

**BAZI ZAMBAK (*Lilium* spp.) TÜRLERİNİN *IN VITRO*
ÇOĞALTIMI**

DOĞAN GÜRSAN



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ZAMBAK (*Lilium spp.*) TÜRLERİNİN *IN VITRO* ÇOĞALTIMI

Doğan GÜRSAN

Doç. Dr. Mehmet ÖZGÜR
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2014

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Doğan GÜRSAN tarafından hazırlanan “Bazı Zambak (*Lilium* spp.) Türlerinin *In Vitro* Çoğaltımı” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Mehmet ÖZGÜR

Başkan: Doç. Dr. Mehmet ÖZGÜR
U.Ü.Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Himmet TEZCAN
U.Ü.Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Ahmet İPEK
U.Ü.Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü
12/02/2014

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
 - atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
 - kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
 - ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı
- beyan ederim.**

22/01/ 2014

Doğan GÜRSAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ZAMBAK (*Lilium* spp.) TÜRLERİNİN *IN VITRO* ÇOĞALTIMI

Doğan GÜRSAN

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet ÖZGÜR

Bu çalışmada iki zambak türünün (*Lilium candidum* L. ve *Lilium martagon* L.) *in vitro* da embriyo kültürü ile çoğaltımında yetiştirme ortamlarının etkileri araştırılmıştır. Zambak embriyoları sekiz farklı yetiştirme ortamına [MS (Kontrol), MS + 0,01 mg/l NAA, MS + 0,02 mg/l NAA, 1/2 MS, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP, 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP] ekilerek bu ortamların çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları ile bitkiciklerdeki bazı morfolojik gelişmelere olan etkileri (soğancık oluşumu, bitkicik boyu, yaprak sayısı, kök sayısı, kök uzunluğu ve kök kalınlığı) incelenmiştir.

Çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine en iyi sonuçlar; *L.candidum* L. türünde MS + 0,01 mg/l NAA, *L. martagon* L. türünde ise 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA yetiştirme ortamından elde edilmiştir. Bu yetiştirme ortamlarında çimlenme oranları % 100.00 ve % 92.00 olarak gerçekleşmiştir. MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamı *L. candidum* L. bitkiciklerinin morfolojik gelişmeleri üzerine de olumlu etki göstermiştir. *L. martagon* L. türünde bitkiciklerin morfolojik gelişmeleri üzerine yetiştirme ortamları farklı etkilerde bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Lilium candidum* L., *Lilium martagon* L, Embriyo kültürü, MS, NAA, BAP

2014, vii + 64 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

IN VITRO PROPAGATION OF SOME LILIUM (*Lilium* spp.) SPECIES

Doğan GÜRSAN

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet ÖZGÜR

In this study, *in vitro* embryo cultures of two lily species (*Lilium candidum* L. and *Lilium martagon* L.) were carried out to investigate the effects of various growing media. Lily embryos were planted onto eight different nutrient media [MS (control), MS + 0,01 mg/l NAA, MS + 0,02 mg/l NAA, 1/2 MS Control, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP, 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP]. Rates of germination, embryo development and rooting were determined and morphological characters of plantlets such as bulb formation, shoot length, number of leaves, root number, root length and root diameter were examined.

For germination, embryo development and rooting rate, the best results were obtained on MS medium with 0.01 mg / l NAA for *L. candidum* L. and 1/2 MS medium with 0.02 mg/l NAA for *L. martagon* L. Germination rate was 100.00 % on MS medium with 0.01 mg / l NAA for *L. candidum* L while it was 92.00 % 1/2 MS medium with 0.02 mg/l NAA for *L. martagon* L. *L. candidum* L. plantlets showed better development on MS medium with 0,01 mg/l NAA. On the other hand, *L. martagon* L. plantlets required different media for different developmental stages.

Key words: *Lilium candidum* L., *Lilium martagon* L., Embryo culture, MS, NAA, BAP.

2014, vii + 64 pages

TEŞEKKÜR

“ BAZI ZAMBAK (*Lilium* spp.) TÜRLERİNİN *IN VITRO* ÇOĞALTIMI ” isimli tezimi hazırlamamda yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet ÖZGÜR’e teşekkür ederim.

Tez konusunu bulmamda ve tez materyalinin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Uz. Erdal KAYA’ ya teşekkürlerimi sunarım.

Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü imkanlarından yararlanmamı sağlayan Sayın M. Emin ERGUN’a ve Sayın Kamil ERKEN’e teşekkürü bir borç bilirim.

Doku kùltürü laboratuvarında bana yardımcı olan Sayın Ayşe FİDANCI’ ya ve laboratuvardaki yardımlarından dolayı Sayın Suna BAŞER’ e teşekkür ederim.

İstatistiki analizleri hazırlamadaki yardımlarından dolayı Sayın İbrahim SÖNMEZ ve Sayın Barış ALBAYRAK’ a çok teşekkür ederim.

Tezi düzenlememde yardımı bulunan Sayın Doç. Dr. Ahmet İPEK ‘ e teşekkür ederim.

Son olarak, beni destekledikleri ve sabır gösterdikleri için aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Doğan GÜRSAN
22/01/2014

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1. Materyal.....	26
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Yetiştirme Ortamlarının Hazırlanması.....	28
3.2.2. Bitkisel Materyalin Hazırlanması ve İncelenen Parametreler.....	30
3.2.3. Verilerin Değerlendirilmesi.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. <i>L. candidum</i> L.' dan Elde Edilen Sonuçlar.....	36
4.1.1. <i>L. candidum</i> L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Çimlenme, Embriyo Gelişimi ve Köklenme Oranları Üzerine Etkileri.....	36
4.1.2. <i>L. candidum</i> L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Bitkiciklerin Morfolojik Gelişimleri Üzerine Etkileri.....	36
4.2. <i>L. martagon</i> L.' dan Elde Edilen Sonuçlar.....	39
4.2.1. <i>L. martagon</i> L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Çimlenme, Embriyo Gelişimi ve Köklenme Oranları Üzerine Etkileri.....	39
4.2.2. <i>L. martagon</i> L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Bitkiciklerin Morfolojik Gelişimleri Üzerine Etkileri.....	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. <i>L. candidum</i> L. bitkisinin görünüşü.....	26
Şekil 3.2. <i>L. martagon</i> L. bitkisinin görünüşü	27
Şekil 3.3. <i>L. candidum</i> L. tohumları, tohum ve embriyo uzunluklarına ilişkin görüntüler	28
Şekil 3.4. <i>L. martagon</i> L. tohumları, tohum ve embriyo uzunluklarına ilişkin görüntüler	28
Şekil 3.5. Kullanılan stok çözeltiler.....	29
Şekil 3.6. Denemede kullanılan otoklavın görünüşü.....	29
Şekil 3.7. Antibakteriyel sıvı sabunla yıkanmış <i>Lilium candidum</i> L. tohum kapsülleri.....	30
Şekil 3.8. Sodyum hipoklorit çözeltisinde bekletilen zambak kapsülleri.....	31
Şekil 4.1. <i>L. candidum</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri	35
Şekil 4.2. <i>L. candidum</i> L. türüne ait bitkicikte köklenmeye ait genel görünüş.....	36
Şekil 4.3. <i>L. candidum</i> L. türüne ait bitkicikte soğancığın görünüşü	37
Şekil 4.4. <i>L. candidum</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının soğancık oluşumu, yaprak sayısı ve kök sayısı üzerine etkileri.....	38
Şekil 4.5. <i>L. candidum</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkicik boyu, kök uzunluğu ve kök kalınlığı üzerine etkileri.....	38
Şekil 4.6. <i>L. martagon</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri.....	40
Şekil 4.7. <i>L. martagon</i> türünde soğancık oluşumuna ait genel görünüş.....	42
Şekil 4.8. <i>L. martagon</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının soğancık oluşumu, yaprak sayısı ve kök sayısı üzerine etkileri.....	43
Şekil 4.9. <i>L. martagon</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkicik boyu, kök uzunluğu ve kök kalınlığı üzerine etkileri.....	43
Şekil 4.10. <i>L. martagon</i> L. türüne ait bitkicikte yaprakların görünüşü.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Soğanlı ve yumrulu gruplar olarak geofitlerin sınıflandırılması.....	2
Çizelge 4.1. <i>L. candidum</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri.....	34
Çizelge 4.2. <i>L. candidum</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkiciklerin morfolojik gelişimleri üzerine etkileri.....	37
Çizelge 4.3. <i>L. martagon</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri.....	40
Çizelge 4.4. <i>L. martagon</i> L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkiciklerin morfolojik gelişimleri üzerine etkileri.....	42

SİMGELER ve KISALTMALAR

BA	:	Benzyladenin
BAP	:	Benzil aminopürin
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
GA ₃	:	Gibberelik asit
HgCL ₂	:	Civa klorid
IAA	:	Indol-3-Asetik asit
IBA	:	Indol-3-Bütirik asit
NAA	:	Naftalenasetik asit
NaClO	:	Sodyum hipoklorit
MS	:	Murashige and Skoog
TDZ	:	Thidiazuron
2,4-D	:	2,4-Dikloroasetikasit
°C	:	Santigrat derece
cm	:	Santimetre
g	:	Gram
g/l	:	Gram/Litre
l	:	Litre
mg	:	Miligram
mg/l	:	Miligram/Litre
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
%	:	Yüzde
M	:	Molar
μM	:	Mikromol

1. GİRİŞ

Türkiye, bitki türlerinin çokluğu bakımından dünyanın zengin ülkelerinden birisidir. Türkiye’de yaklaşık 10 150 adet bitki türü bulunmakta olup bu bitkilerden 3 000 kadarı endemiktir. Ülkemizde yetişen bitkiler hem ülke içinde hem de yurtdışında ticari değer taşımaktadır. Doğadan toplanarak ihracatı yapılan tür sayısı 347 adettir. Bunlardan 13 tanesi soğanlı yumrulu bitkidir (Karaoğlu 2010).

Genellikle çiçek soğanları ya da soğanlı bitkiler olarak da adlandırılan geofitler, toprak üstü organları büyüme mevsiminde gelişimini tamamladıktan sonra (gövde, yapraklar ve çiçek) kuruyarak ölmesine rağmen, yaşamlarını toprak altında sürdürebilecek organlara sahip iki ya da çok yıllık otsu bitkilerdir. Bu bitkilerin gövdeleri, bitkinin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan gıda maddelerini depo etmek üzere soğan, yumru ve rizom şeklinde değişikliğe uğramıştır ve toprak seviyesinin altında yer almaktadır. Türkiye florasında, 26 cinse bağlı 540 geofit türünün bulunduğu kaydedilmektedir. Birçok farklı familya ve cinsten bitki bu grupta yer almaktadır. *Liliaceae*, *Amarylidaceae*, *Iridaceae*, *Orchidaceae* ve *Araceae* başlıca geofit familyalarıdır (Arslan 1998, Seyidoğlu 2009, Asil ve Sarıhan 2010, Özel ve Erden 2010, Allahverdikhan ve ark. 2012).

Sahip oldukları özelliklerden dolayı geofitler, milattan önceki devirlerden beri iyi bilinmekte, süs bitkisi olarak kullanımının dışında, tıbbi ve aromatik amaçlı olarak da yaygın bir şekilde değerlendirilmektedir. Eskiden beri tıbbi bitki olarak kullanılan bu bitkiler, günümüzde de modern tıpta kullanılmaya devam edilmektedirler. Örneğin, *Lilium candidum* L. soğanları içerdiği saponinlerden dolayı yanık ve şişliklerin tedavisinde tıbbi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Mimaki ve ark. 1999, Özel ve Erden 2010).

Türkiye florasının zenginliği içerisinde yer alan geofitler, uzun yıllardan beri bilim adamlarının ilgi odağı olmuş, başlangıçta botanik bahçelerinin zenginleştirilmesi için, daha sonraki yıllarda ise ticari amaçlı olarak doğadan sökümleri yapılmıştır. Yüksek orandaki talepler, bilinçsizce yapılan sökümler bazı endemik türlerin yok olmasına

neden olmuştur. Bundan dolayı geofitlerin, öncelikle doğadan toplanması yerine, kültürel şartlarda üretimlerinin yapılması gerekmektedir (Ulus ve Seyidoğlu 2004).

Geofitler, tohumlu bitkilerden (*Spermatophyta*) kapalı tohumlular (*Angiospermae*) içerisinde yer alırlar. Bu grup monokotiledon (tek çenekli) ve dikotiledon (çift çenekli) türleri içerir ve bunlar da soğanlı ve yumru bitkiler olmak üzere iki guruba ayrılırlar (Çizelge 1.1). Birçok araştırmacı tarafından geofitler gerçek soğan, soğan, yumru, korm (soğanımsı yumru) vb. olarak gruplara ayırmışlardır. Fakat soğan terimi, soğanlı, yumrulu, rizomlu olsun tüm geofitler için uygun bir terim olmaktadır. Bu nedenle

Çizelge 1.1. Soğanlı ve yumrulu gruplar olarak geofitlerin sınıflandırılması (De Hertogh ve Le Nard 1993).

GRUP	TİP	ALT SINIF	TÜR
Soğanlılar grubu	Gerçek soğanlar	Dikotiledon	<i>Oxalis cernua</i>
		Monokotiledon	<i>Allium</i> türlerinin çoğu, <i>Amaryllis belladonna</i> , <i>Camassia</i> , <i>Chionodoxa</i> , <i>Endymion</i> , <i>Eucharis</i> , <i>Eucomis</i> , <i>Fritillaria</i> , <i>Galanthus</i> , <i>Galtonia</i> , <i>Haemanthus</i> , <i>Hippeastrum</i> , <i>Hyacinthus</i> , <i>Hymenocallis</i> , <i>Iris hollandica</i> , <i>Iris reticulata</i> , <i>Iris xiphoides</i> , <i>Ixiolirion</i> , <i>Lachenalia</i> , <i>Leucojum</i> , <i>Lycaris</i> , <i>Lilium</i> türlerinin çoğu, <i>Muscari</i> , <i>Narcissus</i> , <i>Nerine</i> , <i>Ornithogalum</i> , <i>Polianthes</i> , <i>Puschkinia</i> , <i>Scilla</i> , <i>Tulipa</i> , <i>Urgenia</i> , <i>Zephyranthes</i>
	Soğanımsı yumru (Corm)	Dikotiledon	<i>Liatris</i>
		Monokotiledon	<i>Acidanthera</i> , <i>Babiana</i> , <i>Colchicum</i> , <i>Crocasmia</i> , <i>Crocus</i> , <i>Erythranium</i> , <i>Freesia</i> , <i>Gladiolus</i> , <i>Ixia</i> , <i>Sparaxis</i> , <i>Tigrida</i> , <i>Triteleria</i>
Yumrulular grubu	Yumru (Tuber)	Dikotiledon	Bazı <i>Anemone</i> türleri, <i>Eranthis</i>
		Monokotiledon	<i>Caladium</i> , <i>Gloriosa</i> , <i>Zantedeschia</i> türlerinin çoğu.
	Yumrukök (Tuberous)	Dikotiledon	<i>Astilbe</i> , <i>Dahlia</i> , <i>Eremurus</i> , Bazı <i>Oxalis</i> türleri, <i>Ranunculus</i>
		Monokotiledon	<i>Hemerocallis</i>
	Rizom	Dikotiledon	<i>Achimenes</i> , bazı <i>Anemone</i> türleri, bazı <i>Oxalis</i> türleri.
		Monokotiledon	Bazı <i>Allium</i> türleri, <i>Agapanthus</i> , <i>Alstroemeria</i> , <i>Anigozanthus</i> , <i>Canna</i> , <i>Clivia</i> , <i>Convallaria</i> , Bazı <i>Iris</i> türleri, Bazı <i>Lilium</i> türleri, <i>Scadoxus</i> , <i>Zantedeschia aethiopica</i> .
	Genişletilmiş hipokotil	Dikotiledon	<i>Begonia</i> (yumrulu hibritler), <i>Cyclamen</i> , <i>Gloxinia</i>
		Monokotiledon	-

geofitler soğanlı bitkiler olarak adlandırılmaktadır. Geofitlerin büyük bir çoğunluğu monokotiledondur ve birkaç familyaya aittir (Rees 1992, De Hertogh ve Le Nard 1993, Zencirkıran 2002).

Ülkemizde 2013 yılı verilerine göre, kesme çiçek üretimi yapılan alanların % 41.7' sinde karanfil yetiştirilmekte ve bunu gül (% 15.3) izlemektedir. Gerbera % 9.1, kasımpatı % 4.36, zambak % 4.0, glayöl % 3.5, nergis % 3.4'lük oranlara sahiptir. Geriye kalan % 18.6'lık alanda diğer kesme çiçeklerin (freesia, lisianthus, gypsophylla, solidago, statice vb.) üretimi yapılmaktadır. Türkiye'de hemen herkes tarafından bilinen yılan yastığı (*Arum* spp.), zambak (*Lilium* spp.), yılan bıçağı (*Dracunculus* spp.), kar çiçeği (*Eranthis* spp.), devetabanı (*Geranium* spp.), çakal nergisi (*Sternbergia* spp.) ve göl soğanı (*Leucojum aestivum* L.) en çok ihracatı yapılan geofitlerdendir (Güner ve ark. 2000, Anonim 2005, Özel ve Erden 2010, Saygılı 2012, Kazaz ve ark. 2013).

Süs bitkileri sektörü içerisinde ekonomik bakımdan önemli olan çiçek soğanlarından lale ve zambak gibi türlerin dünyada kesme çiçek olarak kullanımları oldukça yaygındır. Bu türler dünya süs bitkileri sektöründe ilk sırada yer alan Hollanda' nın en önemli üretim kalemlerini oluşturmaktadır (Buschman 2004, Dal ve ark. 2010, Saygılı 2012).

Zambak, *Liliaceae* familyasından, çok yıllık, otsu ve soğanlı bir bitkidir. Soğanlı bitkiler içinde soğanlı pullu yapısıyla diğer bitkilerden ayrılmaktadır. Balık pullarına benzeyen bu yapılar besin depo eden yapraklardır. Morfolojik olarak bir soğan; bazal plaka olarak adlandırılan ve bir veya daha fazla apikal meristemi olan, birçok pullarla bütünleşmiş kısa bir gövdeye sahiptir. Bir soğanda yaklaşık 50 civarında pul bulunmaktadır. Bütün pullar dip tablaya bağlıdır. En içteki pul dibinde büyüme noktası bulunmaktadır. Aynı zamanda bazal plaka adventif kökleri de ihtiva eder. Türe bağlı olarak, pullar ya genişlemiş (gelişmiş) yaprak bazalları veya genişlemiş pul yapraklar olabilmektedir. Zambak soğanı toprağa dikildiğinde önce aşağıya doğru kök kısmı oluşmaktadır. Toprak üstünde de diğer kısımlar daha sonradan gelişmektedir. Çiçek sapı soğanın ortasından çıkar. Boyu 45-50 cm kadardır. Zambak sapının dik olması istenir. Zambak yaprakları ince, uzun, uçları sivri, dipten yukarıya doğru küçülen yapıdadır. Çiçek sapının ucunda çiçekler bulunur. Zambak bitkisi bir sapta 1-12 arasında değişen

sayıda ve 18-30 cm çapında, borazan şeklinde çiçeklere sahiptir. Çiçekleri l çanak yapraklara sahiptir. Erkek organlar iki daire üzerinde, her bir dairede üç adet olacak şekilde sıralanmıştır. Dişi organın boyu erkek organlarla aynıdır. Soğanlar *Tulipa* (Lale) ve *Narcissus* (Nergis) gibi kabuklu veya *Fritillaria* (Ağlayan Gelin ve Adıyaman Lalesi) ve *Lilium* (Zambak) gibi kabuksuz olabilir (Rossi 1989, Zencirkıran 2002, Anonim 2007, Saygılı 2012).

Zambak cinsi yaklaşık 110 tür içermekte ve Anadolu, Güney-Doğu Asya (in, Kore yarımadası ve Japonya), Sibirya, Avrupa'nın doğusu ve Kuzey Amerika'da doğal olarak yayılış göstermektedir. Doğal yaşam alanı çoğunlukla deniz seviyesinden 2000 metreye kadar ulaşan yüksekliklere varabilmektedir. Yıl içerisinde oluşan yüksek sıcaklık ve nem oranlarındaki aşır değişiklikler onları ılıman ve soğuk iklimlere uygun bir bahçe bitkisi yapmaktadır (Woodcock ve Stearn 1950, Pelkonen 2005).

Zambak, soğanlı bitkiler içinde insanların tanıdığı en eski bitkidir. 120 000' den fazla eşiide sahiptir. Eski ağlarda bazı şehirlere adını vermiştir. Saflık ve temizliği simgeler. Günümüzde kozmetik alanında da kullanılmaktadır. Son yıllarda bu bitkinin gerek kesme iek, gerekse saksılı iek olarak yetiştiriciliğinde (Birim alandan oldukça yüksek kar getirmesi, yıl boyu yetiştirilebilmesi, yeni çeşitlerin bulunması, çiçeğe talebin artması gibi nedenlerden dolayı) nemli bir artış dikkati çekmektedir (Korkut 2004, Anonim 2007, Saygılı 2012).

Lilium cinsi, Comber (1949) tarafından 7 bölüme sınıflandırılmış olup daha sonra Lighty (1968) ve De Jong (1974) tarafından tekrar değiştirilmiştir (Martagon, Pseudolirium, Lilium (Liriotypus), Archelirion, Sinomartagon, Leucolirion ve Daurolirion). Royal Horticultural Society tarafından yapılan en son sınıflandırma (1982-2002) ise şu şekildedir: Asyatik melezler, Martagon tip melezler, Candidum melezleri, Amerikan tür melezleri, Longiflorum melezleri, Trompet melezler, Oriental melezleri, bölünemeyen diğer melezler, tüm türlerin varyete ve formları (Lim ve Van Tyul 2006).

Zambağın çok çeşidi olmasına rağmen ekonomik değeri yüksek olan iki çeşit yetiştiricilikte ön plana çıkmaktadır. Bunlar Mis zambağı (*Lilium candidum* L.) ve Nisan zambağı (*Lilium longiflorum* Thunb.)'dır (Anonim 2007).

Bitki doku kültürü; steril şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları=eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir. Eksplant, bitkinin çeşitli kısımlarından alınabilen, kültür başlatmada kullanılabilecek bitki parçalarıdır. Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik çeşitlilik oluşturmak doku kültürünün temel amaçları arasında sayılabilir. Bu nedenle bitki doku kültürleri genetiksel iyileştirme çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretilmesinde, çeşitli doku kültürü yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Baboğlu ve ark. 2001, Çapan 2006).

In vitro çoğaltımda, ortamdaki sıcaklık ve ışık ihtiyacı seçilen bitki türüne göre değişmektedir. Genellikle birçok bitki türü için gerekli sıcaklık 25 °C'dir. Bu amaçla günümüzde, sıcaklık ve aydınlatmayı istenilen özelliklerde sağlayabilen iklim dolapları veya odaları kullanılmaktadır. Çoğaltımda, yetiştirme ortamının konulduğu, çalışmanın amacına göre değişik özelliklere sahip kültür kapları kullanılır. Yetiştirme ortamı (besiyeri) bitkisel organizmaların gelişimi için gerekli mineralleri ve diğer besinleri içeren karışımlardır. Bu karışımlara çalışmanın amacına yönelik çeşitli bitki gelişim düzenleyiciler ilave edilmektedir.

Doku kültüründe eksplantın gelişimi için steril bir besiyerine ihtiyaç vardır. Besiyerinin bileşimi bitki hücrelerini güçlendirecek, hücre bölünmesini uyuracak ya da bireysel bitki organlarının gelişmesini sağlayacak şekilde ayarlanmalıdır. Oksin ve sitokinin gibi büyüme düzenleyicilerinin besiyerindeki yoğunluğu, doku kültürünün oluşumunu başlatıp başlatmayacağını ve sonradan nasıl gelişeceğini belirlemek için kritik bir değer olarak görünmektedir (Collin ve Edwards 1998, Çapan 2006).

Modern tarımda en fazla 150 bitki türünün tarımının yapıldığı ve bunların iyileştirilmesinde klasik yöntemlerin sınırına gelindiği düşünülürse, bitki doku kültürü tekniklerinin süratle geliştirilmesinin ve uygulanmasının önemi daha iyi anlaşılmaktadır. Bitki doku kültürünün en önemli etkisi ve uygulama alanı, mikroçoğaltım ve en önemlisi bitkilerin hücre bazında kontrollü olarak çoğaltılmasıdır. Bu yöntemle; soğuğa, kurağa, tuza, ağır metallere, herbisitlere, hastalık ve zararlılara dayanıklı bitkiler yetiştirilebilmektedir. Ayrıca besin olarak kullanılan bitkilerin raf ömrünün uzatılması, depolamaya dayanıklı olma, kesme çiçeklerde vazo ömrünün uzatılması, patojensiz bitki elde etmede meristematik hücrelerin kullanımı gibi konularda doku kültürü çalışmaları yapılmaktadır. Bu hücreler kullanılarak; somatik melezlemeler yoluyla;

- a) Sitoplazmik erkisirlığın aktarılması ve hibrit ıslahında kullanımı,
- b) Farklı çiçek renklerinin elde edilmesi,
- c) Azot fiksasyonu özelliğinin baklagil olmayanlara aktarılması (özellikle tahıllar ve çok yıllıklar),
- d) Kombine bitkilerin eldesi (Pomato veya Tomapo= domates patates melezi),
- e) Triploid bitki eldesi, bitkilerde yağ ve şeker oranının arttırılması çalışmaları yapılabilmektedir.

Doku kültürüne uygun olmayan fakat ekonomik değeri yüksek olan tür, çeşit veya biyotiplerde doku kültürüne uygunluğu sağlayan genlerin klasik ıslah metotları ile aktarılması, doku kültürü tekniklerini uygulayarak *in vitro* manipulasyon yapılması, hücre kültürleri veya transgenik bitkiler ile çeşitli endüstriyel enzimlerin üretimi, somatik embriyogenesis yoluyla sentetik tohum üretimi, özellikle çayır-mera alanlarında kuraklığa dayanıklı bitki tohumlarının çoğaltılması, asimbiyotik *in vitro* çimlendirme, tohum ve fide üretimi (patateste minitüber üretimi vb.), hibrit tohumlarda genotip bozulmadan vegetatif yollarla fide eldesi, yok olma tehlikesiyle karşı karşıya olan bitki türlerinin doku kültürü ile korunarak çoğaltılması ve Türkiye’de hücre ve doku bankalarının kurulması, ev imkanları ile “evde doku kültürü” çalışmalarının yapılmaya başlanması gibi konuların hepsi doku kültürünün gelecekte etkili olacağı alanlar olarak gözükmemektedir (Baboğlu ve ark. 2001, Çapan 2006).

In vitro kültür sırasında ortaya çıkan ve rejenere olan bitkilerde gözlenen değişiklikler somaklonal varyasyon olarak adlandırılmaktadır. *In vitro* kültürde rejenere olan bitkilerin genetik yapılarında değişiklik nedeniyle ortaya çıkan varyasyonlar kalıtsaldır ve bu değişiklik dölden dölle geçerek devam etmektedir. Bugüne kadar *in vitro* kültürde ortaya çıkan genetik değişimlerin nedenleri çok tartışılmıştır. Ancak bu değişikliklere neden olan faktörler tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte bazı faktörlerin *in vitro* kültürde genetik değişimlerinin ortaya çıkmasında belirleyici faktörler olduğu ortaya konmuştur. Bu faktörler:

- a) *In vitro* rejenerasyon yöntemi: Embriyogenik olmayan kallustan organogenesis yoluyla rejenere olan bitkilerde genellikle büyük genetik varyasyonlara rastlanmaktadır.
- b) Kullanılan eksplant: Genellikle poliploid türler *in vitro* kültürde diploid türlere göre daha fazla genetik varyasyon göstermektedir.
- c) Besin ortamının değişimi: *In vitro* kültürde kullanılan besin ortamının bileşimi özellikle oksin ve sitokinin içeriği *in vitro* kültürde genetik stabiliteyi etkilemektedir.
- d) Alt kültür sayısı: Genel olarak alt kültür sayısı arttıkça ve kültür sayısı uzadıkça *in vitro* kültürde genetik varyasyonun ortaya çıkma şansı artmaktadır (Hatipoğlu 1993).

Zambak'ta doku kültürü üretimi uygulamaları 1950'li yıllardan beri yapılmaktadır. Bu yıllardan kısa bir süre sonra, zambak için doku kültürü yöntemlerinin geliştirilmesi üzerinde bir çok araştırma makalesi kullanılabilir hale gelmiştir. Bununla birlikte, zambak'ta melez kombinasyon olasılıkları, uyumsuzluk ve uyumsuzluk sorunları ile sınırlanmıştır. Türler arası melezlemelerdeki engeller, döllenme öncesi ve döllenme sonrası engeller olarak ikiye ayrılmıştır. Zambak'ta ele alınan bir çok çalışma, bu döllenme engellerinin önüne geçmek için yapılmıştır (Emsweller ve ark. 1948, Robb 1957, Stebbins 1958, Sheridan 1968, Simmonds ve Cumming 1976, Stimart ve Ascher 1978, Van Tyul ve ark. 1988, Van Tyul ve ark. 1991, Pelkonen 2005).

Doğada yapılan melezlemelerde, başarıyı engelleyen çeşitli problemler vardır. Döllenme öncesi sorunları; polenlerin stigma üzerinde çimlenmemesi, polenlerin anormal çimlenmesi, polen tüpünün kısa kalması nedeniyle yumurtalığa ulaşamaması, yumurtalığa veya yumurtaya ulaşmadan önce polen tüpünün kaybolması ve

döllenmenin gerçekleşmemesi şeklinde özetleyebiliriz. Döllenme sonrası sorunları ise; döllenme gerçekleşir fakat zigot bölünemez, zigot birkaç hücreli embriyo oluşturmak üzere bölünür ve daha ileri gelişme gösteremez veya ölür, endosperm embriyonun gelişimini destekleyecek yapıda değildir ve embriyo gelişmesinde küçük kalır ve olgunlaşamaz şeklinde sıralayabiliriz. Bu problemleri; Somatik melezleme, besi ortamında tozlanma ve döllenme, embriyo, tohum taslağı ve yumurtalık kültürü ile aşmak mümkündür. (Bajaj 1990, Uysal ve ark. 2006).

Embriyo kültürü, *in vitro* kültür teknikleri arasında pratik sorunlara uygulanan ve yetiştiriciler için büyük değer sağlayan en eski tekniklerdendir. Bu teknik ilk defa 1904 yılında Hanning tarafından kullanılmış olup, bu çalışmada *Raphanus* ve *Cochlearia*'nın tohumundan izole edilen olgun embriyolar mineral tuz ve şeker içeren besi ortamda kültüre almış ve bunlardan bitkicikler elde edilmiştir. 1924 yılında Dietrich farklı türlerin dormansi periyotlarını tamamlamamış embriyolarından besi ortamında bitkiler elde etmeyi başarmıştır. 1925 yılında Laibach *Linum perenne* ile *Linum austriacum* türleri arasındaki melezlemeden oluşan ve normal olarak bitki üzerinde gelişmeleri mümkün olmayan melez embriyoları besi ortamında kültüre alarak bu embriyolardan melez bitkileri elde etmeyi başarmıştır (Bridgen 1994, Drew 1997, Kurt 2001, Uysal ve ark. 2006).

Embriyo kültürü olgunlaşmış veya olgunlaşmamış embriyonun *in vitro* kültüre alınarak bitki elde edilmesi tekniğidir (Pierik 1989). Embriyo kültürü iki değişik şekilde yapılmaktadır:

1. Olgun tohum embriyolarının kültürü
2. Olgunlaşmamış, erken bölünme fazındaki proembriyoların kültürü

Olgun tohum embriyolarının kültürü oldukça kolaydır ve basit bir kültür ortamı ile başarılı sonuç vermektedir. Böylece embriyogenik büyümeyi incelemek ve büyüme dönemlerini ortaya koymak, dormansi ve çimlenmenin metabolik ve biyokimyasal ayrıntılarını analiz etmek mümkün olabilmektedir. Olgunlaşmamış, çok genç embriyoların kültürü, erken embriyo dönemlerinden itibaren embriyoların besin

ihtiyaçlarının ortaya konmasını ve farklılaşmasını sağlamaktadır. Bu tür embriyoların izolasyonu oldukça zordur. Bununla birlikte, embriyo kültürü çimlenmesi zor olan tohumların imlendirilmesinde, genetik çalışmalarda ıslah süresinin kısaltılmasında, yeterince gelişmemiş ve hibrit embriyoların yaşatılmasında, haploid bitki üretilmesinde, hastalıksız bitki üretiminde ve tohumla üretimi zor olan bitkilerin üretiminde kullanılmaktadır. Temel araştırmalar ve dormansiyi ortadan kaldırmak için uygulanabilen embriyo kültürleri türler arası ve cinsler arası melezlerin elde edilmesi açısından ayrı bir öneme sahiptir. Uzak melezlemelerde döllenmeden sonra belirli bir dönemde embriyonun gelişmesinin aksaması ve düşmesi melez tohum oluşmasına engel olmaktadır. Embriyonun gelişmesindeki aksaklık herhangi bir dönemde ortaya çıkabilmektedir. Embriyo, bu aksaklığın ortaya çıkmasından önceki bir dönemde *in vitro* kültüre alınmalıdır (Raghavan 1980, Emiroğlu ve Gürel 1993, Baboğlu ve ark. 2001, Bürün ve Gürel 2002, apan 2006, Uysal ve ark. 2006).

Embriyo kültürü, embriyonal büyüme ve farklılaşma üzerine ortama katılan besinlerin, bitki büyüme düzenleyicilerinin ve diğer kimyasal ve fiziksel faktörlerin etkilerini incelemek için yararlı bir tekniktir. Ayrıca agronomik olarak önemli bitkilerin, bahçe bitkilerinin orman türlerinin olgunlaşmamış embriyolarından bitkilerin geliştirilmesi ile türler ve cinsler arası melezler elde edilebilmektedir. Bazı türlerde tohum dormansisinin kırılması da bu teknik ile başarılmaktadır (Baboğlu ve ark. 2001, apan 2006).

Embriyonun gelişim kademeleri ana hatlarıyla küresel, kalp şekilli ve torpido şekilli olmak üzere sıralanabilir. Ayrıca embriyo tohumundan da çıkarılarak kültüre alınabilir. Tohumdan çıkarılan embriyo tam olgun olduğundan kültürdeki gelişimi daha kolaydır. Embriyo ne kadar erken safhada kültüre alınırsa geliştirme işlemi o kadar zor olur. Çünkü olgun embriyolar temel besin ortamında (sadece makro ve mikro besin elementlerinin bulunduğu ortamda) gelişebilirken olgunlaşmamış embriyolar için ilave besin maddelerine ihtiyaç vardır (vitamin, aminoasit, hormon vs.) (Kocaçalışkan 2003, apan 2006).

Özellikle dayanıklılıkla ilgili ıslah çalışmalarında yabancı türlerden gen aktarımı konusunda türler arası melezlemelerde sorunlarla karşılaşılmaktadır. Bazı türlerde

melezlemeden 6 ile 25 gün sonra embriyo aborsiyonu görülmektedir. Fakat embriyo kültürü yöntemi ile bu sorunun üstesinden başarı ile gelinebilmektedir. Hibrit embriyo aborsiyondan önce in vitro kültüre alınıp kurtarılabilmektedir (Hatipoğlu 1993).

Biyoteknolojik çalışmaların hedefi; geleneksel üretim sistemlerinin kapasitelerini artırmak, bitkilerin yetişmesi için gerekli en uygun koşulları sağlamak veya buna zemin oluşturmak, sağlıklı bitkiler yetiştirerek verimi ve kaliteyi artırmaktır. Bu amacın gerçekleştirilebilmesi için bugüne kadar birçok biyoteknolojik yöntem kullanılmıştır. Nitekim, geleneksel yöntemlerin kullanılması durumunda birçok sorunla karşılaşılabilir türler ve cinsler arası melezlemelerde, embriyo kültür tekniği kullanılarak bu sorunlar tamamen olmasa da büyük ölçüde aşılmıştır. Böylece doğal florada bulunan, başta hastalık ve zararlılar olmak üzere tuzluluk, kuraklık gibi stres faktörlerine karşı dayanımı daha yüksek olan bitkilerin bu özellikleri geleneksel ıslah yöntemleri ile kombine edilmiş embriyo kültür tekniği sayesinde kültür çeşitlerine aktarılabilmektedir. Arzu edilen özellikleri taşıyan yeni bir çeşit geliştirebilmek için klasik ıslah yöntemleri kullanılarak 10-15 yıl gibi uzun bir zamana ihtiyaç duyulmasına karşılık, biyoteknolojik yöntemlerden embriyo kültürü tekniği ile çok daha kısa zamanda, aynı sonuçları elde etmek mümkün hale gelmiştir. Embriyo kültür tekniği kullanılarak, genetik ve stoplazmik uyumsuzluk gibi nedenlerle bitki cins ve türleri arasında veya cins ve tür içindeki bitkiler arasında başarılı melezlemeleri engelleyen, doğanın engelleyici mekanizmaları da devre dışı bırakılabilmektedir (Kurt ve Gülümser 1998, Kurt 2001, Kurt ve Şavşatlı 2005, Uysal ve ark. 2006).

Embriyo kültüründe, belirli bir fizyolojik olgunluğa sahip embriyonun bulunduğu tohum veya kapsüller sterilize edildikten sonra, embriyolar steril koşullarda kendilerini çevreleyen dokulardan izole edilir. Sert tohumlu bitkilerde tohum sterilize edildikten sonra birkaç saat veya birkaç gün steril su içinde bırakılır. Daha sonra embriyolar tohumlardan izole edilir. Küçük embriyolu bitkilerde embriyo izolasyonu sırasında embriyoların zarar görmemesine dikkat etmek gerekir. Böyle durumlarda izolasyon işlemi binoküler mikroskop altında yapılır. İzole edilen embriyolar, uygun besi ortamında ve uygun fiziksel koşullarda kültüre alınırlar. Burada embriyolar çimlenerek

yeni bitkicikleri oluşturur. Özellikle küçük tohumlu bitkiler başta olmak üzere embriyonun izolasyonun zor olduğu durumlarda embriyo kültürüne alternatif olarak tozlaşmış yumurtalık (ovaryum) ve olgunlaşmamış tohum taslağı (ovül) kültürü de uygulanmaktadır. Yumurtalık (ovaryum) Kültürü birçok türde uygulanan bir yöntem olup, çok küçük embriyolardan bitki elde etmek amacıyla tohum gelişimi üzerine çok erken bir aşamada ve ana dokudan kaynaklanan negatif etkinin olmadığı durumlarda uygulanmaktadır. Embriyo ve endosperm arasında uyumsuzluk olduğu durumlarda yumurtalık kültürü başarısız olmaktadır. Böyle durumlarda yumurtalıklar kesilerek yumurtalar çıkarılır ve besi ortamında kültüre alınır. Ayrıca bu yöntem embriyoların embriyo kültürü yapılabilecek büyüklüğe gelmeden önce öldüğü durumlarda da uygulanmaktadır (Bajaj 1990, Van Tuyl ve De Jeu 1997, Uysal ve ark. 2006).

Embriyo kültürü, tohum dinlenmesinin üstesinden gelmektedir. Dinlenmeye tohumdaki içsel faktörler, ışık şartları, düşük sıcaklıklar ve olgunlaşmamış embriyolar neden olmaktadır. Tohum dinlenmesindeki faktörler ise tohum kabuğu veya endospermde yer almakta, tek faktör veya her iki faktör birden tohum dinlenmesine sebep olabilmektedir. İzole edilmiş embriyolar soğuklamaya tabi tutulabilir ve bazı durumlarda çimlenme süresi 40 güne kadar azalabilmektedir. Küçük ya da genç embriyoların erken dönemde aborsiyona uğrayabilmeleri ve izole edilmeleri genel olarak zor olmaktadır. Bununla birlikte genç embriyoların beslenme gereksinimlerinin ve zarara uğrama ihtimallerinin çok yüksek olduğu belirtilmektedir (Yeung ve ark. 1981, Sharma ve Gill 1983, Rangan 1984, Bridgen 1994).

Embriyo kültürünün kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir:

1. Çimlenme Sorunu Olan Türlerin Tohumlarını Çimlendirmek: Bazı bitki türlerinin tohumları, dormansi veya embriyoyu çevreleyen yapıların uyumsuzluğu gibi fizyolojik engellerden dolayı doğal koşullarda çimlenmezler. Bu durumda, bu türlerin olgunlaşmamış tohumlarından embriyolar izole edilir ve besi ortamında kültüre alınırlar (Hatipoğlu 2001).

2. Mutlak Parazit Bitkilerin Tohumlarını Çimlendirmek: Argun ve Şahin (2006)'e göre; Mutlak parazit halde yaşayan bitkilerin tohumlarını, konukçu bitki olmaksızın, çimlendirmek mümkün değildir. Bu tip problemlerin olduğu bitkilerde de embriyo kültürü yapılarak olgun bitkiler elde edilebilmektedir (Uysal ve ark. 2006).

3. Yaşam Çemberini Kısaltmak: Bazı bitki türlerinde fizyolojik ve morfolojik sebeplerden dolayı tohumun çimlenmesi gecikebilmektedir. Bu türlerde embriyo kültür tekniği uygulanarak çok kısa sürede çimlenme sağlanmaktadır. Örneğin orkidelerin ticari olarak çoğaltılmasında bu yöntem uygulanmaktadır (Bürün ve Gürel 2002). Bazı bitki türlerinde tohumun olgunlaşmasını beklemeye gerek kalmadan, olgun olmayan embriyoların kültürüyle ıslah süreci kısaltılabilmektedir. Örneğin, İris tohumları birkaç yıl süren bir dinlenme periyoduna sahiptirler. Ancak embriyo kültürü yoluyla irisin yaşam çemberi 2 veya 3 yıldan 1 yıla indirilmiştir (Bhojwani ve Razdan 1996).

4. Uyuşmazlık Nedeniyle Gelişemeyen Embriyoların Gelişimini Sağlamak: Türler ve cinsler arası melezlemelerde ve farklı poliploidi düzeyindeki bitkilerin melezlenmesinde, uyumsuzluk problemleri sık sık ortaya çıkmaktadır. Bu uyumsuzluk problemleri embriyo oluşumunu ve embriyo gelişimini tamamıyla engellemektedir. Bu durumda melez embriyo yaşayamamakta ve normal doğal koşullarda verimli bir tohumun elde edilmesi mümkün olmamaktadır. Bu gibi durumlarda somatik melezleme, besi ortamında döllenme, embriyo, tohum taslakları ve ovaryum kültürü yöntemleri ile yaşama kabiliyetine sahip bitkiler elde edilmektedir (Bajaj 1990).

5. Erken Olgunlaşan Sert Çekirdekli Meyvelerde Zayıf Embriyo Gelişimini Önlemek: Şeftali, kiraz, kayısı ve erik gibi erken olgunlaşan sert çekirdekli meyvelerde, embriyoya su ve besin maddesi taşınması, embriyo tam olarak olgunlaşmadan kesintiye uğramaktadır. Erken olgunlaşan bu tip meyvelerden, embriyo olgunlaşmadığı için melez bitki elde edilemez. Ancak embriyo kültürü yapılarak melez bitkiler elde edilebilmektedir (Hatipoğlu 2001).

6. Haploid Bitki Elde Etmek: Özellikle akrabalık derecesi zayıf olan türler arası veya cinsler arası melezlemelerde döllenmeden sonra oluşan melez tohumda, embriyonun

gelişmesi sırasında, ebeveynlerden birine ait kromozomların eliminasyonu sonucu haploid bitkiler oluşmaktadır (Hatipoğlu 2001, Bürün ve Gürel 2002). Bu teknik özellikle buğday ve arpada başarı ile uygulanmaktadır. Elde edilen haploid bitkiler kolçisin ile muamele edilerek dihaploid bitkiler elde edilmektedir. Bu tekniğin bir ıslah programında F₁ bitkilerine uygulandığı düşünülürse, klasik ıslah yöntemleri ile 5-6 yılda erişilebilecek homozigotluk düzeyine 1 yılda erişilebilmektedir.

7. Embriyo Gelişime Mekanizmasını İncelemek: Embriyo kültürü; embriyo gelişmesi için gerekli koşullar, fitohormonlar ve çevre koşullarının embriyo gelişmesine etkisi ve embriyonun beslenmesi gibi konuların incelenmesi amacıyla da uygulanmaktadır. Zigotik embriyoların kültürü sayesinde tohum taslağında embriyonun büyümesindeki koşullar belirlenebilmektedir.

Emriyo kültürü, özellikle genetik tabanı daralmış, tür içindeki varyasyonun azalmış olduğu durumlarda mevcut gen havuzunu genişletmek ve arzu edilen çeşitlere istenen özellikleri aktarmada etkin olarak kullanılabilecek bir tekniktir. Bununla birlikte ıslah çalışmalarında klasik metotlarla başarı sağlanamadığı durumlarda başarı sağlanabilmekte, daha kısa sürede daha etkin sonuçlar alınabilmektedir. Ayrıca embriyo kültürü tekniği, embriyonal büyüme ve farklılaşma üzerine besinlerin, bitki büyüme düzenleyicilerinin ve diğer kimyasal ve fiziksel faktörlerin etkilerinin incelenmesine de olanak sağlamaktadır. Bitki ıslah çalışmalarında klasik ıslah yöntemlerinin embriyo kültürü tekniği ile kombine edilmesi sonucu bugün olduğu gibi gelecekte de alternatif yeni çalışmaların yapılabileceği açıkça görülmektedir (Uysal ve ark. 2006).

Zambak bitkisinde geleneksel yöntemlerle tohumdan yapılan çoğaltımda, tohumlarda çimlenmenin zayıf olduğu ve çiçeklenmenin uzun sürdüğü (yaklaşık 4-5 yıl) görülmektedir. Özellikle embriyo gelişiminde sorun yaşanan tohumlarda bu konu ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda embriyo kültürü yöntemiyle tohumdan üretimin kolaylaştırılması ve hızlandırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Embriyo kültürü yetiştiricilik için değerli bir *in vitro* aracıdır. En sık, türler arası ve cinsler arası melezlemelerde tam olarak gelişmemiş (erken olgunlaşma ve çekirdeksiz meyve embriyo aborsiyonları vb.) embriyoları kurtarmak için kullanılmaktadır. Bu yöntem ayrıca, çekirdeksiz triploid embriyoların kurtarılması, haploidlerin üretimi, tohum dinlenmesinin aşılması ya da tohum kapasitesini belirlemek için kullanılabilir. Embriyo morfogenezini ve erken çimlenmeyi anlamada yararlı bir yöntemdir. Araştırmaların bu teknikle kullanımı devam ettikçe, değerli bitkilerin biyoteknolojik yetiştiriciliğinin geliştirilmesine destek sağlanacaktır (Bridgen 1994).

Embriyo kültüründe, gelişen tohumdan veya tohum taslağından alınan, olgunlaşma dönemine yakın dönemdeki embriyolar izole edildiğinde bu embriyoların heterotrofik olduğu görülmüştür ve enerji kaynağı içeren basit bir inorganik ortamda gelişebilmişlerdir. Olgunlaşmamış embriyoları kültüre almada ise embriyoların büyüme ve gelişmesine destek olabilecek bir kültür ortamı belirlemenin çok önemli olduğu belirtilmiştir (Baboğlu ve ark. 2001, Çapan 2006).

Tür içi veya türler arası melezleme çalışmalarında melezleme engelleri sık sık meydana gelmektedir. Bu engeller uyumsuzluğun ve uyumsuzluğun sonucudur. Türler arası melezlemeyi engelleyen cinsel bariyerler, döllenme öncesi ve döllenme sonrası bariyerlere ayırt edilmiştir. Bariyerin doğasını belirleyen yöntem belirli bir engelin aşılması için kullanılmaktadır. Tomurcuk tozlanması ve stigmanın aşılması gibi bir dizi teknik ile ön döllenme engelleri en aza indirilmiştir. Yumurtalık, yumurta hücresi ve embriyo kültürü şeklindeki *in vitro* yöntemler endosperm yetmezliği ve embriyo bozukluğu gibi döllenme sonrası engelleri aşmak için kullanılmaktadır. *İn vitro* entegre bir yöntem olan tozlaşma-döllenme ve bunu takiben embriyo kurtarma işlemi bir çok meleze uygulanmıştır (Van Tyul ve De Jeu 1997).

Türler arası melezleme süs bitkileri ıslahının en önemli kaynağını oluşturmaktadır. Doku kültürü metotları melez hibritlerdeki döllenme engellerinin üstesinden gelmek için kullanılmaktadır. Jakobsone ve Grants (2008) tarafından yapılan bir çalışmada,

türler arası melezleme ile elde edilen Asya, Doğu ve Trompet melezleri ile *L. longiflorum*'un zigotik embriyolarını embriyo kurtarma metodu ile kurtarmak için bir mikro kültür sistemi oluşturulması hedeflenmiştir. Farklı çimlenme yüzdeleri ve embriyo kurtarmaya rağmen, 2002 yılında 5 kombinasyon, 2004 yılında ise 16 melez zambak kombinasyonundan onbir adedi olumlu sonuç vermiştir.

L. auratum Lindl. zigotik embriyolarından in vitro kültür sistemi içerisinde soğancık üretimi amacıyla yapılmış bir çalışmada, tozlaşmadan sonraki 50 güne kadar yüksek çimlenme oranları görülmüş, normal gelişim oranının tozlaşmadan sonraki 70'inci günde arttığı saptanmıştır. *In vitro*'da hızlı çimlenme için tohum kabuklarının soyulması gerekmektedir. Tozlaşmadan sonraki 90 günde elde edilen kapsüllerden alınan embriyoların dinlenmeyi bastırmak için en iyi materyal olduğu bulunmuş ve % 9 şeker varlığında soğancık gelişiminin hızlandığı görülmüştür. Bu kültür sisteminde, tozlaşmadan sonra olgun soğanların gelişim periyodu, birkaç yıldan daha az bir süreye indirilmiştir (Furyuya ve Nomura 2004).

Normal şartlar altında *L. auratum* Lindl. türünde tozlaşmadan yaprak oluşumuna kadar geçen süre 22 ay, soğan olgunluğu için ise 2 veya 3 yıllık bir zaman gerekmektedir. Embriyo kültürü ile çoğaltımın da çimlenme ve gelişmede etkili bir yöntem olduğu yapılan bu çalışmada bulunmuştur. *L. auratum* tozlaşmadan yaprak gelişimine kadar olan sürenin 6 ay olduğu, 6 ay sonra ise soğan yaş ağırlıklarının ortalama 10 g olduğu belirlenmiştir (Furyuya ve Nomura 2004).

Doğu Akdeniz Bölgesinde yaygın olarak yetişen salep orkidelerinden *Orchis anatolica* Boiss, *Orchis coriophora* L., *Ophrys bornmuelleri* Schulz, *Ophrys phrygia* Fleischm. et Borm, *Serapias vomeraceae* ve *Himantoglossum affine* embriyo kültürü kullanılarak *in vitro*'da kültüre alınmışlardır. Salep embriyolarının kültüre alınmasında 14 farklı ortam kullanılmıştır. En yüksek ortalama çimlenme ve protokormdan bitki oluşum oranları sırasıyla % 2.39 ve % 1.86 olarak, Van Waes Debergh + Domates Ekstraktı + Aktif Karbon ortamında bulunmuştur. *In vitro*'da en yüksek yumru oluşum oranı ise % 2.45 ile aynı ortamda saptanmıştır (Çağlayan ve ark. 1998).

Galanthus elwesii Hook. f. bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarından *in vitro* soğan üretimi amacıyla yapılan bir çalışmada kullanılan *G. elwesii* Hook. f. bitkisinin meyveleri nisan ayının ilk haftası içerisinde doğal yetiştirme ortamı olan Antalya ilinin Akseki ilçesi civarından toplanmıştır. Meyveler yüzey sterilizasyonu için % 80' lik ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika tutulduktan sonra üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlardan çıkarılan olgunlaşmamış embriyolar 1-4 mg/l BAP ve 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. En yüksek soğancık oluşumu 1 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiş olup, bu ortamda elde edilen soğancık sayısı eksplant başına 7,7 adet olarak bulunmuştur (Nasırcılar ve Karagüzel 2006).

Kalyoncu (2007) tarafından, Türkiye'de endemik olarak bulunan *Tulipa sintenesii* ve *Tulipa armena*'nın olgunlaşmamış embriyolarından ilk kez *in vitro* soğancık üretimi yapılmıştır. Olgunlaşmamış embriyolar farklı oranlarda oksin ve sitokinin içeren MS ve N6 yetiştirme ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 16 ay sonra N6 ortamında *T. sintenesii* türünde eksplant başına ortalama 22,67 adet, *T. armena*'da ise 16,42 adet soğancık üretimi gerçekleştirilmiştir. *T. sintenesii* türünde MS ortamında ise 27,10 adet soğancık elde edilebilmiştir. Bu çalışma sonucunda *T. sintenesii* ve *T. armena*'da soğan eksplantlarında görülen bulaşıklardan dolayı, olgunlaşmamış embriyonun *in vitro* çoğaltım için en uygun eksplant olduğu tespit edilmiştir.

Yer fıstığı (*Arachis hypogea*) proteince zengin bir yağ bitkisidir ve dünyada yenilebilir yağ üretiminde üçüncü sırada gelmektedir. Islah çalışmalarında verimi arttırmak, yağ ve protein içeriğini yükseltmek, hastalık ve zararlılara dayanıklılık ve erkencilik gibi karakterler yönünden türlerarası melezlemeler yapılmıştır. Ancak türlerarası melezlemelerde uyumsuzluk ya da melezlerin yavaş gelişmesi gibi sorunlarla karşılaşmıştır. Bajaj ve arkadaşları, 1982 yılında *A. hypogea* x *A. villosa* arasında yaptıkları melezlemelerde embriyo kültürü tekniğinden yararlanarak, % 2.4 - % 7.6 arasında değişen oranlarda *A. hypogea* türüne benzer triploid ($2n=3x=30$) bitkiler elde etmeyi başarmışlardır (Bajaj 1990, Uysal ve ark. 2006).

Phaseolus vulgaris bakteriyel hastalıklara (*Pseudomonas phaseolicola*, *Xanthomonas phaseoli*) ve kök çürüklüğüne (*Fusarium solani*) karşı dayanıksızdır. Bu hastalık etmenlerine karşı dayanıklılık genini *P. acutifollius* taşımaktadır. Ancak türler arası melezlerde uyumsuzluk problemi vardır. 1982 yılında, *P. vulgaris* x *P. acutifollius* arasında yaptıkları melezlerden oluşan primitif embriyolar, sıvı besi ortamında, filtre kağıdı üzerinde kültüre aldığıında, bunlardan bitki elde edilmiştir (Bajaj 1990, Uysal ve ark. 2006).

Vigna radiata'nın sarı mozaik virüsüne ve aynı zamanda da bakla çatlamasına karşı hassas olup, tohumları büyük ve sindirilebilir protein oranı yüksektir. *Vigna mungo* ise sarı mozaik virüsüne ve aynı zamanda da bakla çatlamasına karşı dayanıklıdır. *V. mungo* ana ebeveyn olarak alındığında, *V. radiata* ile kolaylıkla melezlenebilir ancak resiprokal melezlemeler başarısız olmaktadır. Bajaj ve ark. (1982) melez embriyoları hormon içeren besi ortamında kültüre aldıklarında % 63 oranında melez bitkiler elde etmişlerdir. Ayrıca melez genç embriyoların embriyo kültürüne daha uyumlu olduğu tespit etmişlerdir (Bajaj 1990, Uysal ve ark. 2006).

Yağlık *Brassica*'larda 1986 yılında Bajaj ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Brassica napus* x *Brassica juncea* melezlemesinde yumurtalık, yumurta ve embriyo kültürlerinden yararlanılmıştır. Besi ortamına alınan embriyo kültüründen % 60.9 başarı düzeyinde bitki elde edilmiştir (Bajaj 1990, Uysal ve ark. 2006).

Karaca ve Bürün (1999) yaptıkları çalışmada; 88 buğday çeşidinden izole etikleri olgun ve olgun olmayan embriyoları, 4 farklı madde katılmış (2,4-D, kinetin, NAA ve asparajin) MS ortamında kallus oluşumunu incelemek amacıyla kültüre almışlar ve 42 gün süren gözlemler sonucunda en yüksek kallus oluşumunu olgunlaşmamış embriyoların kültüründe (ortalama % 94) 2 mg/l 2,4-D + 1 mg/l kinetin katılmış MS ortamından elde etmişlerdir. Olgun embriyoların kültüründe ise en yüksek kallus oluşumunu (ortalama % 95) 2 mg/l 2,4-D katılmış MS ortamından elde etmişlerdir.

Pamuk tohumlarının gıda sanayisinde kullanım alanlarını arttırmak için gossypollu bitki ve gossypolsuz tohum özelliğinin *Gossypium sturtianum* (2n=2x=26)'dan upland türü

pamuklara (*Gossypium hirsutum* $2n=4x=52$) aktarılması amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Pamukta türlerarası gen aktarımını engelleyen başlıca faktörler; hibritlerde kısırılığa yol açan ve melezlemeyi zorlaştıran ploidi seviyelerinin ve genomlar arasındaki DNA dizilişlerinin farklılığı, endosperm gelişiminin durması, hibritlerin ölmesi ve türler arası melezlerde sterilitte sorunun ortaya çıkmasıdır. Bu sorunları aşmak için türler arası melezlemeler sonrası embriyo kültürü ve kolhisin uygulaması ile kromozom katlaması yapılarak sağlıklı döller elde edilmiştir (Başal 2002, Uysal ve ark. 2006).

Fernandes ve ark. (2000) belirttiğine göre; *Hordeum jubatum* x *Secale cereale* cinsler arası melezinde, melez tohumların döllenmeden 13-16 gün sonra tahrip oldukları gözlenmiş ve melezde yapılan histolojik çalışmalar melez embriyoların önemli ölçüde büyümelerine rağmen bunların endosperm uyumsuzluğu yüzünden vaktinden evvel gelişmelerini durdurduklarını göstermiştir. 9-12 günlük tohumlardan alınan embriyolar, besi ortamında kültüre alındıklarında kültüre alınan 81 embriyodan bir fide elde edilebilmiştir (Uysal ve ark. 2006).

Bitki doku kültürü, bitki biyoteknolojisi olarak adlandırılan *in vitro* teknikler, yöntemler ve stratejiler kümesini içermektedir. Doku kültürü teknikleri, moleküler teknikler ile kombinasyon halinde, başarılı bir şekilde gen transferi yoluyla belirli özellikleri birleştirmek için kullanılmaktadır. Protoplast kültürü için *in vitro* teknikler, anterler, mikrosporlar, ovüller ve embriyolar çoğu zaman haploid üretimi yoluyla, yetiştirme hatlarında yeni genetik varyasyon oluşturmak için kullanılır olmuştur (Brown ve Thorpe 1995).

Nhut (1998) tarafından yapılan bir çalışmada, *in vitro* sürgün ucu kökenli boğum kısımlarından gelişen soğancıklar kullanılarak *L. longiflorum*'un mikro çoğaltımı sağlanmıştır. Araştırmada dinlenme halindeki soğancıkların sürgün uçları yarım MS ortamında kültüre alınmıştır. Sürgün uçlarından üretilen bitkiciklerin gövdeleri boğumlarından kesilmiş ve daha sonra 1 μ M BA ile desteklenmiş yarım MS ortamında bu kısımlar tekrardan kültüre alınmıştır. 1 ay sonra her boğumdan soğancık olduğu görülmüş ve elde edilen tüm bitkiciklerin boğumlarından ortalama 32 soğancık

alınmıştır. 2,3 μM BA ile desteklenmiş yarım MS ortamında bu soğancıklar birçok sürgün artışı verirken, 1,1 μM NAA içeren yarım MS ortamında ki sürgünlerin köklendiği kaydedilmiştir. Dinlenmeye girmemiş soğancıkların çoğaltılması ile yayılmanın sürekli bir sistemi geliştirilmiştir. Sürgün ucu kültüründen üretilen çiçeğe gelmiş 80 bitki 3 ay sonra sera ortamına aktarılmış ve 8 ay boyunca deneme bahçesinde büyütülmüştür.

Niimi (1995) tarafından yapılan çalışmada, deneme alanında büyüyen *L. japonicum* Thunb. bitkileri Mayıs ayının başında toplanmış ve bitki pul yapraklarının kısımları, bitki yaprakları ve sapları çeşitli yetiştirme maddeleri içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Genç yaprakların büyüyen kısımları, soğan skale kısımları ile neredeyse aynı kapasiteye sahip olduklarından dolayı soğancık oluşumu için uygun bir kaynak teşkil etmiştir. Soğancıklar 0,1 mg/l NAA ve 0,01 mg/l BA ile desteklenmiş temel ortamda çoğaltılmıştır. *In vitro* 'da kültüre alınmış soğancıklara 4 °C 'de 12 haftadan daha fazla süreyle soğuk uygulaması dinlenmeyi kırmıştır. *In vitro* sonrası ışık şartlarında hem soğancıkların enfeksiyon ile çürümesi hem de topraktaki bitki büyümesi önlenmiştir. Karanlıkta inkübe edilen soğancıklar ise toprak kaynaklı organizmalara karşı ışıktaki inkübe edilenlerden daha duyarlı bulunmuşlardır. Yaklaşık ağırlığı 400 mg dan fazla olan soğancıklar eksenleri uzun olan bitkiler haline gelmiştir.

Oryantal melez 'Casablanca' zambak çeşidinin soğan pul yaprakları, sitokininler (kinetin, BA) ve TDZ (thidiazuron) ile desteklenmiş MS ortamında kültüre alınmıştır. Sitokininler ile ortam içerisinde adventif sürgünler oluşmuş, soğan skalelerinin taban kısımları kabarmıştır. Sürgünler soğan skalelerinin taban kısımlarından hızla oluşmuş ve sürgün demetleri halini almıştır. 2,2 μM içeren ortam sürgün oluşumu olarak en olumlu olmuştur. Küçük parçalara kesilerek ayrılan sürgünler (7-8 mm genişlik, 12-15 mm uzunluk) BA ve IAA içeren ortamlara alınmıştır ve bu segmentlerden birçok yeni sürgün kümesi oluştuğu görülmüştür. Işık koşulları altında 4,4 μM BA ve 5-7 μM IAA ile desteklenmiş ya da 8,9 μM BA ve 0,6-2,9 μM IBA ile desteklenmiş ortamlarda sürgün çoğalmasının etkili olduğu bulunmuştur. Şeker ve aktif kömür soğancık büyümesini geliştirmiştir. 60 g/l şeker içeren MS ortamında soğancık büyümesi olumlu etki göstermiştir. Aktif kömür ilavesi ile soğancık büyümesi iyileşmiştir ve 2 g/l aktif

kömür kullanımı soğancık gelişiminde en önemli etkiyi sağlamıştır. Sürgünlerin kültüre alınmasıyla elde edilen normal soğancık büyümesi, soğan pul yapraklarından elde edilen soğancık büyümesinden daha iyi sonuç vermiştir. 60 g/l şeker ve 2 g/l aktif kömür içeren MS ortamında sürgünlerden elde edilen soğancıkların ağırlıkları 3 ay sonra ortalama 1,1 g seviyesine ulaşmıştır. Bu yöntemle üretilen soğancıklardan çoğu 3 ay boyunca 5 °C' lik soğukla muamele edildikten sonra serada köklenip yapraklanmışlardır (Han ve ark. 2005).

In vitro'da yapılan bir çalışmada, *L. longiflorum* 'Georgia' çeşidine ait soğan skaleleri BA içeren orta düzey MS ortamında kültüre alınmıştır. 6 hafta sonra, 0,4-8,9 µM BA içeren ortamda sürgün oluşum sıklığı % 92,3'ten yüksek çıkmıştır. 2,2 µM BA ile desteklenmiş ortamda soğan pul yapraklarından sürgünlerin oluşması etkili olmuştur. Oluşan sürgün kümeleri rastgele olarak 5-7 mm uzunluklara bölünmüş ve daha sonra sürgün çoğalması için kültüre alınmıştır. Sürgünlerin çoğalmasında ortamda 2,2 µM BA ve 2,9 µM IAA bulunması etkili olmuştur (kültür başına 9 sürgün ve fazlası). 8 hafta boyunca 2,2 µM BA ve 2,9 µM IAA içeren ortamda sürgünler çoğaldıktan sonra, aynı ortama sıvı ortamın ilave edilmesiyle normal soğancık oluşumu görülmüştür. Sıvı ortam ilavesi, hiçbir ekleme yapılmamış ortam ile karşılaştırıldığında, soğancık oluşumu ve büyümesini belirgin bir şekilde teşvik etmiştir. 5-10 g/l aktif kömür ve 250 g/l şeker ile desteklenmiş sıvı ortam soğancık oluşumu ve büyümesinde en etkili olmuştur. Soğancık oluşumu ve büyümesi ışıktan etkilenmemiştir. Oluşan soğancıklar normal büyümüş ve bazı soğancıklar 2 ay boyunca 5 °C' lik soğuk uygulamasından sonra sera ortamında köklenmiştir (Han ve ark. 2004).

L. maculatum var. *bukosanense* (Honda) Hara çeşidi üzerinde yapılan bir araştırmada, soğancık teşvikinde her uygulamada steril olan 5 soğandan skaleler kullanılarak bu skaleler % 3 şeker, % 0.8 agar ile desteklenmiş yarım MS ortamında 5,8 pH'da ekilmiş, iki bitki büyüme düzenleyicisinin etkisi NAA (0 mg/l, 1 mg/l ve 2 mg/l) ve TDZ (0 mg/l 0,5 mg/l) ile kombinasyonlar halinde çalışılmıştır. İki farklı ışık koşulunda (aydınlık - karanlık) ve ortamda aktif kömür varlığında veya yokluğunda da denemeler yapılmıştır ve toplamda 16 uygulama test edilmiştir. Işık koşullarında ve aktif kömür varlığındaki eksplantlarda soğancık teşviki için olumlu bir etki olduğu görülmüştür. Işık koşullarında

teşvik edilen ortalama soğancık sayısı; bitki büyüme düzenleyicilerin seviyesine bakılmaksızın, aktif kömür varlığında veya yokluğunda, karanlıkta teşvik edilenlere göre eksplant başına 4 çift olarak kaydedilmiştir. En iyi sonuçlar; 2 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ varlığında, bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanılmadığı ve aktif kömür varlığında elde edilen ışık altındaki muamelelerden elde edilmiştir. 12 haftalık kültür sonunda eksplant başına ortalama 2,4 adet iyi oluşmuş soğancık elde edilmiştir. Kültür koşullarından 6 ay sonra, 320 eksplanttan 640 ve daha fazla bitkicik kökleri ve yapraklarıyla beraber sera koşullarına % 100 yaşama başarısıyla aktarılmıştır. Tüm oluşan bitkicikler morfolojik olarak eksplantlarla aynı bulunmuş ve o türün karakteristik özelliklerine sahip bulunmuşlardır (Arzate-Fernandez ve ark. 2007).

İran'a özgü, yok olma tehlikesi altındaki *L. ledebourii* (Baker) Boiss endemik türünün farklı hasat zamanlarında mikroçoğaltımı protokolü geliştirilmiştir. Bu türün *in vitro* skale kültüründe, üç hasat mevsiminde (ilkbahar, yaz ve kış) hasat edilerek gelen soğanlar kullanılmıştır. Çeşitli muameleler arasında ki testte 0,1 mg/l NAA + 0,1 mg/l BA ve % 6 şeker ile desteklenmiş MS ortamı tüm hasat mevsimlerinde diğerlerinden üstün olduğunu kanıtlamıştır. Soğancıkların yaş ağırlığı, köklenme parametreleri ve seraya aktarıldıktan sonraki yaşama oranı için en iyi sonuçlar, erken kış döneminde hasat edilen soğanlardan elde edilmiştir. Yazın hasat edilen soğanlardan eksplant başına en yüksek sayıda soğancık elde edilmiştir. Kültür periyodunun sonundaki soğancıklara 2-8 hafta boyunca 2 hafta aralıklarla 4 °C soğukla muamele yapılmış ve soğancıklar her birinden birer hacim olacak şekilde kum, yaprak çürüntüsü ve turba yosunu dikim harcına dikilmiştir. En iyi çıkış oranı (% 90) 8 hafta soğuk uygulamasına maruz bırakılmış kış döneminde hasat edilen soğanlardan elde edilmiştir (Azadi ve Khosh-Khui 2007).

Tanimoto ve Matsubara (1995), Arzate-Fernandez ve ark. (1997), Nhut ve ark. (2001), Nhut ve ark. (2002), Baccheta ve ark. (2003), Nhut (2003) *L. longiflorum*' da; Yamagishi (1998) *liyum japonicum*'da; Chang ve ark. (2000) *L. speciosum*'da; Jeong (1996) *L. concolor*'da; Wawrosch (2001) *L. nepalense*'de; Pelkonen ve Kauppi (1999) *L. regale* Wil'de; yaptıkları çalışmalar, zambak doku kültürü uygulamalarının başarıyla

kullanıldığını ve bunun sonucu olarak hızlı bir şekilde çoğalma sağladıklarını belirtmişlerdir (Azadi ve Khosh-Khui 2007).

Melez zambaklarda gövdenin orta bölümünden izole edilen boğumlar NAA ve BA' in çeşitli konsantrasyonlarıyla desteklenmiş MS ortamında kültüre alınmışlardır. Büyüme düzenleyici içermeyen ortamda soğancık oluşumu etkili olmamıştır. 2 mg/l NAA, 1.5 ya da 2 mg/l BA ile kombinasyon halinde kullanıldığı zaman eksplant başına soğancık üretimi yüzdesi ve eksplanttaki soğancık sayısında önemli bir artış gözlenmiştir. 90 gün sonunda en çok soğancık oluşumu 2 mg/l NAA ve 1,5 mg/l BA kombinasyonundan elde edilmiştir. Apeldoorn çeşidinde en yüksek miktarda soğancık üretilmesine rağmen Beartix çeşidinde en ağır soğancıklar üretilmiştir. Ayrıca 1 ya da 2 mg/l IBA' nın kök gelişiminde en iyi etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. Köklü soğancıklar 30 gün sonra % 80-82 yaşam başarısıyla saksılara şaşırtılmıştır (Kapoor ve ark. 2009).

Lilium'un in vitro çoğaltımı üzerine Hindistan'da gerçekleştirilen bir araştırmada eksplant kaynağı olarak kullanılan soğan skaleleri % 0.1'lik HgCL₂ ve % 2'lik Bavistin ile 7,5 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. 0,75 mg/l kinetin ve 0,5 mg/l NAA ile desteklenen MS ortamına ekilen soğan skalelerinden maksimum çoğalma elde edilmiştir. Oluşan bitkicikler, daha fazla yayılma için 0,75 mg/l BAP ve 0,5 mg/l NAA ile desteklenmiş MS ortamında alt kültüre alınmıştır. Eksplant başına en yüksek değer 7,2 adet soğancık ile sonuçlanmıştır. Soğancıklar birer birer ayrılarak köklenme için 1 mg/l NAA ile desteklenmiş MS ortamına transfer edilmiştir. Böylece % 97.32'lik bir köklenme başarısı sağlanmış olduğu, aynı zamanda en yüksek kök uzunluğu değerinin 1,66 cm olarak kaydedildiği belirlenmiştir. Kökleri iyi gelişmiş soğancıklar kokopit ile dolu saksılara şaşırtılarak sera ortamına nakledilmiştir (Pandey ve ark. 2009).

Sırbistan'da yapılan bir çalışmada; *L. martagon* L. var. *cattaniae* Vis. endemik türünde in vitro yayılma ve çoğalmanın hızlı bir şekilde gelişmesi ve farmasötik açıdan değerli ikincil metabolitlerin potansiyel kaynağı olan bitki materyalinin hızlı üretimi amaçlanmıştır. *L. martagon* L. var. *cattaniae* Vis. tohum çimlenmesi 0,15 mg/l giberelek asit (GA₃) ile desteklenmiş temel MS ortamında gerçekleştirilirken; çoğalma 0,1 mg/l

GA₃, 0,2 mg/l IBA ve 0,5 mg/l BAP ile desteklenmiş temel MS ortamında gerçekleştirilmiştir (Glamoclija ve ark. 2010).

Ülkemiz biyoçeşitliliğinde önemli bir yere sahip olan doğal çiçek soğanları ya da geofit olarak adlandırılan soğanlı, yumrulu ve rizomlu bitkiler, içermiş oldukları kimyasal bileşikler ve sahip oldukları güzel çiçeklerden dolayı süs bitkisi, parfümeri ve ilaç sanayinde önemli bir potansiyele sahiptir. Geofitlerin büyük çoğunluğu yüzyıllardan beri doğada yetiştikleri yerlerden sökülerek iç ve dış piyasaya sunulmaktadır. Özellikle ihracat yoluyla yıllar içerisinde artan talebi karşılamak için yapılan söküm, bu değerli bitki türlerinin doğadaki stoklarını azaltmış ve birçoğunda neslin tehlike altına girmesine neden olmuştur. Doğal çiçek soğanlarının sökümü, bu nedenle yasalarla kontrol altına alınmış, birçok türde ihracat yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır. Gerek ihracatı, gerekse yurt içindeki süs bitkisi yetiştiriciliği alanında da tanınan bir bitki olarak yaygınlaştırılması esas alındığında, bu bitkilerde üretimin artırılması gerektiği anlaşılmaktadır. Geofitlerin bazılarının tohum bağlayamaması, bazılarının ise çiçek açabilecek büyüklüğe gelebilmeleri için 4-5 yıla ihtiyaç duymaları nedeniyle *in vitro* hızlı çoğaltım, bu bitkilerin çoğaltımında alternatif bir yöntem olabilmektedir. Son yıllarda geofitlerle ilgili yapılan *in vitro* çalışmalarda bir soğandan türüne göre değişmekle birlikte 100'den fazla yavru soğan elde edilmiştir. *In vitro* hızlı çoğaltımın rutin olarak pratikte kullanılmasıyla hem bu bitkilere olan talepler karşılanmış olacak, hem de bu bitkilerin doğadan aşırı sökümü neticesinde nesillerinin tehlike altına girmesi engellenebilecektir (Allahverdikhani Vaziri ve ark. 2012).

L. martagon L. var. *cattaniae* Vis. *in vitro* kültürü çalışmasında; eksplant kaynağı olarak tohum ve soğan pul yaprakları kullanılmıştır. Büyüme düzenleyicilerin çeşitli konsantrasyonları eklenerek hazırlanan MS ortamında soğan skale eksplantlarından soğancıklar elde edilmiştir. BAP'in 0,2 mg/l dozu ve IAA'nın 0,25-2 mg/l arasındaki dozu ile desteklenmiş MS ortamının çoğalma için en etkili olduğu belirlenmiştir. 6 haftanın sonunda eksplant başına ortalama 5 adet soğancık elde edilmiştir ve yaklaşık 200 adet bitkicik % 95 hayatta kalma başarıyla sera ortamına aktarılmıştır. Ön denemeler, seradaki bitkiciklerin tarlada da başarıyla yetiştirilebileceğini göstermiş olup

bu endemik ve koruma altındaki bitkinin in vitro yetiştiriciliği germplazm korunması için büyük önem taşımaktadır (Skoric ve ark.2012).

Hussey, BAP etkisini araştırdığı çalışmasında; bir Asyatik melez olan *L. pyrenicum* Govan'ın köklerdeki adventif tomurcuklarını eksplant kaynağı olarak kullanmıştır. Tomurcuklar 2-8 mg/l BA ile desteklenmiş MS ortamında en uygun şekilde gelişmiştir ve 1 ile 5 arasında yan dal oluşturmuştur. Eksplant kaynağı olarak yaprak parçaları kullanıldığında ise, sitokinin + oksin kullanımının *L. longiflorum* ve *L. pyrenacium*'da sürgün çoğalmasını teşvik ettiğini bulmuştur. Kök kısımlarının kültüre alındığı 2 mg/l IAA ve 0,5 mg/l BA ile desteklenmiş MS ortamında ise ortalama 10 adet soğancık üretilmiştir. Steinberg ve ark. (2012) *L. longiflorum* 'Nellie white' çeşidinin yaprak ayalarının eksplant olarak kültüre alınmasıyla en uygun soğancık oluşumunu 10 mg/l NAA ve 1 mg/l kinetin ile desteklenmiş MS ortamından elde etmiştir. Ancak bu kombinasyonda sürgün oluşumu en az etkili olmuştur. Yaprakların temel eksplant kaynağı olarak kullanımında, soğanlar eksplant kaynağı olan yaprakların taban kısımlarında oluşmuşlardır ve eksplant başına 1-3 adet soğancık oluşturmuşlardır (www.phytotechlab.com, 2012).

L. bosniacum'un yaprak ve soğan eksplantlarının organogenik kapasitesinin test edildiği bir çalışmada; 0,5 mg/l BA ve 0,2 mg/l IBA'nın yanı sıra 0,5 mg/l TDZ ve 0,2 mg/l IBA kombinasyonları da sürgün oluşumu için kullanılmıştır. Her iki kombinasyon da soğan eksplantlarından sürgün oluşumunu sağlamıştır ancak sadece BA + IBA kombinasyonu yaprak eksplantlarından sürgün oluşumunu teşvik etmiştir. Bitkicikler sera koşullarına başarıyla aktarılmıştır (Paric ve ark. 2011).

Longiflorum Asyatik melezlerinden 'eyeliner' çeşidi materyal olarak seçilen bir araştırmadan şu sonuçlar elde edilmiştir; Soğan skalelerinin 1:500 oranında karbendazim çözeltisi içinde 30 dakika boyunca ısıtılıp, % 75'lik alkolde 10-60 saniye dezenfeksiyon ve % 2'lik NaClO çözeltisinde 15 dakika dezenfeksiyona tabi tutulması en uygun muamele ve dezenfeksiyon yöntemi olarak bulunmuştur. Sürgün teşviki için en uygun koşul MS + 0,5 mg/l BA + 0,1 mg/l NAA + 90 mg/l şeker ortamı ve 25 °C' de karanlık uygulaması olmuştur. Soğancık teşviki için en uygun ortam 2 MS + 1 mg/l BA

+ 0,5 mg/l NAA + 90 g/l şeker + 2 mg/l paclobutrazol (PP333) olarak saptanmıştır. Soğancık teşviki için en uygun kültür koşulunun 20 °C' de 10 gün karanlık ve 14 gün ışık uygulaması olduğu belirlenmiştir. Köklenme için en uygun ortam 1/2 MS + 0,8 mg/l NAA + 3 g/l aktif kömür, 20 °C sıcaklık, 10 gün karanlık 14 gün ışık olmuştur (Liu ve ark. 2012).

Meristematik hücre kümelerinden oluşan *Lilium x formolongi* R13 melez hattı süspansiyon kültürleri 4 yıl boyunca 1 mg/l pikloram içeren sıvı MS besisi ortamında muhafaza edilmiştir. Kontrol edilen tüm hücre kümeleri diploit olup bu kümeler sürgün oluşumu için yüksek potansiyel içermektedirler. Rejenere ortamdaki şeker konsantrasyonu ve BA eklenmesi hücre kümelerinden sürgün oluşumunu etkilemiştir. 2 aylık kültür sonrası %85'ten fazla hücre kümesinden katılaşmış rejenerasyon ortamında (1/2 MS + 5-10 g/l şeker) sürgün üretilmiştir. Şeker konsantrasyonunun 20 g/l olması sürgün oluşumunda azalmaya neden olmuştur. Katı ortama BA ilavesi sürgün sayısının artışında ve sürgün oluşumunun teşvikinde etkili olmuştur. Hücre kümelerinden oluşan bitkiciklerin hepsi diploid ve 24 kromozoma sahip olup normal olarak büyümüşlerdir. Bu çoğaltım yöntemiyle 1 g meristematik nodüler hücre kümesinden yılda 4.5×10^{10} bitkicik üretilebileceği ümit edilmektedir (Godo ve ark. 1998).

Rejenerasyon yeteneği ve *in vitro*'da bitkicik büyümesini etkileyen faktörlerin incelendiği bir çalışmada, rejenere sürgün sayısının 0,5 mg/l TDZ ve 30g/l şeker ile desteklenmiş MS ortamında en yüksek olduğu; kök sayısının 0,2 mg/l NAA ve 30 g/l şeker ile desteklenmiş MS ortamında en yüksek olduğu; soğan çapının 0,2 mg/l NAA ve 30 g/l şeker ile desteklenmiş MS ortamında en kalın olduğu görülmüştür. Bitkicikler sera ortamına yüksek yaşama oranı ile aktarılmışlardır (Nhut ve ark. 2006).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma 2012-2013 yıllarında Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde bulunan doku kùltürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

Denemede bitki materyali olarak *Lilium candidum* L. ve *Lilium martagon* L. türlerine ait zambak tohumları kullanılmıştır.

***L. candidum* L.:** Güney Avrupa ve Orta Doğu ÷lkelerinde doğal olarak bulunmaktadır (Şekil 3.1). Bitki 90-150 cm boy yapabilir. Çiçekleri 6-20 adet, temiz beyaz renkli ve kokuludur. Haziran- Temmuz aylarında çiçek açmaktadır. Yapraklardan küçük olanları

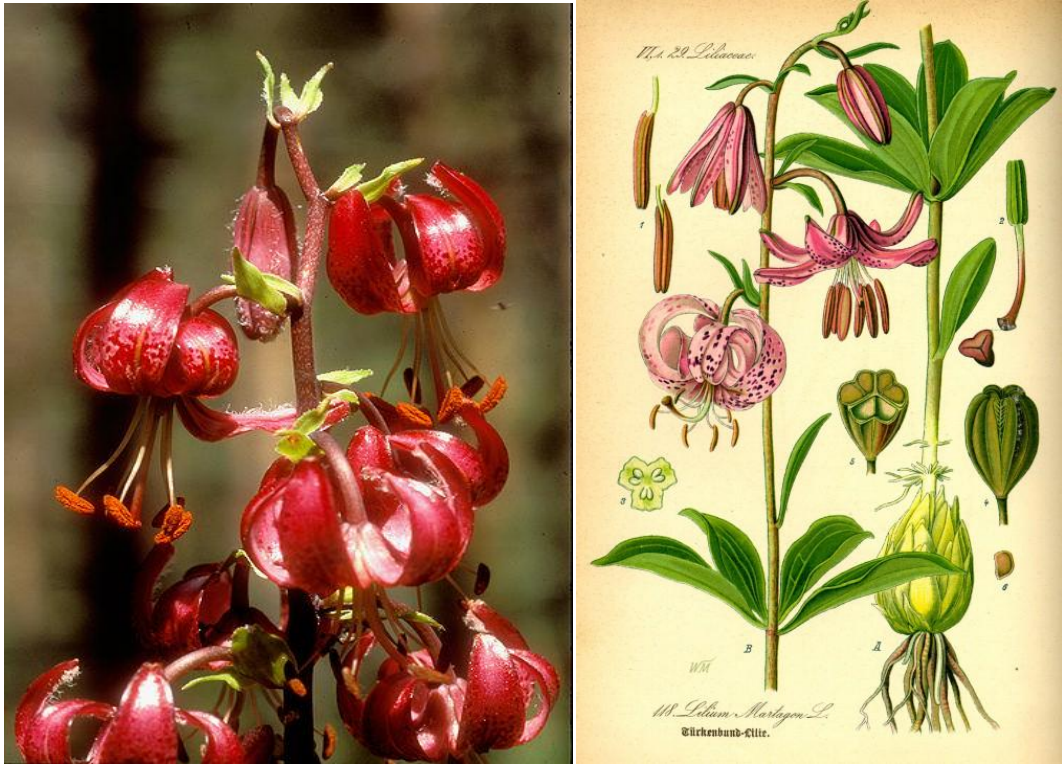


Şekil 3.1. *L. candidum* L. bitkisinin görünüşü

sonbaharda rozet şeklinde diplerde oluşmaya başlar. Bunlar sapsız, şeridimsi uzun, 12-18 mm uzunluğunda ve 3,5-5 cm genişliğindedir. Diğer büyük yapraklar ise ilkbaharda oluşmaktadır. Yaprak sayısı yüzü aşkın, karışık dizilişli, 3-5 damarlıdır. Çiçek

sürgününün orta kısmındaki yapraklar şeridimsi yapıdadır ve yukarı doğru çıkıldıkça küçülmektedir. Soğanları yayvan yumurta şeklindedir.

***L. martagon* L.:** Güney ve Orta Avrupa kökenlidir. Yazın açan çiçekleri çok farklı renklerde olabilmektedir (Şekil 3.2). Açık pembe, pembemsi-menekşe, şarap kırmızısı ve beyazdan koyu kestaneye kadar renkleri bulunmaktadır. Tomurcukları tüylüdür. Bitki 100-180 cm arasında boylanır ve gövde üzerinde birden çok sarkık çiçek taşımaktadır. Yarı gölge yerlere dikilirler. Bahçede kullanılan en güzel zambaklardır (<http://hobibahcemiz.net/viewtopic.php?f=114&t=156> , 2013).

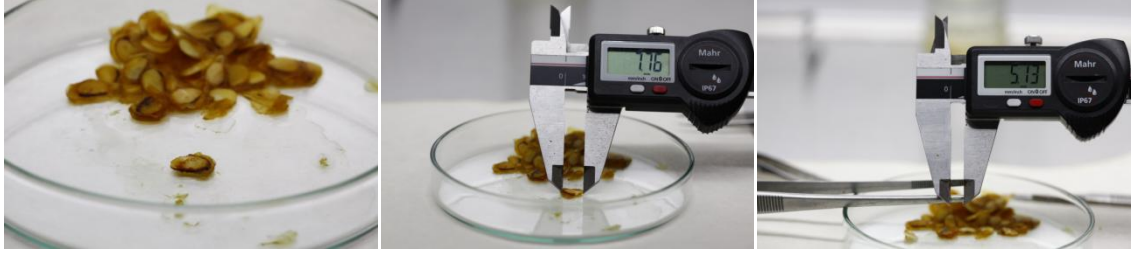


Şekil 3.2. *L. martagon* L. bitkisinin görünüşü

Çalışmada 600 adet *L. candidum* L. (Şekil 3.3) ve 600 adet *L. martagon* L. (Şekil 3.4) olmak üzere denemede toplam 1200 adet embriyo kullanılmıştır.



Şekil 3.3. *L. candidum* L. tohumları, tohum ve embriyo uzunluklarına ilişkin görüntüler



Şekil 3.4. *L. martagon* L. tohumları, tohum ve embriyo uzunluklarına ilişkin görüntüler

8 farklı yetiştirme ortamına ekim yapılmış olup her ortam 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 25 adet embriyo olacak şekilde deneme kurulmuştur. Denemede kullanılan yetiştirme ortamları:

- 1) MS (Kontrol)
- 2) MS + 0,01 mg/l NAA
- 3) MS + 0,02 mg/l NAA
- 4) 1/2 MS
- 5) 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA
- 6) 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA
- 7) 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP
- 8) 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP

3.2. Yöntem

3.2.1. Yetiştirme Ortamlarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak ortamların hazırlığında, kullanılacak stok çözeltilerden (Şekil 3.5) gerekli miktarlar çekilerek silindir içerisinde toplanmıştır. Toplanan stok çözeltilerin üzerine 2000 ml saf su eklenmiş ve sonrasında çözeltiliye 60 gram sükröz ilave edilerek oluşan ortam homojen bir şekilde dağılıncaya kadar karıştırılmıştır.



Şekil 3.5. Kullanılan stok çözeltiler

Hazırlanan çözeltinin pH'sı, 5,8 olacak şekilde ayarlanmıştır (Van Tyul ve ark. 1991, Nhut ve ark. 2006). pH'sı ayarlanan çözelti büyük bir erlene boşaltılmış ve 14 gram agar eklenerek otoklava yerleştirilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Denemede kullanılan otoklavın görünüşü

Otoklavda 121 °C sıcaklık ve 1 atm basınç altında 20 dakika süreyle sterilize edilen ortam çıkarılarak steril kabine götürülmüş, her tüpe 10 ml olacak şekilde dağıtılmış ve katılaşıncaya kadar bekletilmiştir.

3.2.2. Bitkisel Materyalin Hazırlanması ve İncelenen Parametreler

Denemede kullanılacak zambak embriyolarının tohumları ‘Türkiye Geofitlerinin Kültüre Alınması Yeni Tür ve Çeşitlerin İlgili Sektörlere Kazandırılması (110G007)’ isimli Tübitak projesi kapsamında, proje üretim alanından hasat edilmiştir. Hasat edilen tohumlar kapsülleri ile beraber besi ortamına ekim yapıncaya kadar buzdolabında muhafaza edilmişlerdir. Tohumların ekim aşamasında, kapsüller anti bakteriyel sıvı sabun ile ovalanarak yıkanmış (Şekil 3.7) ve yıkanan kapsüller ılık musluk suyu altında durulanmıştır. Ayrıca, yıkanan kapsüller tekrar saf su ile üç dört defa çalkalanıp el değmeden durulanmıştır. Bunu takiben tohum kapsülleri % 96’ lık etil alkol içerisinde bir dakika boyunca zaman zaman çalkalanmak suretiyle bekletilmiştir. Sonrasında



Şekil 3.7. Antibakteriyel sıvı sabunla yıkanmış *L. candidum* L. tohum kapsülleri

kapsüller 1-2 damla Tween 20 damlatılmış % 20’ lik sodyum hipoklorit (% 5 NaOCl) çözeltisi içerisinde 20 dakika tutularak steril saf su ile 3-4 kez durulanmıştır (Şekil 3.8).

Kullanılan steril kabinin yüzeyi tohum ekiminden önce alkollü pamuk yardımıyla silinmiştir. Tohumların ekiminde kullanılan aletler ve kaplar kullanılmadan önce ispiro



Şekil 3.8. Sodyum hipoklorit çözeltisinde bekletilen zambak kapsülleri

ocağı yardımıyla ateş üzerinde sterilize edilmişlerdir. Bistüri ve uzun saplı pens yardımıyla, embriyolar tohumlardan zarar verilmeden birer birer çıkarılmıştır. Tohumlardan çıkarılan embriyolar el değmeden cam tüpler içerisindeki ortamlara yerleştirilerek tüplerin ağız kısımları ateşe tutulmuştur. Tüplerin ağızları streç film ile kapatılmıştır. Ekimden sonra tüpler tüplüklere dizilmiş, ortalama 24 °C sıcaklık ve % 60 nem içeren uygun ışık şiddetine sahip iklim odasına nakledilmişlerdir.

Narayanaswamy ve Norstog (1964) belirttiği gibi, iklim odasına aktarılan embriyolar 10 gün karanlıkta bekletilmişlerdir. 10'uncu günün sonunda 16 saat aydınlık 8 saat karanlık uygulaması ile 8 hafta süresince burada muhafaza edilip gözlemleri yapılmıştır (Bridgen 1994).

8 haftalık gelişme periyodu sonunda çalışmada aşağıdaki parametreler değerlendirilmiştir.

Çimlenme oranı (%): Gelişme periyodu sonunda çimlenen embriyoların kullanılan ortama ait tekerrürlerdeki toplam embriyo sayısına oranını ifade etmektedir.

Embriyo gelişim oranı (%): Büyüyen embriyoların bir kısmı düzgün bir gelişme gösterirken bazı embriyolar kusurlu gelişebilmekte, gelişmemekte veya enfeksiyonlu olabilmektedir. Embriyo gelişim oranı; 8 haftalık büyüme periyodu sonunda embriyolardan meydana gelen düzgün bitkiciklerin kullanılan ortama ait tekerrürlerde ekilen toplam embriyo sayısına oranını ifade etmektedir.

Köklenme oranı (%): Köklenme gösteren embriyoların o tekerrürdeki toplam embriyo sayısına oranını ifade etmektedir.

Soğancık oluşumu (adet): Ekilen embriyo başına elde edilen soğancık sayısını ifade etmektedir.

Bitki boyu (mm): Ekilen embriyolardan gelişen bitkiciklerin maksimum uzunluğunu ifade etmektedir. Bitki boyu cetvel yardımıyla ölçülmüştür.

Yaprak sayısı (adet): Gelişen embriyolardaki bitkicik başına düşen yaprak adedini ifade etmektedir.

Kök uzunluğu (mm): Gelişen bitkiciklerden meydana gelen köklerin uzunluğunu ifade etmektedir. Kök uzunluğu parametresinde, oluşan bitkiciklerdeki ‘en uzun kök’ esas alınmıştır.

Kök sayısı (adet): Kültür sonunda oluşan bitkiciklerden elde edilen köklerin sayısını ifade etmektedir.

Kök kalınlığı (mm): Gelişme periyodu sonunda meydana gelen köklerdeki kalınlığı ifade etmektedir. Kök kalınlığı parametresinde ‘en kalın kök’ esas alınmıştır.

3.2.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Çalışma neticesinde elde edilen tüm verilerin varyans analizleri 0,01 ve 0,05 önemlilik seviyesinde ve JMP 7 bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Student t testi ile saptanmıştır. Çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranlarından elde edilen yüzde değerlere açılı transformasyonu uygulanmıştır.

4. BULGULAR

Yapılan araştırmada, iki farklı zambak türünün (*L. candidum* L.ve *L. martagon* L.) embriyoları doku kültürü laboratuvarında kültüre alınmıştır. Zambak tohumlarından çıkarılan embriyolar sekiz farklı yetiştirme ortamına ekilerek bu ortamların çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları ile bitkiciklerdeki bazı morfolojik gelişmelere olan etkileri (Soğan oluşumu, bitki boyu, yaprak sayısı, kök uzunluğu, kök sayısı, kök kalınlığı) incelenmiştir.

4.1. *L. candidum* L.’ dan Elde Edilen Sonuçlar

4.1.1. *L. candidum* L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Çimlenme, Embriyo Gelişimi ve Köklenme Oranları Üzerine Etkileri

L. candidum L. zambak türünde yetiştirme ortamları, köklenme oranı üzerine istatistiki açıdan farklılık gösterirken, çimlenme oranı ve embriyo gelişimi üzerine önemli etkide bulunmamıştır (Çizelge 4.1).

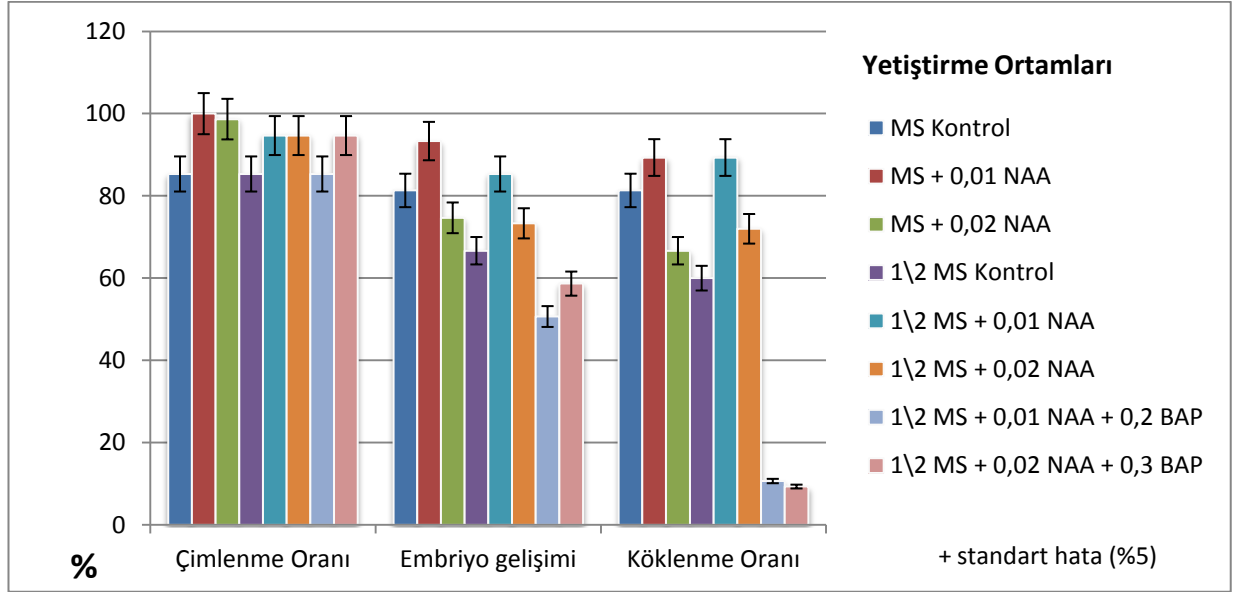
Çizelge 4.1. *L. candidum* L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri

Yetiştirme Ortamları	Çimlenme Oranı (%)	Embriyo gelişimi (%)	Köklenme oranı (%)
MS (Kontrol)	85,33	81,33	81,33 ab*
MS + 0,01 mg/l NAA	100,00	93,33	89,33 a
MS + 0,02 mg/l NAA	98,67	74,67	66,67 b
1\2 MS	85,33	66,67	60,00 b
1\2 MS + 0,01 mg/l NAA	94,67	85,33	89,33 a
1\2 MS + 0,02 mg/l NAA	94,67	73,33	72,00 ab
1\2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP	85,33	50,67	10,67 c
1\2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP	94,67	58,67	9,33 c

İncelenen parametreler bakımından ortaya çıkan farklılıklar; * 0,01 düzeyinde önemlidir.

Aynı harfi içeren uygulamalar arasında önemli bir farklılık yoktur.

Çimlenme oranlarına ait sonuçlar incelendiğinde, elde edilen bulguların % 85.33 ile % 100.00 arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek çimlenme oranı % 100.00 çimlenme başarısıyla MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamından elde edilmiştir (Şekil 4.1). En düşük sonuçlar ise 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP, MS ve 1/2 MS uygulamalarından alınmıştır (% 85.33).



Şekil 4.1. *L. candidum* L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri

Embriyo gelişimine ait oranların % 93.33 ile % 50.67 aralığında olduğu Çizelge 4.1’de görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre MS + 0,01 mg/l NAA en yüksek değeri verirken 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP uygulaması en düşük sonucu vermiştir. Sonuçlar arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunmamaktadır.

Yapılan çalışmada köklenme (Şekil 4.2) oranı yönünden yetiştirme ortamları arasında istatistiki olarak 0,01 düzeyinde önemli fark bulunmuştur. Yüksek köklenme oranına sahip MS + 0,01 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA ve MS yetiştirme ortamları birbirine benzer istatistiki etkiye sahip olurken, % 89.33 köklenme oranı ile MS + 0,01 mg/l NAA, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamları en yüksek değere sahip olmuşlardır. En düşük köklenme oranları ise 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP (% 10.67) ve 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP (% 9.33) ortamlarından elde edilmiştir,



Şekil 4.2. *L. candidum* L. türüne ait bitkicikte köklenmeye ait genel görünüş

4.1.2. *L. candidum* L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Bitkiciklerin Morfolojik Gelişimleri Üzerine Etkileri

Yapılan çalışmada, yetiştirme ortamları bitkiciklerin morfolojik gelişimleri üzerine bütün parametrelerde 0,01 düzeyinde önemli etkide bulunmuştur (Çizelge 4.2) (Şekil 4.3, 4.4, 4.5).

L. candidum L. türünde en fazla soğancık oluşumu 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP yetiştirme ortamında görülmüştür. Bu yetiştirme ortamına ekilen embriyolardan bitki başına 2,06 adet soğancık elde edilmiştir (Çizelge 4.2). 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP ve MS yetiştirme ortamlarına ekilen embriyolardan en düşük değerler (1,11 soğancık/bitki ve 1,09 soğancık/bitki) alınmıştır.

Çizelge 4.2. *L. candidum* L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkiciklerin morfolojik gelişimleri üzerine etkileri

Yetiştirme Ortamları	Soğancık oluşumu (adet)	Bitkicik boyu (mm)	Yaprak sayısı (adet)	Kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (mm)	Kök kalınlığı (mm)
MS (Kontrol)	1,09 d*	47,09 bc*	1,12 c*	2,76 e*	17,01 a*	0,58 e*
MS + 0,01 mg/l NAA	1,61 bc	66,20 a	1,45 b	3,76 cd	16,64 a	0,86 c
MS + 0,02 mg/l NAA	1,45 bc	53,32 b	1,41 b	5,06 ab	15,44 a	0,73 d
1/2 MS	1,34 cd	43,84 cd	1,07 c	3,38 de	15,29 a	0,60 e
1/2 MS + 0,01 mg/l NAA	1,58 bc	37,75 d	1,20 c	4,52 bc	17,01 a	0,95 bc
1/2 MS + 0,02 mg/l NAA	1,67 b	37,75 d	1,65 a	6,05 a	18,03 a	0,99 b
1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP	2,06 a	26,18 e	1,21 c	1,92 f	9,27 b	0,88 bc
1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP	1,11 d	25,07 e	1,17 c	1,00 g	6,81 b	1,30 a

İncelenen parametreler bakımından ortaya çıkan farklılıklar; * 0,01 düzeyinde önemlidir.

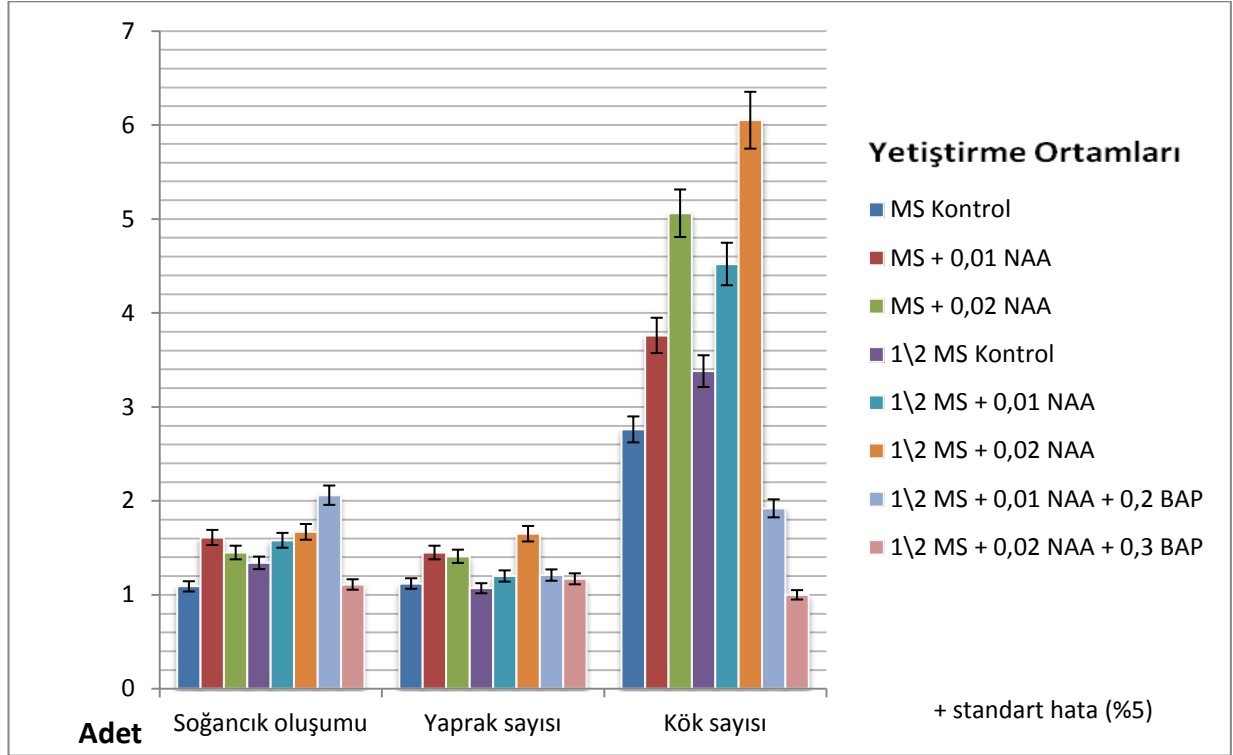
Aynı harfi içeren uygulamalar arasında önemli bir farklılık yoktur.



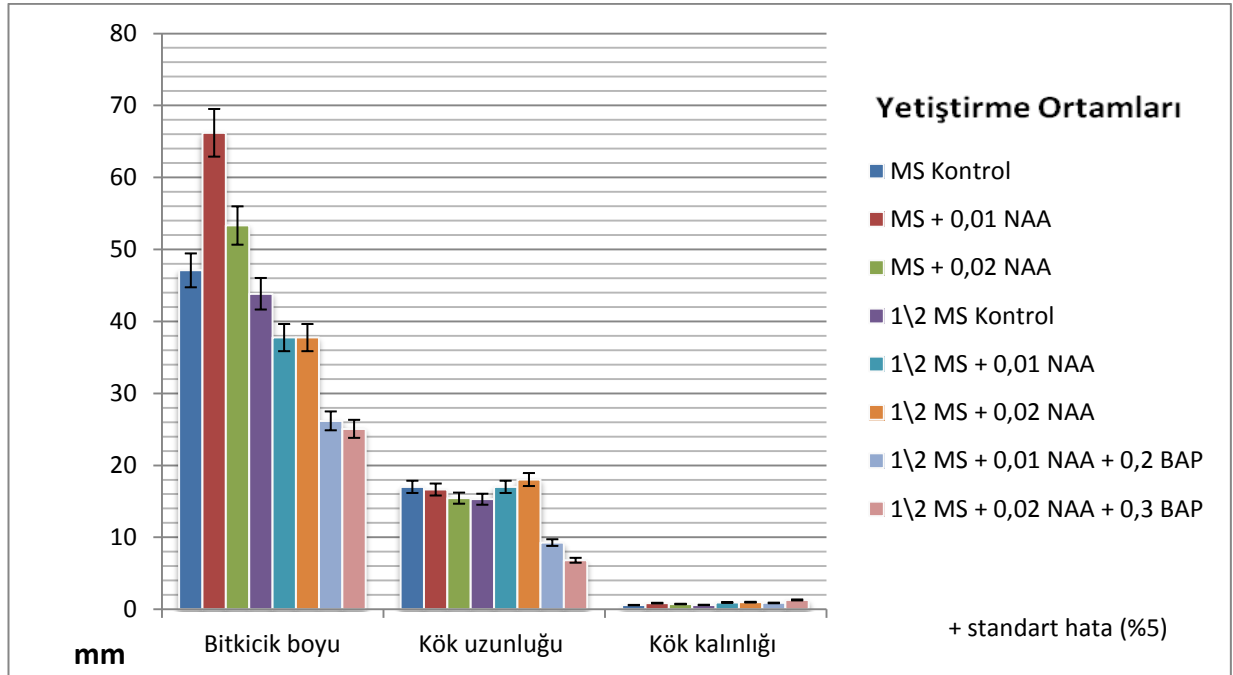
Şekil 4.3. *L. candidum* L. türüne ait bitkicikte soğancığın görünüşü

Bitkicik boyuna ilişkin gözlemlerde, MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamı kontrole göre en yüksek bitki boyu ortalamasına (66,20 mm) sahip olmuştur. 1/2 MS + 0,02

mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP yetiştirme ortamında ise bitki boyu ortalaması 25,07 mm ile en düşük değeri göstermiştir.



Şekil 4.4. *L. candidum* L. türünde yetiştirme ortamlarının soğancık oluşumu, yaprak sayısı ve kök sayısı üzerine etkileri



Şekil 4.5. *L. candidum* L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkicik boyu, kök uzunluğu ve kök kalınlığı üzerine etkileri

Bitki başına düşen yaprak sayısı açısından, 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA yetiştirme ortamında, bitki başına 1,65 adet yaprak ile en yüksek değer elde edilmiştir. Bunu MS + 0,02 mg\l NAA (1,41 adet) ve MS + 0,01 mg\l NAA (1,45 adet) yetiştirme ortamları izlemiştir. Yapraklanmanın zayıf olduğu diğer yetiştirme ortamları, istatistiksel olarak benzer etkiye sahip olurken en düşük yaprak adedi 1\2 MS yetiştirme ortamında (1,07 adet) görülmüştür.

Bitki başına düşen kök sayısı ortalamasında 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA ve MS + 0,02 mg\l NAA yetiştirme ortamları kontrole göre en yüksek değerleri göstermiştir (6,05 adet/bitki ve 5,06 adet/bitki). 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA + 0,3 mg\l BAP yetiştirme ortamı ise kontrole göre en düşük değeri (1,00 adet/bitki) vermiştir.

Kök uzunluğu 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA (18,03 mm), 1\2 MS + 0,01 mg\l NAA (17,01 mm), MS (17,01 mm), MS + 0,01 mg\l NAA (16,64 mm), MS + 0,02 mg\l NAA (15,44 mm) ve 1\2 MS (15,29 mm) yetiştirme ortamlarında en yüksek değerleri verirken 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA + 0,3 mg\l BAP (6,81 mm) ve 1\2 MS + 0,01 mg\l NAA + 0,2 mg\l BAP (9,27 mm) yetiştirme ortamları en düşük değerleri göstermiştir.

Kök kalınlığına ait bulgularda, 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA + 0,3 mg\l BAP yetiştirme ortamından 1,30 mm ortalama ile kontrole (0,58 mm) göre en yüksek kök kalınlık değeri elde edilmiştir.

4.2. *L. martagon* L.' dan Elde Edilen Sonuçlar

4.2.1. *L. martagon* L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Çimlenme, Embriyo Gelişimi ve Köklenme Oranları Üzerine Etkileri

L. martagon L. zambak türünde yetiştirme ortamları, Çimlenme oranı ve embriyo gelişimi üzerine istatistiki açıdan farklılık gösterirken, köklenme oranı üzerine önemli etkide bulunmamıştır (Çizelge 4.3) (Şekil 4.6).

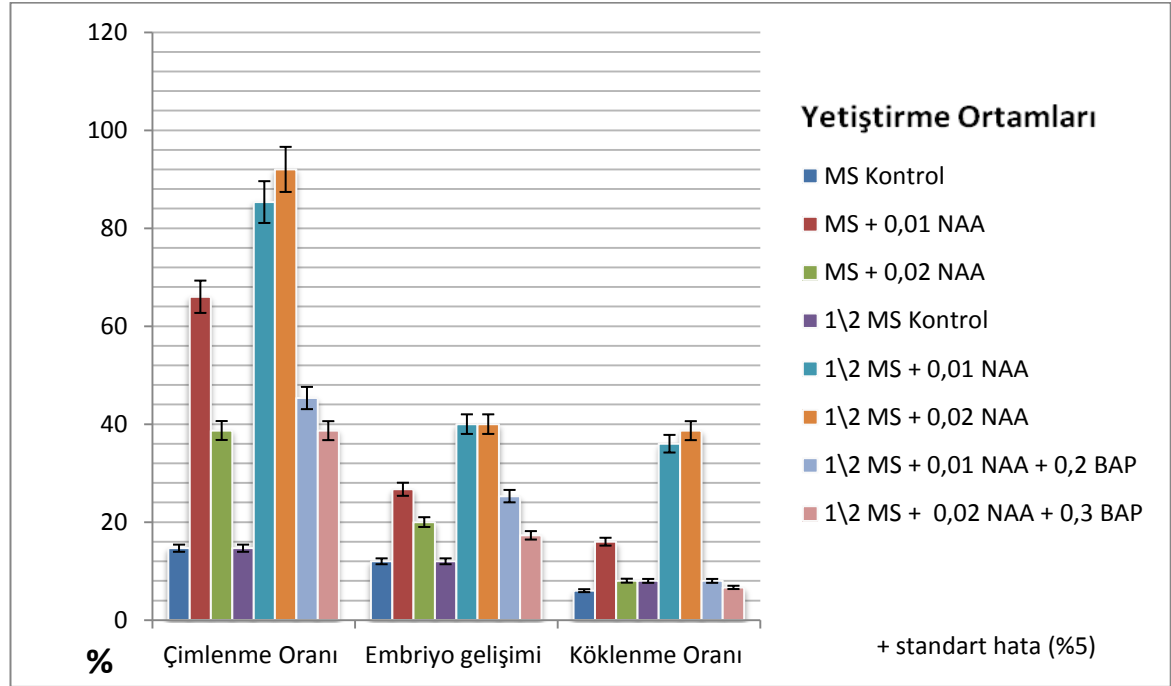
Çimlenme oranı, *L. martagon* L. türünde, yetiştirme ortamları arasında 0.01 düzeyinde farklılık göstermiştir. 1\2 MS + 0,02 mg/l NAA ve 1\2 MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamlarından elde edilen çimlenme verileri en yüksek değerleri verirken (%92.00 ve %85.33) en düşük değerler 1/2 MS ve MS uygulamalarından elde edilmiştir (% 14.67).

Çizelge 4.3. *L. martagon* L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri

Yetiştirme Ortamları	Çimlenme Oranı (%)	Embriyo gelişimi (%)	Köklenme Oranı (%)
MS (Kontrol)	14,67 d*	12,00 c**	6,00
MS + 0,01 mg/l NAA	66,00 b	26,70 ab	16,00
MS + 0,02 mg/l NAA	38,70 c	20,00 bc	8,04
1\2 MS	14,67 d	12,00 c	8,00
1\2 MS + 0,01 mg/l NAA	85,33 a	40,00 a	36,00
1\2 MS + 0,02 mg/l NAA	92,00 a	40,00 a	38,67
1\2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP	45,33 c	25,30 ab	8,00
1\2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP	38,67 c	17,30 bc	6,67

İncelenen parametreler bakımından ortaya çıkan farklılıklar; * 0,01 düzeyinde ; ** 0,05 düzeyinde önemlidir.

Aynı harfi içeren uygulamalar arasında önemli bir farklılık yoktur.



Şekil 4.6. *L. martagon* L. türünde yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları üzerine etkileri

Embriyo gelişimi oranı açısından uygulamalar arasında istatistiki olarak 0,05 düzeyinde farklılık bulunmuştur. $1/2MS + 0,01 \text{ mg/l NAA}$ ve $1/2MS + 0,02 \text{ mg/l NAA}$ yetiştirme ortamlarından % 40.00 gelişim oranı ile en yüksek değerler elde edilmiştir. Kontrol ve $1/2 MS$ uygulamalarında ise bu oran % 12.00 olarak en düşük değeri vermiştir.

Köklenme oranı açısından uygulamalar arasında istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır. Köklenme oranları % 38.67 ($1/2 MS + 0,02 \text{ mg/l NAA}$) ve % 6.00 (MS Kontrol) aralığında oluşmuştur.

4.2.2. *L. martagon* L. Türünde Yetiştirme Ortamlarının Bitkiciklerin Morfolojik Gelişimleri Üzerine Etkileri

Yapılan çalışmada, yetiştirme ortamları bitkiciklerin morfolojik gelişimlerinde soğancık oluşumu ve kök kalınlığı üzerine 0.01; bitkicik boyu ve kök uzunluğu üzerine 0.05 düzeyinde istatistiksel farklılık gösterirken, yaprak sayısı ve kök sayısı açısından önemsiz bulunmuştur.(Çizelge 4.4) (Şekil 4.7, 4.8, 4.9).

Bitki başına düşen ortalama soğancık oluşumu $MS + 0,01 \text{ mg/l NAA}$ ve $MS + 0,02 \text{ mg/l NAA}$ uygulamalarında 3,25 ve 2,64 adet ile en yüksek değerleri göstermişlerdir. $1/2 MS + 0,01 \text{ mg/l NAA} + 0,2 \text{ mg/l BAP}$ ve $1/2 MS + 0,02 \text{ NAA} + 0,3 \text{ BAP}$ uygulamalarından ise herhangi bir kök oluşumu görülmemiştir.

Bitkicik boyu ölçümlerinde en yüksek değerlerin $1/2 MS + 0,01 \text{ mg/l NAA} + 0,2 \text{ mg/l BAP}$ (22,21 mm), $1/2 MS + 0,02 \text{ NAA} + 0,3 \text{ BAP}$ (18,92 mm) ve $MS + 0,01 \text{ mg/l NAA}$ (16,68 mm) yetiştirme ortamlarından elde edildiği görülmüştür. En düşük değerler ise $1/2 MS + 0,02 \text{ mg/l NAA}$ (9,56 mm) ve $MS + 0,02 \text{ mg/l NAA}$ (7,11 mm) yetiştirme ortamlarına ekilen embriyolardan elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. *L. martagon* L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkiciklerin morfolojik gelişimleri üzerine etkileri

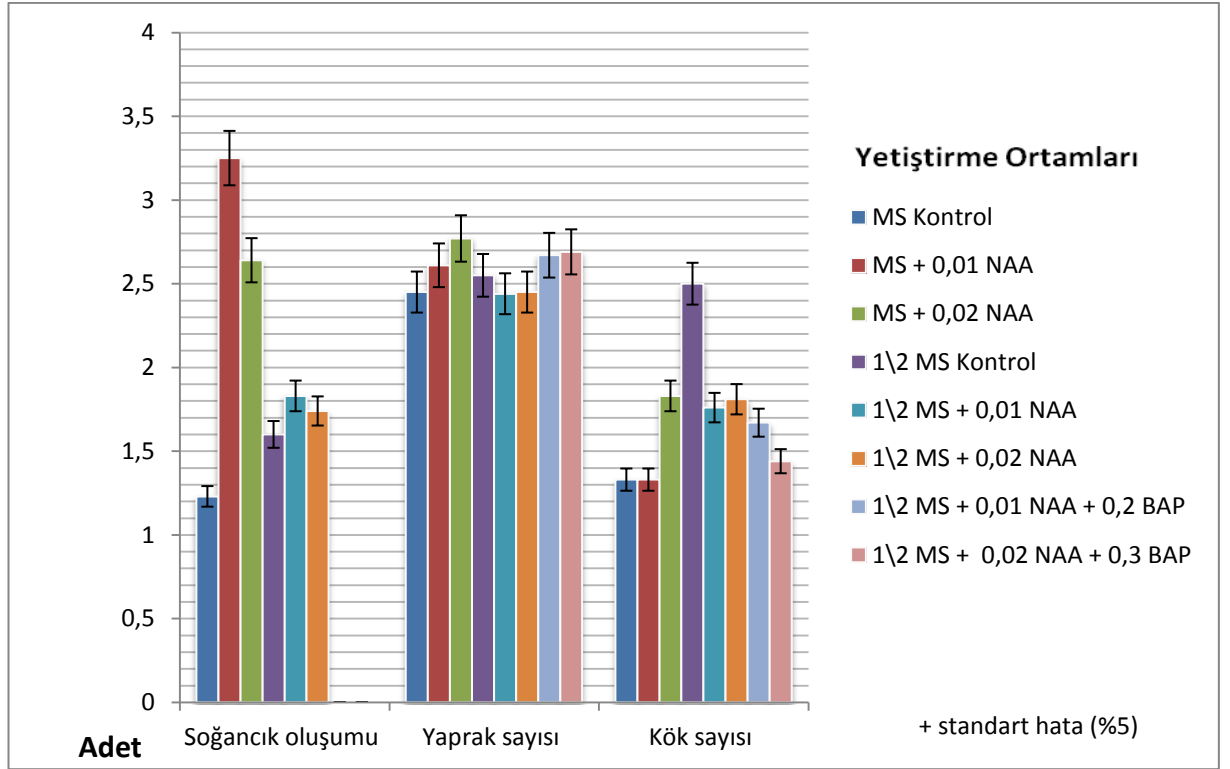
Yetiştirme Ortamları	Soğancık oluşumu (adet)	Bitkicik boyu (mm)	Yaprak sayısı (adet)	Kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (mm)	Kök kalınlığı (mm)
MS (Kontrol)	1,23 c*	10,40 cd**	2,45	1,33	6,00 bc**	0,75 cd*
MS + 0,01 mg/l NAA	3,25 a	16,68 abc	2,61	1,33	7,60 b	0,67 d
MS + 0,02 mg/l NAA	2,64 ab	7,11 d	2,77	1,83	7,10 bc	0,68 d
1\2 MS	1,60 c	12,73 bcd	2,55	2,50	4,30 c	0,66 d
1\2 MS + 0,01 mg/l NAA	1,83 bc	11,07 cd	2,44	1,76	9,00 ab	0,82 bc
1\2 MS + 0,02 mg/l NAA	1,74 bc	9,56 d	2,45	1,81	7,30 b	0,98 a
1\2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP	0,00 d	22,21 a	2,67	1,67	11,10 a	0,93 ab
1\2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP	0,00 d	18,92 ab	2,69	1,44	4,70 c	0,98 a

İncelenen parametreler bakımından ortaya çıkan farklılıklar; * 0,01 düzeyinde ; ** 0,05 düzeyinde önemlidir.

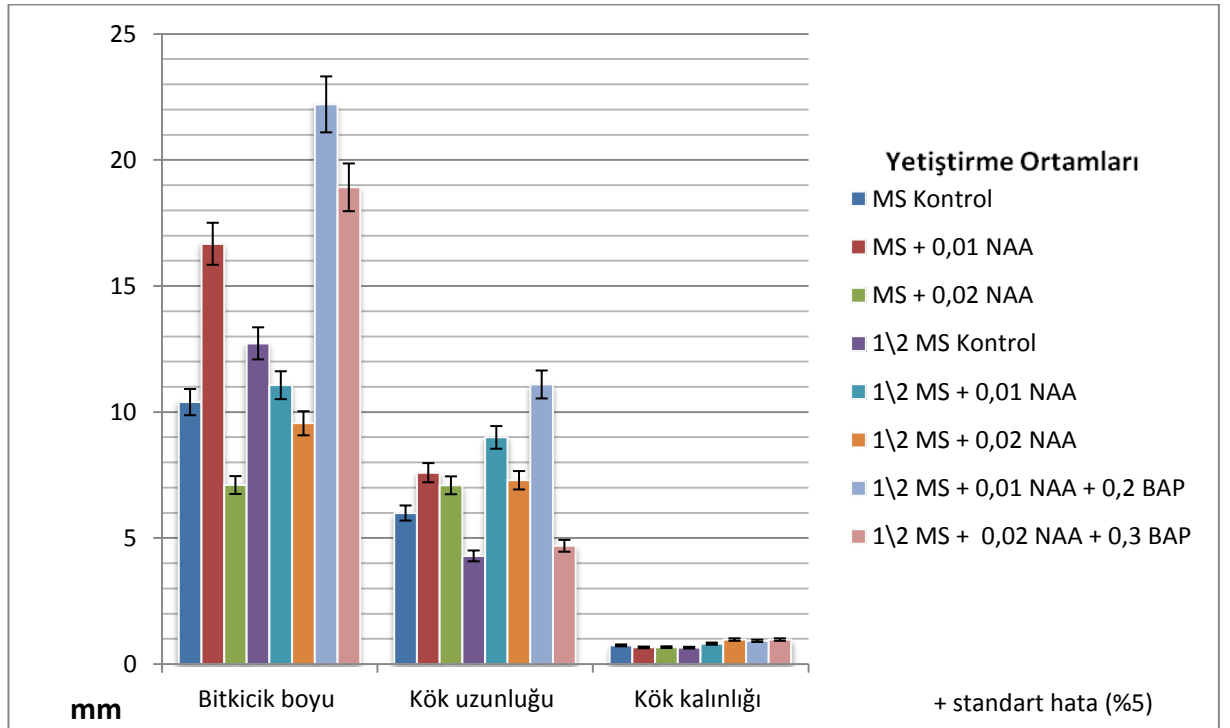
Aynı harfi içeren uygulamalar arasında önemli bir farklılık yoktur.



Şekil 4.7. *L. martagon* türünde soğancık oluşumuna ait genel görünüş



Şekil 4.8. *L. martagon* L. türünde yetiştirme ortamlarının soğancık oluşumu, yaprak sayısı ve kök sayısı üzerine etkileri



Şekil 4.9. *L. martagon* L. türünde yetiştirme ortamlarının bitkicik boyu, kök uzunluğu ve kök kalınlığı üzerine etkileri

Yaprak sayısı açısından uygulamalar arasında farklılık görülmemiştir. Yaprak sayısı MS + 0,02 mg/l NAA uygulamasında bitki başına ortalama 2,77 adet olarak bulunmuştur. Diğer uygulamalar da buna yakın sonuçlar vermiştir.



Şekil 4.10. *L. martagon* L. türüne ait bitkicide yaprakların görünüşü

Bitki başına düşen ortalama kök sayısı açısından uygulamalar arasında istatistiki anlamda herhangi bir fark bulunmamıştır. 2,50 adet ortalama kök sayısı ile 1/2 MS uygulaması en yüksek değeri vermiştir. En düşük kök sayısı ise MS ve MS + 0,01 mg/l NAA (1,33 adet) yetiştirme ortamlarına ekilen embriyolardan elde edilmiştir.

Kök uzunluğu yönünden yapılan incelemelerde 0,05 düzeyinde önemli farkın olduğu görülmektedir. 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP uygulaması ortalama 11,10 mm kök uzunluğu ve 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA uygulaması ortalama 9,00 mm kök uzunluğu ile bu türde en yüksek değerleri vermiştir. 4,30 mm ve 4,70 mm kök uzunluğu ortalamaları ile en kısa kök uzunlukları ise 1/2 MS ve 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP yetiştirme ortamlarında görülmüştür.

Kök kalınlıkları açısından 1\2 MS + 0,02 mg\l NAA ve 1/2 MS + 0,02 mg\l NAA + 0,3 mg/l BAP yetiştirme ortamları ortalama 0,98 mm kök kalınlığı ile en yüksek değerleri gösterirken; MS + 0,01 mg\l NAA ve MS + 0,02 mg\l NAA yetiştirme ortamları en düşük ortalama kök kalınlığı değerlerini (0,67 mm ve 0,68 mm) vermişlerdir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

L.candidum L. ve *L. martagon* L zambak türlerinin *in vitro* çoğaltımı üzerine değişik yetiştirme ortamlarının çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranları ile bitkiciklerin morfolojik gelişimlerine olan etkisinin araştırılması amacıyla yapılan bu çalışmada, 8 farklı yetiştirme ortamı kullanılmıştır. Bu yetiştirme ortamlarında kültüre alınan türlerde 8 haftalık gelişim periyodu sonrası çimlenme, embriyo gelişimi ve köklenme oranlarının yanında 6 farklı morfolojik gelişme parametresi (Soğancık oluşumu, bitkicik boyu, yaprak sayısı, kök sayısı, kök uzunluğu ve kök kalınlığı) incelenmiştir.

Yapılan çalışmada çimlenme faktörü açısından yetiştirme ortamlarında *L. candidum* L.'dan daha iyi sonuçlar alınmıştır. Çimlenme yüzdelerine ait sonuçlar incelendiğinde *L. candidum* L. türünde en yüksek çimlenme oranının MS + 0,01 mg/l NAA (% 100.00) ortamından elde edildiği; en düşük çimlenme oranının ise 1/2 MS + 0,02 NAA + 0,2 BAP (% 85.33) yetiştirme ortamından alındığı görülmüştür. *L. martagon* L. türünde ise en yüksek çimlenme oranı 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA yetiştirme ortamından % 92.00 başarıyla elde edilirken; 1/2 MS (% 14.67) ve MS (Kontrol) (% 14.67) uygulamalarından bu bitki için en düşük çimlenme değerleri kaydedilmiştir.

Elde ettiğimiz çimlenme sonuçlarına benzer şekilde, Pelkonen (2005) yaptığı çalışmasında *L. candidum* L. var. *salonikae* türünde % 41.00 oranında çimlenme başarısı elde etmiştir. Aynı araştırmacı *L. martagon* L. türünde çimlenme oranını % 66.00 olarak tespit etmiştir. *L. auratum*' un embriyo kültüründe yapılan başka bir araştırmada ise 60 gün içerisinde % 100.00 oranında çimlenme başarısı elde edildiği belirtilmektedir (Furyuya ve Nomura 2004).

Glamoclija ve ark. (2010) sterilize edilmiş, tohum kabuğu alınmış ve endosperm kısmı çatlatılmış *L. martagon* L. var. *cattaniae* Vis. tohumlarını MS + 0,15 mg/l GA₃ yetiştirme ortamına ekmişlerdir. Uygulamadan 21 gün sonra % 100.00 çimlenme başarısı elde etmişlerdir.

Paric ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarında tohum kabuğu uzaklaştırılmış *L. bosniacum* tohumlarını MS + 0,15 mg/l GA₃ yetiştirme ortamına ekmişlerdir ve % 77.00 oranında çimlenme başarıları sağlamışlardır. Tohum kabuğu uzaklaştırılmayan materyallerden ise aynı başarı elde edilememiştir. Araştırmacılar, tohum kabuğu varlığının çimlenmeyi engellediğini ve tohum kabuğu varlığının tohum dinlenmesine sebep olduğunu belirtmişlerdir. Fiziksel engellerin yanı sıra, tohum yapılarının, tohumdaki dinlenmeye sebep olan bir fizyolojik kontrol sistemine sahip olduğu da kabul edilebilir. Yapılan bu çalışmalara ters düşecek şekilde, GA' in zambak bitkisinde çimlenmeye herhangi bir etkisinin olmadığı da bildirilmiştir (Pelkonen 2005).

Zambak türleri çimlenme tiplerine göre ikiye ayrılır: epigeal çimlenme ve hypogeal çimlenme. Epigeal çimlenme (hızlı çimlenme) toprak üstünde olur. Burada kotiledon tohumdan besinleri absorbe eder, hypocotil hızla uzar ve tohumun kalan kısmı (testa) uç kısmına yapışmış olarak birlikte toprak üstüne çıkar. Kotiledonlar toprak yüzüne çıktıktan sonra yeşil renk alır ve yaprak fonksiyonu görürler, fotosentez yapmaya başlarlar. Bu dönemde soğan önemsizdir daha sonra toprak üzerinde ilk gerçek yaprak görünür, bunu toprak altında soğanın büyümesi ve kökün uzaması takip eder (Gürsan 2005). Woodcock ve Stearn (1950), bildirdiğine göre; epigeal tohumlar, genellikle ekimden hemen sonra herhangi bir dinleme işareti göstermeden çimlenirler. Tohum büyür ve oluşan bitki dinlenme olmadan oluşur (Pelkonen 2005). *L. candidum* L. epigeal çimlenmeye sahiptir, çimlenme oranlarının yüksek olmasının sebebi olarak bu sonuç gösterilebilir.

Hypogeal çimlenme toprak altında olur. Bu şekilde bitkinin ilk şekil alan yaprakları (kotiledon) ve embriyo, tohumun bir parçası olarak toprak altında kalır. Embriyo etrafında tohumda depolanmış olan besin, ilk şekillenen yaprak (kotiledon) ve kök arasındaki gövde kısmına (hypocotil) transfer edilir. Burada çok küçük bir soğancık oluşur ve merkezinden ilk gerçek yaprak toprak üstüne çıkar. Bu tip çimlenmeye hypogeal çimlenme denir. Toprak üstünde ilk görülen gerçek yapraktır (Gürsan 2005). Hypogeal çimlenme epigeal çimlenmeye göre daha yavaş oluşur. Ayrıca, bazı türler birkaç hafta boyunca canlı kalmalarına rağmen çimlenemeyebilirler. Hypogeal çimlenme genellikle tohum soğuğa maruz bırakılarak dinlenmesi kırıldıktan sonra

kontrol edilebilir. Çimlenme boyunca kökçük uzar ancak kotiledon yaprak tohum içerisinde kalarak soğan oluşumu için besin sağlar, daha sonra soğan oluşur (Pelkonen 2005, http://files.srgc.net/archibald/genus/LILIUM_NOMOCHARIS_NOTHOLIRION_CARDIOCRINUM.pdf 2013). *L. martagon* L.'un hypogeal çimlenmeye sahip olması, araştırmamızda çimlenme oranlarının düşük çıkmasına bir sebep olarak gösterilebilir.

L. auratum embriyolarından hızlı ve etkin bir üretim yapılabilmesi için dinlenmenin bastırılması gerekmektedir. Hem olgun tohumlarda hem de çimlenmeden hemen sonra gelişen bitkiciklerde dinlenme görülmüştür. Olgunlaşmamış yumurtalık ve embriyoların in vitro kültürleri dinlenmeyi bastırmak için ideal yöntemlerdir. Tohum kabuğu ve endosperm çimlenme oranını etkileyen diğer faktörlerdir (Furyuya ve Nomura 2004).

Embriyo kültürü ile tohumlarda dinlenme aşıl原因 olarak üretim döngüsü kısaltılabilmektedir. Dinlenmeye içsel önleyiciler, ışık şartları, düşük sıcaklıklar, kuru muhafaza gereksinimleri ve embriyo olgunluğu sebep olabilir. Tohum dinlenmesi faktörleri tohum kabuğunda, endospermde veya her ikisinde birden olabilir. Embriyolar üzerindeki bu faktörlerin etkileri kaldırıldığında, embriyoların çimlenip büyüebilmeleri hızlanmakta ve üretim döngüsü kısalmaktadır (Sharma ve Gill 1983, Yeung ve ark. 1981, Bridgen 1994).

L. bosniacum ve *L. martagon* L. var. *cattaniae* Vis. türlerinde yapılan bir çalışmada; zambak türlerinin tohumlarının genellikle ağır dinlenmeye sahip olduğu belirtilmiştir. Tohum kabuklarının tohumdan uzaklaştırılmasının ve tohumları çatlatmanın çimlenmeye imkan sağladığı ve sonuçta tohum kabuğu varlığının bu türlerde dinlenmeyi oluşturduğu belirlenmiştir. Ancak türler arasında çimlenme oranı açısından fark bulunamamıştır (Paric ve ark. 2011).

Türler arasındaki embriyo gelişimlerine bakıldığında *L. candidum* L.' un ekildiği MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamından % 93.33'lük bir başarı sağlanmıştır. Aynı bitki embriyolarının 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP yetiştirme ortamında ekiminden % 50.67' lik bir değer elde edilmiştir ve bu değer *L. candidum* L. bitkisi için en düşük embriyo gelişim değeridir. *L. martagon* L.' da en yüksek embriyo gelişimi

oranı 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA ve 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA uygulamalarında % 40.00 olurken en düşük embriyo gelişim oranları MS (Kontrol) ve 1/2 MS uygulamalarından elde edilmiştir.

L. longiflorum 'Georgia' çeşidinde yapılan bir çalışmada soğan skaleleri eksplant kaynağı olarak kullanılmış ve BA miktarının etkileri incelenmiştir. Embriyo gelişim oranları kontrol uygulamasında % 92.30 olmuştur. 0,4 µM, 2,2 µM, 4,4 µM, 8,9 µM BA eklenmiş uygulamalardan ise % 100.00 çimlenme başarısı sağlanmıştır. 22,2 µM BA uygulaması ise % 61.50 oranında sonuç vermiştir (Han ve ark. 2004).

BAP ve NAA' in farklı kombinasyonlarda kullanıldığı bir araştırmada elde edilen embriyo gelişim oranlarının, yaptığımız çalışmayla benzer sonuçlar taşıdığı görülmüştür. Kaydedilen embriyo gelişim oranlarının 0,5 mg/l BAP – 0,5 mg/l NAA kullanımında % 67.96, 0,75 mg/l BAP – 0,5 mg/l NAA kullanımında % 82.62, 1 mg/l BAP – 0,5 mg/l NAA kullanımında % 75.98 olarak elde edildiği bildirilmiştir (Pandey ve ark. 2009).

Furyuya ve Nomura (2004) tarafından yapılan çalışmada, % 50'den fazla embriyo normal morfolojik gelişim gösterirken, çimlenen embriyoların bir kısmında gelişme bozuklukları ve anormal gelişmelerin olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu gelişme bozukluklarının tohumun olgunlaşmasına bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

L. candidum L. türünde köklenme oranı açısından elde edilen sonuçlar, 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA ve MS + 0,01 mg/l NAA uygulamalarında % 89.33 köklenme oranı ile en yüksek değerleri vermiştir. En düşük değerler BAP ilave edilmiş ortamlar (1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP - % 10.67; 1/2 MS + 0,02 NAA + 0,3 BAP % 9.33)'dan alınmıştır. *L. martagon* L. bitkisinin ekildiği 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA yetiştirme ortamından en yüksek sonuç % 38.67 olmuştur. MS kontrol (% 6.00), 1/2 MS + 0,02 NAA + 0,3 BAP (% 6.67), 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP ve 1/2 MS (% 8.00) sonuçları bu bitki için en düşük değerlerdir.

Köklenme ile ilgili yapılan bir çalışmada, *L. martagon* L. var. *cattaniae* Vis. zambak türünde bulunan köklenme oranları kontrol uygulamasında % 52.06 olarak kaydedilmiştir. BAP' in 0,1-0,2-0,5-1 ve 2 mg/l dozlarının kullanımında ise sırasıyla % 60.95, % 39.05, % 32.88, % 11.11 ve % 93.65 oranlarında köklenme sağlandığı belirtilmiştir (Skoric ve ark. 2012).

IBA' in köklenmeye olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 5 farklı çeşit melez zambak kullanılmıştır. Elde edilen köklenme yüzdeleri, *L. alaska*'da % 41.67, *L. apeldoorn*'da % 47.67, *L. beartix*'te % 43.00, *L. siberia*'da % 41.67, *L. marco polo*'da % 42.00 olarak bulunmuştur. IBA' in 0,5 mg/l ile 2 mg/l arasında değişen dozlarının kullanımı ise köklenmeyi arttırdığı görülmüştür (Kapoor ve ark. 2009).

L. ledebourii zambak türünde yapılan bir çalışmada, 3 hasat döneminde (ilkbahar, yaz, kış) alınan soğanlar kullanılmıştır. MS + 0,1 mg/l NAA + 0,1 mg/l BAP ortamına % 6 oranında şeker ilavesinin köklenme yüzdesini önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir (Azadi ve Khosh-Khui 2007).

Hindistan' da yapılan bir çalışmada Pandey ve ark. (2009) *Lilium* soğan skalelerini kültüre almışlardır. 4 hafta sonunda; 1/2 MS + 0,5 mg/l NAA uygulamasından % 35.98 oranında köklenme başarısı elde etmişlerdir. 1/2 MS + 1,0 mg/l NAA uygulaması % 38.64 oranında köklenme başarısı sağlarken bu oran 1/2 MS + 1,5 mg/l NAA yetiştirme ortamında % 34.64 olarak belirlenmiştir. MS + 0,5 NAA uygulamasından elde edilen sonuçlar % 61.30 köklenme oranını göstermiştir. MS + 1,0 mg/l NAA yetiştirme ortamına ekilen soğan skaleleri % 97.32 oranında köklenme başarısıyla en yüksek değeri verirken MS + 1,5 mg/l NAA yetiştirme ortamından elde edilen köklenme oranı % 90.62 olarak kaydedilmiştir.

Soğancık oluşumu açısından türler ve uygulamalar incelendiğinde, *L. candidum* L. türünde en yüksek soğancık oluşumunun 2,06 adet ile 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP yetiştirme ortamından elde edildiği görülmüştür. 0,3 mg/l BAP eklenmiş yetiştirme ortamından elde edilen 1,11 adet ortalama soğancık sayısı değeri ise en düşük değer olmuştur. *L. martagon* L.' da bitki başına düşen ortalama soğancık sayısı değeri

MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamına ekilen embriyolarda en yüksek sonucu vermiştir (bitki başına ortalama 3,25 adet soğancık). Bu değeri bitki başına 2,26 adet soğancık oluşumu ile MS + 0,02 mg/l NAA uygulaması izlemiştir. Bunu takiben *L. martagon* L. bitki embriyolarının 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA uygulamasına ekimlerinden ise bitki başına ortalama soğancık sayısının 1,83 adet olduğu görülmüştür. *L. martagon* L. bitki embriyolarının MS (Kontrol) uygulamasına ekimlerinden ise bitki başına 1,23 adet ortalama soğancık oluşumu elde edilmiştir. BAP eklenmiş yetiştirme ortamlarından ise herhangi bir soğancığın oluşmadığı aynı çizelgede görülmektedir.

Kapoor ve ark. (2009) yaptıkları çalışmalarında NAA ve BA büyüme düzenleyicilerini farklı dozlarda denemişlerdir. Denemelerin sonucunda NAA ve BA eklenmemiş MS yetiştirme ortamına ekilen boğum eksplantlarından herhangi bir soğancık oluşumu elde edememişlerdir. 1 mg/l NAA eklenmiş uygulamada elde edilen değerler ortalama 2,33 adet ile 1 adet arasında değişkenlik göstermiştir (*L. alaska* - *L. siberia*). NAA dozunun 2 mg/l olması durumunda sonuçlanan değerlerin ortalama 2 adet ile 1,66 adet arasında olduğu kaydedilmiştir (*L. marco polo* – *L. alaska*, *L. apeldoorn*, *L. beartix*, *L. siberia*). 1,5 mg/l BA uygulaması ile elde edilen değerler bitki başına ortalama 2 adet ile 1,33 adet arasında; 2 mg/l BA uygulaması ile elde edilen değerler bitki başına ortalama 3,33 adet ile 1,69 arasında değişiklik göstermiştir. NAA ile BA büyümeyi düzenleyicilerinin beraber kullanılmaları durumunda elde edilen bitki başına ortalama soğancık değerleri en yüksek 4 adet (*L. beartix*, *L. alaska*) olmuştur (2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BA, 2 mg/l NAA + 2 mg/l BA). En düşük değer ise bitki başına ortalama 1,66 adet soğancık oluşumu ile (*L. siberia*) 1 mg/l NAA + 2 mg/l BA uygulamasında görülmüştür.

Sırbistan’da yapılan bir çalışmada 0,1 mg/l NAA varlığında farklı dozdaki BAP uygulamalarının bitki başına ortalama soğancık değerlerini şu şekilde arttırmıştır: Kontrol % 56.51 ± 11.76; 0,1 mg/l BAP % 76.82 ± 6.52; 0,2 mg/l BAP % 77.78 ± 6.88; 0,5 mg/l BAP % 80.63 ± 7.39; 1 mg/l BAP % 71.43 ± 6.49; 2 mg/l BAP % 82.22 ± 5.55. 0,2 mg/l BAP varlığında IAA’ in farklı dozlarının kullanılması durumunda bitki başına soğancık oluşumunun 5 adete kadar çıkabildiği aynı çalışmada belirtilmiştir (Skoric ve ark. 2012). Wawrosch (2001) BAP ve IAA kombinasyonlarının *L. nepalense* ve *L. longiflorum* (Han ve ark. 2004) için etkili olduğunu belirtmişlerdir. MS yetiştirme

ortamının 0,75 mg/l Kin ve 0,5 mg/l NAA ile desteklenmesinin yüzde olarak soğancık gelişimini arttırmıştır. En yüksek değer bitki başına ortalama 7,2 adet soğancık olarak belirlenmiştir (Pandey ve ark. 2009, Nhut 2006). Niimi (1985) 0,1 mg/l BA ve 0,1 mg/l NAA' in *L. rubellum*'da önemli bir etki göstermediğini belirtmiştir. Jeong (1996) belirttiğine göre ise; BA ilavesi olmadan 0,01 mg/l 'den fazla NAA kullanımı ile bitki başına ortalama soğancık üretimi azalmıştır.

L. regale, *L. martagon* L., *L. bulbiflorum*, *L. canadense* ve *L. philadelphicum* bitkilerinde soğan skale eksplantlarının GA ve paclobutrazol ilave edilmiş MS kültür ortamına ekilmesi sonucu elde edilen ortalama soğancık oluşumu değerleri sırasıyla; kontrol uygulaması 3,4 adet, 1,7 adet, 3,0 adet, 1,8 adet, 4,7 adet olarak bulunmuştur. GA eklenmesiyle beraber elde edilen ortalama soğancık oluşumu değerleri sırasıyla; 3,8 adet, 1,0 adet, 4,0 adet, 1,2 adet, 4,6 adet olarak kaydedilmiştir. Paclobutrazol uygulamasında kaydedilen ortalama soğancık oluşumu değerleri ise sırasıyla; 1,0 adet, 1,3 adet, 1,0 adet, 0,8 adet, 3,4 adet olarak görülmüştür (Pelkonen 2005).

Bitkicik boyu sonuçlarında *L. candidum* L. bitkisinin ekildiği ortamlardan *L. martagon* L. bitkisine göre daha olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu gözlemlerde MS + 0,01 mg/l NAA ortamına ekilen *L. candidum* L. embriyolarında 66,20 mm'lik bitki boyu ortalaması ile en yüksek değer elde edilmiştir. En kısa bitkicik boyu değeri bu bitki için 25,07 mm olmuştur. *L. martagon* L. embriyolarından elde edilen bitkiciklerde en yüksek 22,21 mm olarak gözlemlenirken en düşük değer 7,11 mm olarak kaydedilmiştir.

Takayama ve Misawa (1982), Maesato ve ark. (1994) belirttiğine göre; BA embriyo oluşumunda belirgin etkiye sebep olması nedeniyle bilimsel çalışmalarda önemli derecede kullanılmaktadır. Bitki boyu değerleri *L. longiflorum* 'Georgia' çeşidinde yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar vermiştir. 6 hafta sonunda ortalama bitki boyu değerleri kontrol uygulamasında 2,6 cm; 0,4 µM uygulamasında 2,9 cm; 2,2 µM uygulamasında 2,3 cm; 4,4 µM uygulamasında 1,6 cm; 8,9 µM uygulamasında 1,1 cm; 22,2 µM uygulamasında 0,7 cm olarak kaydedilmiştir (Han ve ark. 2004).

Yapılan çalışmada bitkicik başına düşen yaprak sayısı açısından uygulamalar olumlu sonuç vermiş; *L. candidum* L. türünde en yüksek değer 1,65 adet yaprak olmuştur. *L. martagon* L. türünden ise en yüksek değer MS + 0,02 mg/l NAA yetiştirme ortamına ekilen embriyolardan bitkicik başına 2,77 adet yaprak ile elde edilmiş; bu bitki için en düşük değer ise 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA yetiştirme ortamına ekilmiş embriyolardan elde edilmiştir.

L. regale, *L. martagon* L., *L. bulbiflorum*, *L. canadense* ve *L. philadelphicum* bitkilerinde soğan skale eksplantlarının GA ve paclobutrazol ilave edilmiş MS kültür ortamına ekilmesi sonucu elde edilen bitki başına ortalama yaprak oluşumu değerleri sırasıyla: kontrol uygulaması 4,8 adet, 1,1 adet, 5,0 adet, 2,8 adet, 90,5 adet olarak bulunmuştur. GA eklenmesi sonucu bitki başına ortalama yaprak oluşumu değerleri sırasıyla; 6,1 adet, 0,5 adet, 6,0 adet, 2,1 adet, 87,3 adet olarak kaydedilmiştir. Paclobutrazol uygulamasında görülen değerler sırasıyla; 0,3 adet, 0,4 adet, 0,0 adet, 0,0 adet, 11,0 adet olarak görülmüştür (Pelkonen 2005).

Bitki başına düşen kök sayısı ortalaması *L. candidum* L. türünün ekildiği 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA yetiştirme ortamında en yüksek (6,05 adet/bitki) olmuştur. Aynı türün 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP yetiştirme ortamına ekiminde ise en düşük değer (1,00 adet/bitki) elde edilmiştir. *L. martagon* L. türünde 1/2 MS uygulaması ortalama kök sayısı verileri 2,50 adet ile en yüksek değeri göstermiştir. Diğer uygulamalarda kök sayısı düşük bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada, büyümeyi düzenleyici uygulaması olmaması durumunda *L. nepalense* bitkisinin kök oluşumu göstermediğini belirtmişleridir (Azadi ve Khosh-Khui 2007). Ancak *L. longiflorum* 'da ortama eklenen NAA büyümeyi düzenleyicisinin kök sayısını olumlu derecede arttırdığı belirtilmiştir. Aktif kömür ve NAA etkilerinin araştırıldığı çalışmada, kök sayısı değeri 1/2 MS ortamında ortalama 2,7 adet olarak bulunmuştur. 1/2 MS + 1 g/l aktif kömür varlığında kök sayısı ortalaması 2,9 adet olurken; 1/2 MS + 1,1 µM NAA uygulamasında ortalama 4,7 adet olarak elde edilmiştir. 1/2 MS + 2,7 µM NAA yetiştirme ortamında ise ortalama 4,2 adet kök sayısı kaydedilmiştir (Nhut 1998). Ortama % 6 oranında şeker ilavesi ile elde edilen kök sayısı

değerlerinde önemli bir artış görüldüğü belirtilmiştir (Azadi ve Khosh-Khui 2007). 1/2 MS + 0,2 mg/l NAA uygulamasının en yüksek kök sayısı değerini verdiği, en düşük kök sayısı değerinin ise MS uygulamasından elde edildiği görülmüştür (Nhut ve ark. 2006).

Kök uzunluğu bakımından elde edilen veriler *L. candidum* L. embriyolarının ekildiği 1\2 MS + 0,01 mg/l NAA, 1\2 MS + 0,02 mg/l NAA, MS + 0,01 mg/l NAA, MS + 0,02 mg/l NAA, 1\2 MS ve MS (Kontrol) yetiştirme ortamlarında en yüksek değerleri verirken; BAP eklenmiş yetiştirme ortamları en düşük kök uzunluğu değerlerini göstermiştir. *L. martagon* L embriyolarının ekildiği 1\2 MS + 0,01 mg/l NAA + 0,2 mg/l BAP yetiştirme ortamı en yüksek değeri göstermiştir. Elde edilen ortalama kök uzunluğu değerleri bu bitki için 11,10 mm ile 4,30 mm aralığında olmuştur.

Zambkatta 1/2 MS ve MS yetiştirme ortamlarına farklı dozlarda NAA ilavesi üzerine yapılan bir çalışmada 1/2 MS + 0,5 mg/l NAA uygulaması ortalama 0,38 cm ortalama kök uzunluğu değeri vermiştir. 1/2 MS + 1,0 mg/l NAA yetiştirme ortamından elde edilen kök uzunluğu değeri ortalama 0,50 cm olurken 1/2 MS + 1,5 mg/l NAA uygulamasından ortalama 0,38 cm kök uzunluğu değeri bulunmuştur. MS + 0,5 mg/l NAA yetiştirme ortamına ekilen soğan skalelerinden elde edilen ortalama kök uzunluğu değeri 0,88 cm olarak belirlenirken bu değer MS + 1,0 mg/l NAA yetiştirme ortamında ortalama 1,66 cm olmuştur. MS + 1,5 mg/l NAA uygulaması ise ortalama 1,06 cm' lik kök uzunluğu değeri vermiştir (Pandey ve ark. 2009).

0,2 mg/l IBA ile desteklenmiş MS ortamına ekilen *L. bosniacum* soğan eksplantlarından sağlıklı gelişen sürgünler ilk kök oluşumunu 5 gün sonra göstermiştir. Daha önceki alt kültürde ortama eklenen sitokinin çeşidine bağlı olarak kök uzunluğunun önemli ölçüde arttığı kaydedilmiştir. Bununla birlikte, BA ile desteklenen MS ortamında bitki başına daha yüksek kök sayısı değeri elde edilirken TDZ ilave edilmiş MS ortamından en yüksek kök uzunluğu değerleri sağlanmıştır (Paric ve ark. 2011).

L. ledebourii bitkisinde yapılan bir çalışmada, kış döneminde hasat edilen soğanlardan elde edilen soğan eksplantları *in vitro* kültüre alınmıştır. Farklı şeker oranlarının

kullanıldığı araştırmada, ortamda % 3 şeker varlığında ortalama kök uzunluğu değeri 10,98 mm olarak kaydedilmiştir. % 6 şeker ilavesinde ortalama kök uzunluğunun 19,28 mm olduğu görülmüş, ortamda % 9 şeker varlığında ise ortalama kök uzunluğu değeri 17,68 mm olarak kaydedilmiştir. NAA ve BA büyümeyi düzenleyicilerinin ortama aynı oranda eklenmeleri sonucu (0,1 mg/l) elde edilen kök uzunluğu değerleri % 3 şeker varlığında ortalama 12,39 mm; % 6 şeker varlığında ortalama 23,64 mm; % 9 şeker varlığında ortalama 22,61 mm olarak belirlenmiştir. NAA ve BA dozlarının 0,5 mg/l çıkarılması sonucu ise % 3 şeker varlığında kök uzunluğu ortalaması 7,36 mm; % 6 şeker varlığında kök uzunluğu ortalaması 24,27 mm; % 9 şeker varlığında kök uzunluğu ortalaması 23,14 mm olarak bulunmuştur. Ortama % 6 şeker ilavesinin 3 hasat döneminde de kök uzunluğunu arttırdığı ancak yüzde olarak soğan oluşumu, bitki başına soğancık sayısı ve bitki başına oluşan soğancık ağırlığına herhangi bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Azadi ve Khosh-Khui 2007).

Nhut ve ark. (2006) Vietnam’ da yaptıkları çalışmalarında, 1/2 MS + 0,2 mg/l NAA yetiştirme ortamından en yüksek ortalama kök uzunluğu değerini elde etmişlerdir (60,7 mm). En düşük kök uzunluğu değeri ise ortalama 38,7 mm ile 1/2 MS + 1 g/l aktif kömür uygulamasından elde edilmiştir.

Kök kalınlıkları değerleri her iki tür için de önemli bulunmuştur ve *L. candidum* L. türünde 1,30 mm ile 0,57 mm aralıklarında oluşmuştur. *L. martagon* L. embriyolarının ekildiği 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA ve 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA + 0,3 mg/l BAP yetiştirme ortamları 0,98 mm kök kalınlıkları ile en yüksek değerleri verirken; 1/2 MS yetiştirme ortamı 0,67 mm kök kalınlığı ile bu bitki için en son sırada yer almıştır.

Iran’ da yapılan bir çalışmada *L. tresor* çeşidi ile çalışılmış ve kalsiyum kullanımının *Lilium*’ da kök kalınlığını olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir (Seyidi ve ark. 2013).

Sonuç olarak; zambak bitkisinde embriyo kültür yöntemi çalışılmak istendiğinde; embriyoların, *L. candidum* L. türünde MS + 0,01 mg/l NAA ve *L.martagon* L. türünde 1/2 MS + 0,01 mg/l NAA ve 1/2 MS + 0,02 mg/l NAA yetiştirme ortamlarına ekimi önerilebilir. Ancak, *L.martagon* L. türünde çimlenme başarısının arttırılmasına yönelik

olarak, embriyoların alınmadan önce tohumların düşük sıcaklıklarda bekletilmesi veya yetiştirme ortamına GA₃ ilavesi gibi çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Allahverdikhhan Vaziri, P., Derelli, E., Uranbey, S. 2012.** Geofitlerde in vitro mikroçoğaltım. Tıbbi ve aromatik bitkiler sempozyumu, 13-15 Eylül 2012, Tokat
- Anonim, 2005.** T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Antalya İl Müdürlüğü Kayıtları, Antalya.
- Anonim, 2007.** Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara.
- Anonim, 2013.** Phytotechnology laboratories, inc. product information sheet. <http://www.phytotechlab.com/pdf/LilyMultiplicationKit.pdf>-(Erişim tarihi 04 Ekim 2013).
- Anonim, 2013.** Zambak (*Lilium*). <http://hobibahcemiz.net/viewtopic.php?f=114&t=156> (Erişim tarihi: 04 Ekim 2013).
- Anonim, 2013.** *Lilium, nomocharis, notholirion and cardiocrinum*. http://files.srgc.net/archibald/genus/LILIUM_NOMOCHARIS_NOTHOLIRION_CARDIOCRINUM.pdf-(Erişim tarihi: 04 Ekim 2013).
- Arslan, N., 1998.** Türkiye’de Doğal Çiçek Soğanlarının Potansiyeli ve Geleceği. Türkiye I. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, 6-9 Ekim 1998, Yalova.
- Arzate-Fernandez, A.M., Miwa, M., Shimada, T., Yonekura, T., Ogawa, K. 2007.** In vitro propagation of miyamasukashi-yuri (*Lilium maculatum* thunb. var. *bukosanense*), an endangered plant species. *Rev. Fitotec. Mex*, 30(4): 373-379.
- Asil, H., Sarıhan, E.O., 2010.** Türkiye’de Doğal Çiçek Soğanları Üretimi, Değerlendirilmesi ve Ticareti. Türkiye IV. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, 20-22 Ekim 2010, Mersin.
- Azadi, P., Khosh-Khui, M. 2007.** Micropropagation of *Lilium ledebourii* (baker) boiss as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(4).
- Baboğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. 2001.** Bitki Biyoteknolojisi Doku kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 374 s.
- Bajaj, Y.P.S. 1990.** Wide Hybridization in Legumes and Oilseed Crops Through Embryo, Ovule and Ovary Culture. In. Bajaj Y. P. S. *Biotechnology in agriculture and forestry*, Vol 10, Legumes and Oilseed Crops I. (Ed. by Y.P.S. Bajaj), Springer, Berlin Heidelberg, pp: 3-37.
- Başal, H., 2002.** Gossypollu bitki gossypolsuz tohum özelliğinin kültürü yapılan pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) türlerine aktarılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7(1-2): 45-50.

Bhojwani, S.S., Razdan, M.K. 1996. Plant tissue culture: Theory and Practise, a Revised Edition. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands, 749 pp.

Bridgen, M.P., 1994. A review of plant embryo culture. Hortscience, Vol. 29(11).

Brown, D.C.W., Thorpe, T.A. 1995. Crop improvement through tissue culture. *World Journal of Microbiology & Biotechnology Vol II*, 11: 409-415.

Buschman, J.C.M. 2004. Production of bulbs and bulb cut flowers in the world present and future. 9 th International Symposium on Flower Bulbs, 19-22 April 2004, Niigata, Japan.

Bürün, B., Gürel, A. 2002. Embriyo kültürü: Bitki biyoteknolojisi doku kültür ve uygulamaları, Editörler: Baboğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 324-342.

Collin, H.A., Edwards, H.S. 1998. Plant Cell Culture. BIOS scientific publisher, 158 pp.

Çağlayan, K., Özavcı, A., Eskalen, A. 1998. Doğu akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetişen bazı salep orkidelerinin embriyo kültürü kullanılarak *in vitro* çoğaltılmaları. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, Tübitak, 22: 187-191.

Çapan, S. 2006. *Cucurbita pepo* L. (kabak) bitkisi embriyo kültürlerinde kromozom sayısı ve mitoz aktivitesinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, TÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Edirne.

Dal, B., Karagüzel, Ö., Aydınşakir, K., 2010. Zambak (*Lilium longiflorum* “Magic Blanc”) çeşidinde farklı depolama sürelerinin erkencilik, çiçeklenme özellikleri ve soğan gelişimine etkileri. IV. Süs Bitkileri Kongresi, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, 20-22 Ekim 2010, Erdemli, Mersin.

De Hertogh, A., Le Nard, M., 1993. The Physiology of Flower Bulbs: A Comprehensive Treatise on the Physiology and Utilization of Ornamental Flowering Bulbous and Tuberous Plants. Elsevier Science Publishers, Netherlands, 812 pp.

Drew, R.A., 1997. The Application of Biotechnology to the Conservation and Improvement of Tropical and Subtropical Fruit Species. Seed and Plant Genetic Resources Service Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.

<http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/PGR/PubPGR/drew1.htm> (Erişim Tarihi: 04 Ekim 2013).

Emiroğlu, Ü., Gürel, A. 1993. Modern Biotechnology in Plant Breeding. The Biotechnology Revolution, Short Course, Organised By Ege Univ. Biotechnology Centre and Faculty of Agriculture, Department of Crop Science, February 8-12, Bornova, İzmir.

Emsweller, S.L., Stuart N.W., 1948. Use of growth regulating substances to overcome incompatibilities in *Lilium*. *American Society for Horticultural Science*, 51: 581-589.

Furyuya, T., Nomura, K., 2004. Rapid Production of *Lilium auratum* Bulbs from Zygotic Embryos. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 12: 39-42.

Glamoclija, U., Haveric, S., Cakar, J., Rahmanovic, A., Marjanovic, D. 2010. *In vitro* propagation of *Lilium martagon* L. var. *cattaniae* vis. and evaluation of genotoxic potential of its leaves and bulbs extracts. *Acta Biologica Slovenica*, 53(2): 53-60.

Godó, T., Kobayashi, K., Tagami, T., Matsui, K., Kida T. 1998. *In vitro* propagation utilizing suspension cultures of meristematic nodular cell clumps and chromosome stability of *Lilium x formolongi* hort. *Scientia Horticulturae*, 72-1998:193–202.

Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh, 680 pp.

Gürsan, K. 2005. Bazı Kesme Çiçeklerin Yetiştirme Teknikleri. Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü. Yalova.

Han, B.H., Yu, H.J., Yae, B.W., Peak, K.Y. 2004. *In vitro* micropropagation of *Lilium longiflorum* ‘Georgia’ by shoot formation as influenced by addition of liquid medium. *Scientia Horticulturae*, 103: 39-49.

Han, B.H., Yae, B.W., Yu, H.J., Peak, K.Y. 2005. Improvement of *in vitro* micropropagation of *Lilium* oriental hybrid ‘Casablanca’ by the formation of shoots with abnormally swollen basal plates. *Scientia Horticulturae*, 103: 351-359.

Hatipoğlu, R. 1993. Biyoteknolojiye giriş, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakùltesi, Ders Kitabı, No: 129.

Hatipoğlu, R., 2001. Bitki Biyoteknolojisi, Çukurova Üniversitesi Genel Yayın No: 190, Ders Kitapları Yayın No: A-58.

Jakobsone, G., Grants, G. 2008. The embryogenesis and development of newly obtained interspecific lily hybrids *in vitro*. *Acta Universitatis Latviensis*, 745: 37-41.

Jeong, J.H. 1996. *In vitro* propagation of bulb scale section of several Korean native lilies. *Acta Horticulturae*, 414: 269-276.

Kalyoncu, D. 2007. Bazı yabancı *Tulipa* türlerinde *In Vitro* soğancık üretimi ve tarla şartlarına adaptasyonu. *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.

Kapoor, R., Kumar, S., Kanwar, J.K. 2009. Bulblet production from node explant grown *in vitro* in hybrid lilies. *International Journal of Plant Production*, 3(4): 1-6.

Karaca, Ö., Bürün, B., 1999. Buğdayda Embriyo Kültüründen Kallus Oluşumu. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, Tübitak, Ek Sayı 2, 23: 269-274.

Karaoğlu, C. 2010. Soğanlı bitkiler ve in vitro hızlı çoğaltım. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19(1-2): 24-29.

Kazaz, S., Karagüzel, Ö., Kaya, A.S., Aydınşakir, K., Erken, K., Erken, S., Gülbağ, F., Zeybekoğlu, E., Haspolat, G., Hocagil, M., Saraç, Y.İ., Bozdoğan, E., Altun, B., Aslay, M., Rastgeldi, U., 2013. Türkiye Kesme Çiçek Sektörünün Ürün Desenlerine Göre İller ve Bölgeler Düzeyindeki Durumu. V. Süs Bitkileri Kongresi, 06-09 Mayıs 2013, Yalova.

Kocaçalışkan, İ., 2003. Bitki kültürleri (Organ, Doku ve Hücre). DPÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya, 136 sayfa.

Korkut, A.B., 2004. Çiçekçilik. Hasat Yayıncılık Ltd Şirketi, ISBN 975-8377-28-0, İstanbul, 222 s.

Kurt, O., 2001. Bitki Islahı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı Yayın No: 43.

Kurt, O., Gülümser, A., 1998. Bitki Islahında Hücre ve Doku Kültürlerinin Kullanılması. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 13 (2) : 173-185.

Kurt, O., Şavşatlı, Y., 2005. Bitkisel Biyoteknolojiye Genel Bir Bakış. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(3): 126-133.

Lim, K.B., Van Tyul, J.M. 2006. Lily. Flower Breeding and Genetics, Associate Professor Neil O. Anderson: Anderson, N.O., Springer, Netherlands, 517-537.

Liu, X., Diao, Y., Zhang, Y., Lu, Y. 2012. In vitro micro-propagation of longiflorum-asiatic (la) hybrids lily (*Lilium*) cultivar ‘eyeliner’, *African Journal of Biotechnology*, 11(70): 13506-13517.

Mimaki, Y., Satou, T., Kuroda, M., Sashida, Y., Hatakeyama, Y., 1999. Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium candidum*. Elsevier Science Publishers, 51(4): 567-573.

Nasırcılar, A.G., Karagüzel, Ö. 2006. *Galanthus elwesii* hook. f. bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarından in vitro soğan üretimi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(2): 159-164.

Niimi, Y. 1985. Factors affecting the regeneration and growth of bulblets in bulb-scale cultures of *Lilium rubellum* Baker. *J. Jpn. Sci. Horticult. Sci.*, 54: 82-86.

Niimi, Y. 1995. In Vitro Propagation and Post inVitro Establishment of Bulblets of *Lilium japonicum* Thunb. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 63(4):843-852.

Nhut, D. T., 1998. Micropropagation of lily (*Lilium longiflorum*) via *in vitro* stem node and pseudo-bulb culture. *Plant Cell Reports*, 17: 913–916.

Nhut, D.T., Tam, N.T.D., Luan, V.Q., Thien, N.Q., Minh, N.T., Du, T.X., Le, B.V. 2006. Standardization of *in vitro* lily (*Lilium* spp.) Plantlets For propagation and bulb formation. Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture, October 20-21 2006, Nong Lam University Ho Chi Minh City, Vietnam.

Özel, A., Erden, K., 2010. İhraç edilen bazı geofitlerin pazarlanabilir soğan üretme kapasiteleri ve bazı bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. *Harran Üni. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(2): 90-99.

Pandey, R.K., Singh, A.K., Sharma, M. 2009. In vitro propagation of *Lilium*. *Biological Forum, An International Journal*, 1(2): 26-28

Paric, A., Cakar, J., Muratovic, E., Karalija, E. 2011. Induction of bulblets on leaf and bulb explants of endangered *Lilium bosniacum* (G. Beck) G. Beck ex Fritsch. *Botanica Serbica*, 35(1): 31-35.

Pierik, R.L.M., 1989. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands, 321 pp.

Pelkonen, V.P. 2005. Biotechnological approaches in lily (*Lilium*) production. Ph.D. Thesis, Faculty of Science, Department of Biology, University of Oulu, Finland.

Raghavan, V. 1980. Embryo culture: Plant cell and tissue culture, Ed: Vasil I.K., Thorpe, T.A., Newyork, pp: 209-236.

Rangan, T.S., 1984. Culture of ovules: Cell culture and somatic cell genetics of plants, vol. 1. Laboratory procedures and their applications, Ed: Vasil I.K., New York, pp. 227–231.

Rees, A.R., 1992. Ornamental Bulbs, Corms and Tubers, C.A.B International, 220 pp.

Robb, S., 1957. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thunb., *Oxford journals*, 8: 348-352.

Rossi, R. 1989. Simon & Schuster's Guide To Bulbs Edited by Stanley Schuler, Guide Nature Series, Tokyo, 256 pp.

Saygılı, L. 2012. *Lilium* yetiştiriciliğinde farklı agregatların ve besin solusyonlarının kullanım olanakları. *Yüksek Lisans Tezi*, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Aydın.

Seyidi, N., Mohammadi Torkashvand, A., Allahyari, M.S. 2013. Investigating of the effects of calcium concentration under hydroponic conditions on quantitative and qualitative growth of *Lilium* ‘tresor’. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 3(1): 19-24,

Seyidoğlu, N., 2009. Bazı Doğal Geofitlerin Peyzaj Düzenlemelerinde Kullanımı ve Üretimi Üzerine Araştırmalar. *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, İstanbul.

Sharma, H.C., Gill, B.S., 1983. New hybrids between *Agropyron* and wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 66(2): 111-121.

Skoric, M., Zivkovic, S., Savic, J., Siler, B., Sabovljevic, A., Todorovic, S., Grubisic, D. 2012. Efficient one-step tissue culture protocol for propagation of endemic plant, *Lilium martagon* L. var. *cattaniae* vis. *African Journal of Biotechnology*, 11(8): 1862-1867.

Stebbins G.L., 1958. The inviability, weakness, and sterility of interspecific hybrids. *Adv. Genet*, 9: 147-215.

Sheridan, W.F., 1968. Tissue culture of the monocot *Lilium*, *Planta* 82: 189-192.

Simmonds, J.A., Cumming, B.G., 1976. Propagation of *Lilium* hybrids. II. Production of plantlets from bulb scale callus cultures for increased propagation rates. *Science Horticulturae*, 5: 161-170.

Stimart, D.P., Ascher, P.D., 1978. Tissue culture of bulb scale sections for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb., *American Society for Hortucultural Science* 103: 182-184.

Ulus, A., Seyidoğlu, N., 2004. Bazı doğal geofitlerin doku kültürü ile üretimi. *İstanbul Üni. Orman Fakültesi Dergisi*, 56(9).

Uysal, H., Seyis, F., Kurt, O. 2006. Tarla bitkilerinde melezleme bariyerlerinin aşılmasında alternatif bir yöntem: embriyo kültürü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1): 116-122.

Van Tuyl, J.M., Straathof, T.P., Bino, R.J., Kwakkenbos, A.A.M., 1988. Effect of three pollination methods on embryo development and seedset in intra-and interspecific crosses between seven *Lilium* species. *Plant Reproduction*, 1: 119-123

Van Tuyl, J.M., Van Dien, M.P., Van Creij, M.G.M., Van Kleinwee T.C.M., Franken, J., Bino, R.J. 1991. Application of in vitro pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses. *Plant Science*, 74: 115-126.

Van Tuyl, J.M., De Jeu, M.J., 1997. Methods for overcoming interspecific crossing barriers: Ed: Sawney, V.K., Shivanna, K.R., Pollen biotechnology for crop production and improvement, Chapter 13, Cambridge University Press, New York, USA, pp: 273-293.

Woodcock, H.B.D., Stearn W.T., 1950. Lilies of the World. First Edition Country Life Ltd, London, 431 pp.

Yeung, E.C., Thorpe, T.A., Jensen, C.J., 1981. In vitro fertilization and embryo culture: Plant tissue culture Methods and applications in agriculture, Ed: Thorpe T.A., New York, pp: 253–271.

Zencirkıran, M., 2002. Geofitler. Uludağ Rotary Derneği Yayınları, No: 1, Harman Ofset İstanbul, 105 s.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Doğan GÜRSAN

Doğum Yeri ve Tarihi : Yalova/ 24.03.1986

Eğitim Durumu

Lise : Şehit Osman Altinkuyu Anadolu Lisesi /2004

Lisans : U.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Makineleri Bölümü / 2010

İletişim (e-posta) : dgursan@hotmail.com

Yayınları

Gürsan, K., Erken, K., Gürsan, D., 2010. Türkiye Süs Bitkileri sektöründeki Gelişmeler 2000-2010, IV. Süs Bitkileri Kongresi, 20-22 Ekim 2010 Erdemli/Mersin.

