± 2.0 de	0.2 ± 0.1 a-c
1 + 0.5	23	22.5 ± 1.9 bc	0.4 ± 0.1 a
2 + 0.1	29	13.8 ± 1.9 ef	0.1 ± 0.1 a-d
2 + 0.5	26	7.7 ± 1.6 g	0.1 ± 0.1 d
4 + 0.1	28	18.6 ± 0.5 cd	0.2 ± 0.1 a-c
4 + 0.5	29	23.2 ± 1.2 b	0.3 ± 0.1 ab
BAP + NAA			
2 + 0	23	28.6 ± 1.2 a	0.2 ± 0.1 a-c
4 + 0	18	16.6 ± 0.2 de	0.4 ± 0.1 a
4 + 0.1	18	11.9 ± 0.5 f	0.1 ± 0.1 a-d
P Değeri		0.000**	0.0098**

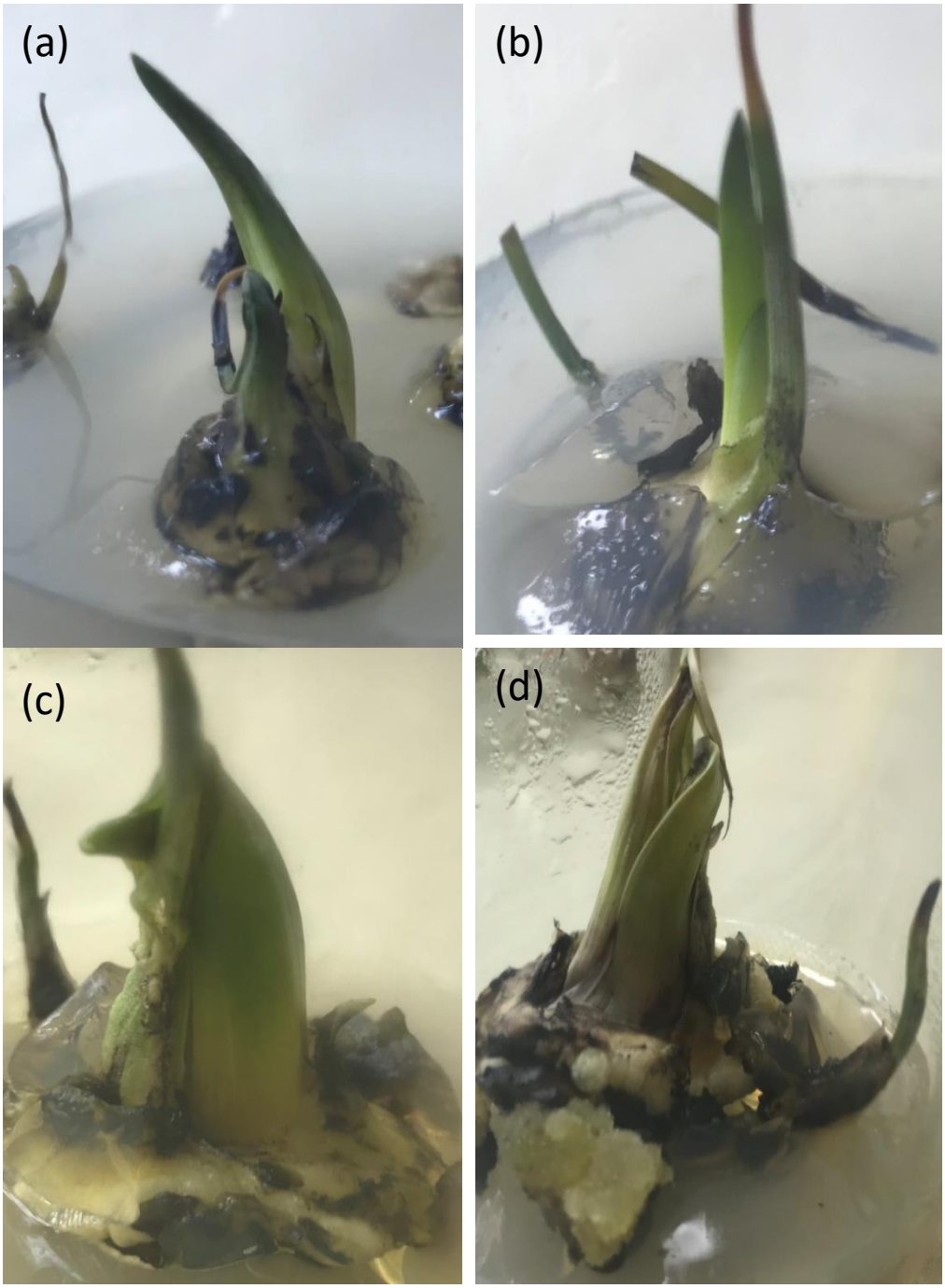
Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortamları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **p<0.01), DES: dikilen eksplant sayısı.

Soğancık iriliğinin artırılmasına yönelik 2. deneme sonuçlarına göre soğan rejenerasyon oranı %45.5-79.2 arasında değişim göstermiştir. En yüksek soğan

rejenerasyonu (%79.2) ve ortalama soğan çapı (2.1 cm), 1mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA kombinasyonundan sağlanmıştır. Ortalama soğancık sayısı (32.5 adet) ve eksplant başına soğancık sayısı bakımından (8.3 adet/eksplant) ise, en yüksek değere 2 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA hormon kombinasyonundan ulaşılmıştır (Çizelge 4.5). En yüksek sürgün rejenerasyon oranı (%28.6) ise, 2 mg/l BAP katkısı yapılmış MS ortamından elde edilmiştir (Çizelge 4.6). 2. deneme sonunda elde edilen soğancık ve sürgün oluşumları Şekil 4.5 ve 4.6' da sunulmuştur.



Şekil 4.5. *E. spectabilis* M.Bieb' de MS ortamında *in vitro* koşullarda soğancık iriliğinin artırılmasına yönelik 2. denemeden görüntüler; (a) 4 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA, (b ve c) 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (d) 2 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA.



Şekil 4.6. *E. spectabilis* M.Bieb' de farklı MS besin ortam kombinasyonlarında *in vitro* sürgün rejenerasyonu (a ve b) 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA, (c ve d) 1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA.

4.4. Rizom Benzeri Yapıların Elde Edilmesine Yönelik Deneme Sonuçları

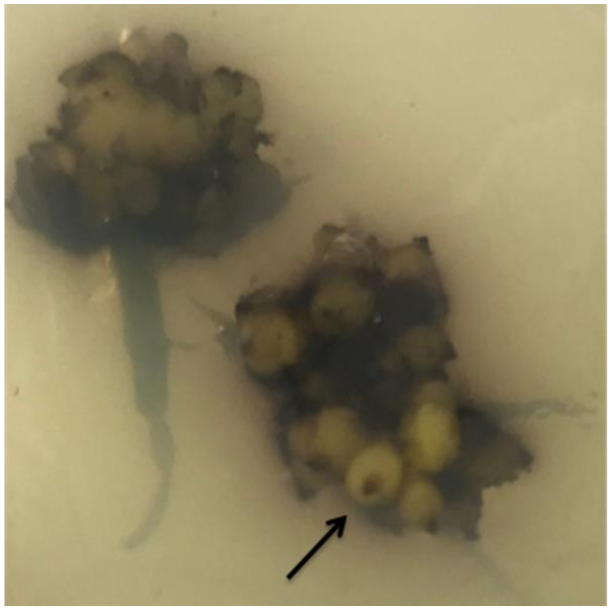
Bu amaçla kurulan deneme sonuçları Çizelge 4.7' de sunulmuştur. Hormon dozları arasında istatistik olarak görülen farklılık ortalama rizom sayısı ve eksplant

başına rizom sayısı bakımından önemli bulunmuştur ($p<0.01$). En yüksek rizom benzeri yapılar (ortalama 42.5 adet, 7.1 adet/eksplant) 1/2 MS ortamında 1 mg/l IBA ilave edilmiş besin ortamından sağlanmıştır (Çizelge 4.7, Şekil 4.7).

Çizelge 4.7. *E. spectabilis* M.Bieb' de 1/2 MS ortamında farklı IBA dozlarının *in vitro* rizom benzeri yapıların oluşumu üzerine etkisi

Hormon (mg/l)	RBY rejenerasyonu (%)	Ortalama RBY sayısı (adet)	RBY sayısı / eksplant	Ortalama RBY çapı (cm)
IBA				
0.5	95.0 ± 2.9	19.3 ± 1.3 b	3.7 ± 0.5 b	1.4 ± 0.1
1	93.8 ± 3.8	42.5 ± 3.2 a	7.1 ± 0.4 a	1.2 ± 0.1
P Değeri	öd	0.000**	0.002**	öd

Aynı sütundaki farklı küçük harfler besin ortamları arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermektedir (: **$p<0.01$, öd: önemli değil), RBY: rizom benzeri yapı.



Şekil 4.7. *E. spectabilis* M.Bieb' de 1 mg/l IBA ilave edilmiş 1/2 MS ortamında *in vitro* koşullarda gelişmiş rizom benzeri yapılar.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İn vitro doku kültürü teknikleri, değerli bitki türleri ile ekonomik yönden öneme sahip diğer türlerinin çoğaltılması ve gelecekte korunması amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır. *İn vitro* rejenerasyon çalışmalarında, ilgili türde uygun protokol geliştirildiği takdirde o türde hızlı klonal çoğaltım yapılabilmete ve böylece genetik kaynaklarımız koruma altına alınabilmektedir.

Bu araştırmanın temel amacı, yabani bir tür olan çiriş (*Eremurus spectabilis* M. Bieb)' de *in vitro* mikro çoğaltım protokolü geliştirmektedir. Çalışma kapsamında, *in vitro* koşullarda *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarının çimlendirilmesi, steril koşullarda çimlenen bitkiciklerden alınan eksplantlardan *in vitro* soğancık oluşumu, soğancık iriliğinin artırılması, elde edilen soğanlardan sürgün rejenerasyonu ve rizom benzeri yapıların elde edilmesi yer almaktadır.

İlgili türde yapılmış *in vitro* rejenerasyon çalışması sayısı oldukça sınırlıdır (Tuncer, 2017; Tuncer, 2020). *E. spectabilis* M.Bieb' in de içinde yer aldığı Liliaceae familyasına giren birçok türde çok sayıda *in vitro* rejenerasyon çalışması yapılmış olmasına rağmen, bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, tür farklılığından dolayı uyumlu bulunmadığından bu çalışmalar tartışma kısmına alınmamıştır. Bu nedenle burada sunulan çalışma sonuçları, doğrudan *Eremurus* türlerinde yapılmış olan sınırlı sayıdaki *in vitro* rejenerasyon araştırma sonuçları dikkate alınarak tartışılmıştır.

E. spectabilis M.Bieb, çok yıllık bir tür olmasına rağmen, önemli bir yabani bitki türü olması, ileride bu değerli türün olası muhtemel yok olma tehlikesine karşı koruma altına alınabilmesinin sağlanabilmesi açısından, bu türün tohumdan doku kültürü ortamında çoğaltımını sağlayabilecek alternatif tekniklerin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu sayede, tohumların *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi ile, gelişmiş bitkicikler elde edilebilinecek ve steril bitkiciklerden alınan eksplantlar ile çalışma amacına uygun *in vitro* teknikler kullanılarak sağlıklı, enfeksiyon riski az denemeler kurulabilinecektir. Ancak bu türün tohumlarında şiddetli fizyolojik dormansi görülmekte, tohumların çimlenebilmesi, uzun süre soğuklama ihtiyacı karşılandıktan sonra meydana gelmektedir.

E. spectabilis M.Bieb tohumlarının çimlenmesinde karşılaşılan sorunlar, gerek *in vitro* koşullarda gerekse *in vitro* dışında yapılan çalışmalar sonucunda çözüme kavuşturulmuştur (Keskiner, 2017; Keskiner ve Tuncer, 2019; Akdağ, 2019; Akdağ ve Tuncer, 2020a; Akdağ ve Tuncer, 2020b, Tuncer, 2020). Keskiner ve Tuncer (2019) tarafından yapılan ilk çalışmada, *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarının çimlendirilmesinde, sadece uzun süreli soğukta (4°C, 80-100 gün) nemli katlama uygulamalarının etkili olduğu, *in vitro* çimlendirme denemelerinden ise olumlu sonuç alınamadığı bildirilmiştir.

Bu çalışmayı takiben, tohumların çimlenebilmesi için uzun olan bu soğuklama süresini kısaltabilmek, çimlenme ve çıkış performansını artırabilmek amacıyla Akdağ ve Tuncer (2020a) tarafından başka bir çalışma planlanmıştır. Yapılan çalışmada, tohumlara soğukta nemli katlama uygulamaları ile birlikte farklı uygulamalar (GA_3, KNO_3, $CaCl_2$, tohum ucu kesme) kombine olarak uygulanmıştır. Araştırıcılar, tohum ucu kesme uygulamaları + soğukta nemli katlama uygulamaları kombinasyonundan oldukça olumlu sonuçlar alındığını, uçları kesilmiş tohumlarda 30 günden daha kısa süreli (20-25 günde) soğukta nemli katlama uygulamaları ile yüksek oranda çimlenme elde edildiğini saptamışlardır. Akdağ ve Tuncer (2020a) tarafından yapılan bu çalışma sonucunda, *E. spectabilis* M.Bieb tohumlarında görülen şiddetli fizyolojik dormansi, tohum uçlarının kesilerek yapıldığı fiziksel uygulamayla önemli ölçüde azaltılmış ve uçları kesilmiş tohumlarla *in vitro* koşullarda çimlenme çalışmalarının yapılmasına fırsat yaratmıştır.

Eremurus türlerinde *in vitro* rejenerasyon üzerine şuana kadar dünyada yapılmış sadece 2 çalışma mevcuttur. Tuncer (2017), *Eremurus spectabilis* M.Bieb' in yaprak ve rizom eksplantlarını, farklı MS ortam bileşimlerinde (2,4-D, 0.5–2.0 mg/l; BAP, 1.0–2.0 mg/l + 2,4-D, 0.5–2.0 mg/l) kültüre almış, ancak hiçbir ortam bileşimi ve eksplant tipinden sürgün elde edilemediğini bildirmiştir. Bu olumsuz sonuçların alınmasında, bu çalışmada fazla sayıda yabani bitki türü ile çalışılmasının, sınırlı sayıda MS ortam kombinasyonunun denenmesinin ve özellikle de araziden toplanan rizomların eksplant olarak kullanıldığı kültürlerde yoğun enfeksiyon görülmesinin etkisi olmuştur.

Tuncer (2017)' nin yapmış olduğu çalışmadaki olumsuzlukların giderebilmesi amacıyla, aynı araştırıcı tarafından dünya literatüründe de ilk olan kapsamlı başka bir çalışma yapılmıştır (Tuncer, 2020). Araştırıcı, bu çalışmasında *E.spectabilis* M.Bieb'

de, soğancık oluşumunu uyarmak için, uçları kesilmiş tohumlarla, *in vitro* koşullarda çimlendirme denemelerini kurmuş ve çimlendirilmiş 35-40 günlük steril bitkiciklerden aldığı hipokotil eksplantlarını, MS ortamında 36 farklı hormon kombinasyonunda kültüre almıştır. Araştırma sonucunda, en yüksek çimlenme oranının (%57.5), B5 ortamından sağlandığını bildirmiştir. Soğancık oluşum oranının ortam kombinasyonlarına göre değişim gösterdiği, en yüksek oranın (%100), MS ortamında TDZ (0.5 mg/l) ve NAA (0.5 ve 0.1 mg/l) içeren kombinasyonlar ile yalnızca 0.5 mg/l BAP içeren ortam bileşimininden (% 81.3) sağlandığı saptanmıştır. Tuncer (2020) tarafından yapılan çalışmada, çok sayıda ortam kombinasyonunun denenmesinin yanı sıra kültürlerin *in vitro* koşullarda gelişmiş steril bitkiciklerden alınan eksplantlarla başlatılması hem enfeksiyon oluşumunu engelledeğinden hem de soğancık oluşum oranını artırdığından başarıyı olumlu yönde etkilemiştir.

Burada sunulan tez çalışmasında ise; Tuncer (2020)' nin sonuçları dikkate alınarak, tohumların çimlendirilmesinde B5 ve WH ortamı kullanılmış, en yüksek çimlenme oranı %61.5 oranla B5 ortamından elde edilmiştir. *İn vitro* çimlendirme denemesinden elde edilen sonuçlar, bu bağlamda Tuncer (2020)' nin sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Bununla birlikte Tuncer (2020)'nin önerdiği gibi, MS besin ortam bileşimleri olarak; TDZ ve NAA kombinasyonlarının yanısıra BAP ve NAA içeren kombinasyonlar da deneme planına dahil edilmiştir. Ayrıca Tuncer (2020)' nin yapmış olduğu çalışmadan farklı olarak, bu çalışmada, birçok soğancık rejenerasyon parametresi (soğancık oluşum oranı, soğancık çapı, ortalama soğancık sayısı, soğancık sayısı/eksplant) değerlendirmeye alınmıştır. En yüksek soğancık oluşum oranı (%), 0.5 mg/l TDZ' nin 0.1 mg/l (%65.8) ve 0.5 mg/l NAA (%65.3) ile kombinasyonu ile 1 mg/l TDZ' in 0.5 mg/l NAA kombinasyonundan (%65.1) elde edilmiştir (Çizelge 4.2). Bu çalışmada, soğancık oluşum oranında (%) başarılı kombinasyonlar, Tuncer (2020)' nin başarılı bulduğu kombinasyonlarla pararellik göstermiş, ancak soğancık oluşum oranları (%) Tuncer (2020)' nin elde etmiş olduğu sonuçlara göre daha düşük olarak saptanmıştır.

Ortalama soğancık sayısı (adet) bakımından ise, en başarılı kombinasyonlar sırasıyla 1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA (17.5 adet) ve 0.5 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (12.3 adet) olmuştur. En yüksek ortalama soğancık çapı (cm), 4 mg/l TDZ (0.59 cm) içeren MS ortamından elde edilirken, bunu 0.54 cm soğancık çapı değeriyle aynı

istatistik grup içinde yer alan 0.5 mg/l TDZ' nin NAA (0.1 mg/l ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonları ve MS ortamında yalnızca 2 mg/l BAP içeren uygulamalar izlemiştir (Çizelge 4.2).

İncelenen soğancık gelişim parametreleri genel olarak değerlendirildiğinde, MS ortamında TDZ' nin düşük dozlarının (0.5 ve 1 mg/l), NAA (0.1 ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonları daha başarılı bulunmuştur. Bunun yanı sıra hipokotil eksplantlarından soğancık oluşumunun uyartılması üzerine TDZ ve NAA kombinasyonları, BAP ve NAA kombinasyonlarına göre daha etkili bulunmuştur.

Araştırmanın ikinci kısmında, Tuncer (2020)' nin de önerdiği üzere, elde edilen *in vitro* soğancıkların iriliğinin artırılması ve bu soğancıklardan sürgün elde edilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla 2 farklı deneme kurulmuştur. Soğancık iriliğinin artırılması üzerine her 2 deneme sonucu ortalamasına göre; soğancık rejenerasyonu (ortalama %79.0) ve soğan çapı (ortalama 2 cm) bakımından 1 mg/ TDZ + 0.1 mg/l NAA kombinasyonu en başarılı kombinasyon olmuştur. Ortalama soğancık sayısı bakımından ise (ortalama 34.8 adet), 2 mg/l TDZ'nin NAA (0.1 ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonları daha etkili olarak belirlenmiştir. Yine incelenen parametreler bakımından TDZ + NAA kombinasyonları, BAP + NAA kombinasyonlarına göre daha etkin bulunmuştur. Sürgün rejenerasyonu bakımından ise her iki deneme sonuçlarından alınan değerler değişkenlik göstermiştir.

Sonuç olarak; ileride *E. spectabilis* M.Bieb' de *in vitro* koşullarda soğan üretimi üzerine yapılacak çalışmalarda, öncelikli olarak MS ortamında TDZ' nin düşük dozlarının (0.5 ve 1 mg/l) NAA (0.1 ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonlarının denenmesinin, bunun yanı sıra BAP'ın yüksek dozlarının da (4 mg/l ve üzeri) NAA (0.1 ve 0.5 mg/l) ile kombinasyonlarının denenebileceğinin uygun olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Akdağ, Ş., 2019. ***Çiriş (Eremurus spectabilis M.Bieb) tohumlarında çimlenme ve çıkış performansını artırmaya yönelik farklı kombinasyon uygulamaları*** (yüksek lisans tezi, basılmamış). VYYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

Akdağ, Ş., Tuncer, B., 2020a. Effects of combined pretreatments on germination and emergence of wild *Eremurus spectabilis* M.Bieb. seeds. ***Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca,* 48** (2): 1017-1026.

Akdağ, Ş., Tuncer, B., 2020b. Effects of moist-cold stratification and gibberellic acid applications on breaking seed dormancy in foxtail lily (*Eremurus spectabilis* M.Bieb.). ***Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi,* 7** (1): 41-46.

Alizadeh, B., Royandazagh, S.D., Khawar, K.M., Ozcan, S., 2013. Micropropagation of garlic chives (*Allium tuberosum* Rottl. Ex Sprang) using mesocotyl axis. ***The Journal of Animal & Plant Sciences,* 23** (2): 543- 549.

Aslay, M., Çukadar, K., Kadıoğlu, Z., 2011. ***Farklı dikim sıklıklarının çiriş (Eremurus spectabilis (Bieb.) Fedtsch.)'te verim ve bazı verim unsurlarına etkisi.*** VI. Bahçe Bitkileri Kongresi, Şanlıurfa.

Ault, J.R., Siqueira, S.S. 2008. Morphogenetic response of *Lilium michiganense* to four auxin-type plant growth regulators *in vitro*. ***Hortscience,* 43** (6): 1922–1924.

Bairu, M.W., Stirk, W.A., Dolezal, K., Van Staden, J., 2007. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 90** (1): 15-23.

Banciu, C., Mitoi, M., Helepciuc, F., Aldea, F. 2010. *In vitro* propagation of critically endangered species *Scilla autumnalis* L.–biochemical analyses of the regenerants. ***Analele Universitatii din Oradea—Fascicula Biologie,* 17** (2): 318-323.

Baskaran, P., Kumari, A., Naidoo, D., Van Staden, J., 2015. *In vitro* propagation and biochemical changes in *Aloe pruinosa*. ***Industrial Crops and Products,* 77:** 51-58.

Bakhshaie, M., Babalar, M., Mirmasoumi, M., Khalighi, A. 2010. Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss., an endangered species. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 102** (2): 229-235.

Baytop, T., 1984. ***Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi***, İstanbul Üniv. *Eczacılık Fakültesi Yayınları*.

Chauhan, H.K., Bisht, A.K., Singh, L., 2015. Effects of phytohormones BA (6-benzylaminopurine) and IBA (Indole-3-butyric acid) on shoot and root multiplication in *Allium hookeri* Thw. Enum. ***International Journal of Environmental Science and Technology,* 10:** 87-93.

Choudhary, A.K., Ray, A.K., Jha, S., Mishra, I.N., 2011. Callus formation, shoot initiation and *in vitro* culture of *Aloe vera*. ***Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering,* 1** (4): 551-553.

Cakmak, D., Karaoğlu, C., Aasim, M., Sancak, C., Özcan, S. 2016. Advancement in protocol for *in vitro* seed germination, regeneration, bulblet maturation, and acclimatization of *Fritillaria persica*. **T*urkish Journal of Biology,* 40** (4): 878-888.

Dashti, M., Tavakoli, H., Zarif Ketabi, H., Paryab, A., 2005. Ecological requirements of plant of *Eremurus* (*Eremurus spectabilis* MB) in Khorasan province. ***Iranian Journal of Range and Desert Research,* 12** (2): 153-165.

Dunstan, D.I., Short, K.C. 1977. Improved growth of tissue cultures of onion, *Alliumcepa*. ***Physiologia Plantarum*, 41**(1): 70-72.

Eghtedarnejad, N., Mansouri, H.R., 2016. Building wooden panels glued with a combination of natural adhesive of tannin/*Eremurus* root (syrysh). ***European Journal of Wood and Wood Products*, 74** (2): 269-272.

Gamborg, O.L., Miller, R., Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. ***Experimental Cell Research*, 50** (1): 151-158.

Garro-Monge, G., Gatica-Arias, A.M., Valdez-Melara, M., 2008. Somatic embryogenesis, plant regeneration and acemannan detection in *aloe* (*Aloe barbadensis* Mill.). ***Agronomía Costarricense*, 32** (2): 41-52.

Güngör, F., 2002. ***Yabani Olarak Yetişen Çiriş* (*Eremurus spectabilis* Bieb Fedtsch.), *Çaşır* (*Prangos ferulacea* Lindl) *ve Sarı Çaşır* (*Hippomarathum microcarpum* Bieb) *Bitkilerinin Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri, ile Kültüre Alınabilme İmkanları Üzerine Araştırmalar*** (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Hailekidan, B., Andargie, M., Assefa, K., 2013. *In vitro* plantlet regeneration from the bulbs of shallot (*Allium cepa* var. group *aggregatum*). ***Research in Plant Sciences*, 1** (2): 45-52.

Haibin, G., Jiajun, L. 2006. The bulb scale and bulblet culture *in vitro* of *Lilium lancifo*lium Thunb. ***Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2.**

Heshmatol Vaezin, S.M., Ghanbari, S., Tavili, A.L.I., 2010. Income of *Eremurus* (*Eremurus olgae*) and forage production in the Khazangah rangelands of Makoo. ***Journal of Range and Watershed Managment*, 63** (2): 183-14.

Jakhar, M.L., Gurjar, Y.R., Choudhary, M.R., Kakralya, B.L., 2012. Regeneration in callus cultures of Ghritkumari (*Aloe barbadensis* Mill.). ***Journal of Plant Science Research*, 28** (1): 131-136.

Kamenetsky, R., Akhmetova, M., 1994. Floral development of *Eremurus altaicus* (Liliaceae). ***Israel Journal of Plant Sciences*, 42** (3): 227-233.

Kamaleswari, K., Nandagopalan, V., Lakshmi Prabha, A. 2016. Effects of plant growth regulators on in-vitro regeneration of a potential medicinal plant-*Scilla hyacinthina* (Roth.) JF Macbr. ***Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 4** (01): 043-046.

Kaska, A., Yildirim, S., Top, B., Celebi-Toprak, F., Alan, A.R., 2016. *In vitro* propagation of leek (*Allium ampeloprasum* L.). ***Acta Horticulturae*, 1143**: 55-60.

Kedra, M., Bach, A. 2005. Morphogenesis of *Lilium martagon* L. explants in callus culture. ***Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47** (1): 65–73.

Kemat, N., Kadir, M.A., Abdullah, N.A.P., Ashraf, F.S. 2010. Rapid multiplication of Safed musli (*Chlorophytum borivilianum*) through shoot proliferation. ***African Journal of Biotechnology*, 9** (29): 4595-4600.

Keskiner, K., 2017. ***Yabani Olarak Yetişen Çirişte (Eremurus spectabilis M.Bieb) Tohum Dormansisini Kırıcı Uygulamalar Üzerine Araştırmalar*** (yüksek lisans tezi, basılmamış). VYYÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

Keskiner, K., Tuncer, B., 2019. Dormancy breaking treatments for wild *Eremurus spectabilis* M.Bieb seeds. ***Fresenius Environmental Bulletin*, 28** (2A): 1167-1173.

Kizil, S., Icgil, D.Y., Khawar, K.M., 2014. Improved *in vitro* regeneration and propagation of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum* L.). ***The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89** (4): 408-414.

Kozak, D., Stelmaszczuk, M., 2013. Comparison of *Allium aflatunense* B. Fedtsch.'Purple Sensation'and *Allium karataviense* Regel.'Ivory Queen'regenerative capabilities in tissue culture. ***Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus,*** **12** (6): 197-213.

Kwon, Y.H., Jeong, J.H., Lee, J.S., Jeon, J.O., Park, Y.U., Min, J.H., Kim, K.H., 2018. Multiple shoot induction and bulb mass proliferation system by in vitro immature spathe culture of elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.). ***Korean Journal of Plant Resources,*** **31** (4): 355-362.

Lattoo, S.K., Bamotra, S., Dhar, R.S., Khan, S., Dhar, A.K. 2006. Rapid plant regeneration and analysis of genetic fidelity of *in vitro* derived plants of *Chlorophytum arundinaceum* Baker—an endangered medicinal herb. ***Plant Cell Reports,*** **25** (6): 499-506.

Mao, A.A., Wetten, A., Fay, M.F., Caligari, P.D.S. 2002. *In vitro* culture of *Lilium mackliniae* sealy,a rare endemic species. ***Indian Journal of Plant Physiology,*** **7** (3): 239-245.

Mohammadi-Dehcheshmeh, M., Khalighi, A., Naderi, R., Ebrahimie, E., Sardari, M. 2007. Indirect somatic embryogenesis from petal explant of endangered wild population of *Fritillaria imperialis*. ***Pakistan Journal of Biological Sciences,*** **10** (11): 1875-1879.

Molsaghi, M., Moieni, A., Kahrizi, D., 2014. Efficient protocol for rapid *Aloe vera* micropropagation. ***Pharmaceutical Biology,*** **52** (6): 735-739.

Monemi, M.B., Kazemitabar, S.K., Khaniki, G.B., Yasari, E., Sohrevardi, F., Pourbagher, R., 2014. Tissue culture study of the medicinal plant leek (*Allium ampeloprasum* L). ***International Journal of Molecular and Cellular Medicine,*** **3** (2): 118-125.

Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia* ***Plantarum,*** **15** (3): 473-497.

Özdemir, F.A., Yildirim, M.U., Kahriz, M.P., Kilic, O., 2016. *In vitro* bulblet regeneration from *Scilla siberica* Haw. subsp. Armena (Grossh.) Mordak peduncle. ***Propagation of Ornamental Plants,*** **16** (1): 14-18.

Özdemir, F.A., Kılıç, Ö., Bağcı, E. 2017. *In vitro* bulb regeneration from stem explants of endemic geophyt *Muscari aucheri* (Boiss.) Baker. ***International Journal of Secondary Metabolite,*** **4** (3, Special Issue 1): 50-54.

Ozel, C.A., Khawar, K.M., Unal, F. 2015. Factors affecting efficient *in vitro* micropropagation of *Muscari muscarimi* Medikus using twin bulb scale. ***Saudi Journal of Biological Sciences,*** **22** (2): 132–138.

Pourfarzad, A., Najafi, M.B.H., Khodaparast, M.H.H., Khayyat, M.H., Malekpour, A., 2014. Fractionation of (*Eremurus spectabilis*) fructans by ethanol: Box–Behnken design and principal component analysis. ***Carbohydrate Polymers,*** **106***:* 374-383.

Rahmanpour, A., Majd, A., Chalabiane, F., 2005. Effects of gibberellic and citric acid on germination percentage, speed of germination and seed vigor of *Eremurus spectabilis* MB. ***Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research,*** **13** (1): 53-66.

Razib, M.A., Mamun, A.N.K., Kabir, M.H., Al Din, S.M.S., Hossain, Firoz Alam, M.E.M., 2016. High frequency *in vitro* propagation of *Aloe vera* L. through shoot tip culture. ***International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology,*** **7** (4): 28-32.

Saggoo, M., Kaur, R., 2010. Studies in North Indian *Aloe vera*: callus induction and regeneration of plantlets. ***Archives of Applied Science Research***, **2** (2): 241-245.

Salam, M.A., Ali, M.R., Ali, M.E., Alam, K.A., Reza, M.S.H., Islam, S., Rahman, S.M.M., 2010. Callus induction and regeneration of indigenous garlic (*Allium sativum* L.). ***American Journal of Plant Physiology,*** **5** (1): 39-45.

Schiappacasse, F., Szigeti, J. C., Manzano, E., Kamenetsky, R., 2012. ***Eremurus as a new cut flower crop in Aysen, Chile: introduction from the northern hemisphere.*** In XI International Symposium on Flower Bulbs and Herbaceous Perennials, 1002, pp. 115-121.

Sharma, S., Sharma, D., Kanwar, K., 2015. Technology refinement for micropropagated *Aloe vera* L.: a miracle plant. ***Research in Plant Biology,*** **5** (4): 1-10.

Suh, S.Y., Baskar, T.B., Kim, H.H., Al-Dhabi, N.A., Park, S.U., 2015. Ethylene inhibitors promote shoot organogenesis of *Aloe arborescens* Miller. South ***Indian Journal of Biological Sciences,*** **1** (1): 43-46.

Sun, L., Jin, L. 2011. Studies on the *in vitro* rapid propagation of *Lilium* X *Longliflorum*. ***Liaoning Agricultural Science,*** 2011-06.

Tang, D., Wang, Y., Xu, J., Li, W., Tian, G., Tang, K. 2009. Adventitious shoot induction and plant regeneration from leaf explants of *Lilium longiflorum* Thunb. ***Propagation of Ornamental Plants,*** **9** (2): 84-89.

Tosun, M., Ercisli, S., Ozer, H., Turan, M., Polat, T., Ozturk, E., Kilicgun, H., 2012. Chemical composition and antioxidant activity of foxtail lily (*Eremurus spectabilis*). ***Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus,*** **11** (3): 145-153.

Tuncer, B., 2017. Investigation of the *in vitro* regeneration of some medical and aromatic wild plant species. ***Applied Ecology and Environmental Research,*** **15** (4): 905-914.

Tuncer, B., 2018. ***Identification of Wild Plants Which as Vegetable Consumed in Van Province in Turkey.*** 3rd International Conference on Engineering Technology and Applied Sciences, Skopje, Makedonya, 17-21 Temmuz 2018, pp.79-85.

Tuncer, B., 2020. *In vitro* germination and bulblet and shoot propagation for wild edible *Eremurus spectabilis* M.Bieb. ***Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca,*** **48** (2): 814-825.

Tuncer, B., 2021. ***Çiriş Otu'nda (Eremurus spectabilis M.Bieb) Kültüre Alma Çalışmalarının Mevcut Durumu***. Euro Asia 8th International Congress on Applied Sciences, Toskent, Özbekistan, 15 - 16 Mart 2021, pp.189-200.

Tuzcu, Z., Koclar, G., Agca, C.A., Aykutoglu, G., Dervisoglu, G., Tartik, M., Sahin, K., 2017. Antioxidant, antimicrobial and anticancer effects of different extracts from wild edible plant *Eremurus spectabilis* leaves and roots. ***International journal of clinical and experimental medicine,*** **10** (3): 4787-4797.

Tuzlacı, E., 1985. The genus *Eremurus* (Liliaceae) in Turkey. ***Journal of Pharmacy of University of Marmara*** **1** (1-2):91- 100.

Tuzlacı, E., Doğan, A., 2010. Turkish folk medicinal plants,IX: Ovacık (Tunceli). ***Marmara Pharmaceutical Journal****,* **14***:* 136-143.

Ulukapi, K., Nasircilar, A.G., Onus, A.N., Baktir, İ. 2014. *In vitro* propagation and determination of the nutrient content of naturally grown *Asparagus tipularis* Forssk. ***Archives of Biological Sciences,*** **66** (4): 1333-1338.

Venkatachalam, P., Ezhili, N., Thiyagarajan, M. 2012. ***In Vitro Shoot Multiplication of Gloriosa Superba L.– An Important Anticancer Medicinal Herb.*** International

Conference on Biotechnology, Biological and Biosystems Engineering (ICBBBE 2012), Phuket (Thailand), December 18-19, pp. 246-249.

Wawrosch, C., Malla, P.R., Kopp, B., 2001. Micropropagation of *Allium wallichii* Kunth, a threatened medicinal plant of Nepal. ***In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant,*** **37** (5): 555-557.

Wendelbo, P., 1982. Asphodeloideae: Asphodelus, Asphodeline & Eremerus. ***Flora Iranica,*** **151**: 3-31.

White, P.R. 1943. Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient for cultivation of excised tomato roots. ***Growth,*** **7:** 53-65.

Yang, W., Zhang, O., Pan, H., Sun, M. 2010. *In vitro* regeneration of *Lilium tsingtauense* Gilg. and analysis of genetic variability in micropropagated plants using RAPD and ISSR techniques. ***Propagation of Ornamental Plants,*** **10** (2): 59-66.

Yanmaz, R., Yazar, E., Kantoglu, K.Y., Alper, A., 2010. *In vitro* plant regeneration and bulblet formation of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Siraneci) by shoot and root culture. ***Journal of Food, Agriculture & Environment,*** **8** (3&4): 572-576.

Zhang, M., Jia, G. 2014. The effects of sucrose concentration and light condition on lily's bulblet-in-tube production and inclusion content. ***Pakistan Journal of Botany,*** **46** (1), 307-315.

ÖZ GEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimini Antalya Meltem İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini ise Antalya Muratpaşa Lisesi'nde tamamladı. 2004 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne girmeye hak kazandı. 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden Ziraat Mühendisi ünvanı ile mezun oldu. Mezuniyetin ardından Antalya Güneşler Tarım'da stajyerliğini tamamladıktan sonra; Eyo Danışmanlık ve sonrasında ASB Süs Bitkileri ve Peyzaj'da görev yaptı. 2011 yılında Tarım Reformu Genel Müdürlüğü Iğdır Bölge Müdürlüğü'ne Mühendis ünvanı ile atandı. Görevine Van İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde devam etmektedir. 2018 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORİJİNALLİK RAPORU

Tarih:../.. /...

Tez Başlığı / Konusu: Çiriş (Eremurus Spectabilis M. Bieb)'de *in vitro* Mikroçoğaltım Protokolünün Geliştirilmesi

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 29 sayfalık kısmına ilişkin, 06/12/2021 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %(yüzde 15' dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:
- Materyal ve yöntem hariç,
- Kaynaklar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza 06-12-2021

Adı Soyadı: Saadet SICAKYÜZ

Öğrenci No: 18910001188

Anabilim Dalı: Bahçe Bitkileri

Programı:

Statüsü:xYüksek Lisans □ Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

Doç. Dr. Ruhi TÜRKER

ENSTİTÜ ONAY
UYGUNDUR