

1-1-1999

## The Micropropagation of Snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker.): Effects of Different Explant Types, Carbonhydrat Sources and Doses and pH Changes in the Medium on the Bulblet Formation

RUKİYE TIPIRDAMAZ

ŞEBNEM ELLİALTIOĞLU

HÜSNÜ ÇAKIRLAR

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture>



Part of the [Agriculture Commons](#), and the [Forest Sciences Commons](#)

### Recommended Citation

TIPIRDAMAZ, RUKİYE; ELLİALTIOĞLU, ŞEBNEM; and ÇAKIRLAR, HÜSNÜ (1999) "The Micropropagation of Snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker.): Effects of Different Explant Types, Carbonhydrat Sources and Doses and pH Changes in the Medium on the Bulblet Formation," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol. 23: No. 10, Article 7. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol23/iss10/7>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Agriculture and Forestry by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact [academic.publications@tubitak.gov.tr](mailto:academic.publications@tubitak.gov.tr).

# Kardelenin (*Galanthus ikariae* Baker.) Doku Kültürü Yoluyla Çoğaltımı: Eksplant Tipi, Ortam pH'sı ve Karbonhidrat Kaynağının Soğancık Oluşumuna Etkisi\*

Rukiye TIPIRDAMAZ

Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara-TÜRKİYE

Şebnem ELLİALTIOĞLU

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Hüsnü ÇAKIRLAR

Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 31.10.1997

**Özet:** *Galanthus ikariae*'nin doku kültürü yöntemiyle çoğaltılması için en uygun eksplant tipi, ortam pH'sı ve karbonhidrat cinsi ile dozunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Eksplant tipi olarak değişik şekillerde hazırlanan soğan dokuları (soğan parçası ve soğan pul yaprakları) kullanılmıştır. Besin ortamına katılan farklı şeker cinsi (sakkaroz, glukoz, maltoz, laktöz ve fruktoz) ve dozlarının (%2, 3 ve 6), ortam pH değişimlerinin adventif soğancık oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Bazal dokuya sahip soğan parçaları ve soğan pul yapraklarının *G. ikariae*'nin doku kültürüyle çoğaltılmasında uygun eksplant tipleri olduğu ortaya konmuştur. En uygun ortam pH'sı, 5.5 olarak belirlenmiştir. %6 oranında kullanılan sakkaroz, en yüksek soğancık oluşumunu sağlamıştır.

## The Micropropagation of Snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker.): Effects of Different Explant Types, Carbonhydrat Sources and Doses and pH Changes in the Medium on the Bulblet Formation

**Abstract:** The most suitable explant type, carbonhydrat source and doses, pH level for the *in vitro* propagation of *G. ikariae* Baker. were determined. Bulb tissues prepared differently (bulb tissue segments and individual or twin bulb scales) were used as explants. The effects of different kinds (saccharose, glucose, fructose, malthose and lactose) and doses (2, 3, 6%) added to nutrient medium and pH changes in the medium were examined on bulblet formation.

Bulb tissue segments and individual or twin bulb scales were productive in bulblet formation. The most suitable pH level was determined as 5.5. 6 % saccharose led to the formation of highest number of bulblets.

## Giriş

Ülkemiz, geofit adı altında toplanan soğanlı, rizomlu, yumrulu bitki türleri açısından çok zengindir. Doğal çiçek soğanları bakımından zengin olan yurdumuzdan çoğu Avrupa ülkeleri ile, az olarak ABD ve Japonya'ya ihracat yapılmaktadır. Kardelen (*Galanthus* sp.), yabani çiçek soğanları arasında en fazla sökülen bitki olup çiçek soğancılığının sembolü haline gelmiştir. *G. elwesii* ve *G. ikariae* başta olmak üzere diğer bazı *Galanthus* türlerine ait soğanlar yaklaşık bir asırdan bu yana yurdumuz doğasından sökülerek ihraç edilmektedir. Osmanlı İmparatorluğu döneminde, 1875 yılından beri yurtdışına satılan kardelen soğanlarının miktarı zaman zaman çok artmış, ancak alınan kısıtlama önlemleriyle ihraç miktarı

kontrol altında tutulmaya çalışılmıştır. 1984 yılında 40 milyon adete kadar çıkan kardelen soğanı dışsatımı, 1986'dan sonra ortalama 30 milyona çekilmiş, 1991'de 20, 1992 ve 1993 yıllarında ise 14 milyona indirilmiştir (1).

Alınan önlemlere rağmen doğadaki stokları gün geçtikçe azalan *Galanthus* cinsine ait türler, her yıl tekrarlanan sökümler nedeniyle 'Kırmızı Bülten'de zarar görebilir bitkiler kapsamına alınmıştır (2). Yapılan doğa gözlemlerinde de bitkinin doğal koşullarda önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (3).

Kardelen bitkisi çok yıllık olup 2.5-3 cm ortalama soğan çapına ve kahverengi soğan kabuğu rengine sahiptir. 2 adet yaprak, tabanda şeritsi veya mızraksı bir

\*Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (TBGAG 19/A No'lu Proje).

yapı almıştır. Çiçek sapı, çiçek açma zamanında dik konumda, meyve oluşturduktan sonra eğik durumdadır. Tek bir çiçek oluşumu görülür, beyaz renkli, türlere göre değişen yerlerde yeşil lekeli ve sarkık çiçeklerinin üçü dışta, üçü içte olmak üzere iki halkalı altı adet taç yaprağı bulunmaktadır. İçteki taç yapraklar dıştakilerden kısadır. Erkek organlar taç yaprakların tabanından çıkmakta olup, anterler tepede sivri ve çıkıntılıdır. Kapsül şeklindeki meyvesinin içinde, olgunlaştığında açık kahverenginde çok sayıda tohum bulunmaktadır. *Galanthus elwesii*'nin mavi-yeşil yaprakları olup tepal üzerindeki yeşil lekeler hem üstte hem de tabanda yer almaktadır. *Galanthus ikariae* ise yeşil yapraklara sahip olduğu gibi tepaldeki yeşil leke sadece üst kısımda bulunmaktadır (4).

Kardelen, doğal ortamda tohumlarıyla ve yeni soğancık oluşumu sayesinde çoğalmaktadır. Tohumdan itibaren yeni oluşan bir soğancığın çiçek açacak büyüklükteki bir soğan durumuna ulaşıncaya kadar geçmesi gereken süre 4-5 yıldır. Bu kadar uzun bir sürede çoğalan bitkinin sökümü sırasında, yeni çimlenen fidelerin ve henüz olgunlaşmamış soğancıkların da sökümü nedeniyle ortaya çıkan zarar daha da çoğalmaktadır. Doğada var olan stokların sökümü, bunun yanında bitkinin hayat döngüsünün uzun ve çoğalma oranının da düşük olması nedeniyle *Galanthus* varlığımız günden güne azalmakta, var olanı sökmek yerine bitkiyi üretmeye yönelik hızlı ve kontrollü çoğaltım yöntemlerinin kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir.

Doku kültürü, birçok bitkide olduğu gibi soğanlı bitkilerin de vegetatif olarak hızlı ve çok miktarda çoğaltılabilesine olanak sağlayan bir üretim şeklidir. *Amaryllidaceae* familyasındaki diğer türlerden nergis (5-7) ve yine soğanlı bir bitki olan lale (8-10) gibi önemli ölçüde ticari değere sahip süs bitkilerinin de yer aldığı çoğu geofit bitki türünde doku kültürü, kullanılabilir aşamaya getirilmiştir. Ancak *Galanthus* sp. türlerinde doku kültürüyle çoğaltım konusunda çok sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

Yapılan kaynak araştırması sonucunda *Galanthus* türlerinde ilk doku kültürü çalışmasının 1984 yılında Popov ve Cherkasov tarafından *Galanthus woronowii* türünde gerçekleştirilmiş olduğu görülmüştür. Bu çalışmada soğan parçalarından kinetin, BAP ve NAA'ın herbirinden 1'er mg/l katılan modifiye MS ortamlarında iyi düzeyde organogenez sağlandığı belirtilmiştir (11).

*Galanthus elwesii*'nin de yer aldığı ve Türkiye için endemik özellik taşıyan bazı önemli geofitlerin doku kültürüyle çoğaltılmasındaki temel faktörler üzerinde araştırmalar yapan Girmen (12), *G. elwesii*'ye ait ovaryum, çiçek sapı ve yaprak sapı eksplantlarının düşük düzeyde rejenerasyon yeteneğinde olduğunu, soğan pul yapraklarından adventif soğanların oluşturulması için uygun eksplantlar olarak belirlendiğini bildirmektedir. Araştırmacı, 0.1/2.0 veya 0.2/2.0 mg/l KNA/BAP kombinasyonunda, vitamin ve aminoasit içeriğinde değişiklikler yapılan MS ortamına %2-3 oranında maltoz, fruktoz veya sakkaroz katıldığında *G. elwesii* türünde adventif soğanların oluşturulabildiğini bildirmiştir. Kültür sırasındaki hormon kombinasyonları, pH seviyeleri, şeker kombinasyonları, ışık ve sıcaklık denemelerinin yapıldığı araştırma, *G. elwesii*'nin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili önemli bilgiler vermektedir. *G. ikariae*'nin ise doku kültürü ile çoğaltılmasına ilişkin dünya literatüründe herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

*G. elwesii* ile ilgili doku kültürü çalışmalar tarafımızca da yapılmış olup *in vitro* koşullarda üretilen adventif soğancıkların dış koşullara aktarma aşamasına kadar olan aşamalar tamamlanmıştır (13,14). Burada sonuçları sunulan araştırmada ise *G. elwesii*'den sonra yurt dışına ihraç edilen ikinci önemli kardelen türü olan *G. ikariae*'nin doku kültürü ile çoğaltılmasına ait bilgiler verilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla *G. ikariae*'de *in vitro* soğancık üretimi için en uygun ekspant tipi, ortam pH'sının ve farklı karbonhidrat kaynağı cins ve dozlarının *in vitro* adventif soğancık oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak kullanılan *Galanthus ikariae* soğanları, Nisan ayının sonu ile Mayıs ayının ilk haftası arasındaki süre içerisinde doğal yetişme ortamı olan Trabzon'un Sürmene ilçesi civarındaki dağlık araziden toplanmıştır. Araziden morfolojik özelliklerine göre toplanan bitkiler, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü herbaryumundaki bitki örnekleriyle ve "Türkiye Florası" kitabındaki tanımlamalarla karşılaştırılarak (4) teşhisleri doğrulandıktan sonra; toprak üstü organlarının kuruması için oda sıcaklığında bırakılmışlardır. Yaklaşık bir ay kadar bu şekilde bekletilen soğanlar temizlendikten sonra kutulara doldurulmuş ve denemelerde kullanılıncaya kadar serin koşullarda karton kutularda saklanmışlardır.

## Metot

Denemelerde esas olarak MS (15) besin ortamı reçetesindeki makro ve mikro element tuzları kullanılmış, organik maddelerin belirlenmesinde ise Girmen (12)'in sonuçlarından yararlanılmıştır. *G.elwesii* türünde doku kültürü ile ilgili çalışmalar yapan bu araştırmacının bulguları ışığında ortama 100 mg/l meso-inositol, 0.5 mg/l tiamin HCl, 0.5 mg/l piridoksin HCl, 2.0 mg/l glisin, 1.0 mg/l nikotinic asit, %2 sakkaroz, 0.2 mg/l KNA (naftalen asetik asit'in potasyum tuzu), 2.0 mg/l BAP (benzil amino purin) ve 6 g/l agar ilave edilmiştir. Ortamlar otoklavlanmadan önce pH 5.5'a ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar 1.5 X 10 cm boyutlarındaki cam tüplere 10'ar ml olacak şekilde dağıtılmış ve otoklavda 121°C sıcaklıkta 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Eksplantların hazırlanması aşamasında soğanlar öncelikle dış kabuklarından arındırılmış, daha sonra musluk suyu altında deterjanla defalarca yıkanmıştır. Bunun ardından 3 dakika %96'lık alkolde bekletilen soğanlar, %40'lık ticari sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika tutulmuş ve ardından üç kez beşer dakika süreyle steril saf su ile durulanmıştır.

Eksplant tipinin *in vitro* koşullarda adventif soğancık oluşumu üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla dört farklı tipte eksplant hazırlanmıştır:

A. Dörde bölünmüş soğan parçaları,

B. Soğan pul yapraklarının tek tek ayrılmasıyla elde edilen 5 mm genişlik, 8-10 mm uzunluğa sahip olan ve bazal kısımdan 2 mm içeren eksplantlar (=bulb scales),

C. Çift pul yapraklı eksplantlar (=twin scales)

D. Pul yaprakların üst kısmından hazırlanan ve bazal doku içermeyen eksplantlar

Dört değişik tipte hazırlanan eksplantlar, 0.2/2.0 mg/l veya 0.4/2.0 mg/l KNA/BAP büyümeyi düzenleyici kombinasyonlarına sahip ortamlara dikilmişlerdir.

pH seviyelerinin soğancık oluşumuna etkisini belirleyebilmek amacıyla tam kuvvette MS mineral tuzları esas alınarak üç farklı pH seviyesi denenmiş, bunlar 5.0, 5.5 ve 6.0 olarak seçilmiştir.

Karbonhidrat kaynağı olarak sakkaroz, fruktoz, maltoz, laktoz ve glukoz'un kullanıldığı deneme aşamasında, bu şekerlerin 20, 30 veya 60 g/l'lik dozları tam kuvvette hazırlanan ve pH'sı 5.5'a ayarlanan besin ortamlarına ilave edilmiştir. Bu aşamada oksin olarak

KNA'in yanısıra NAA (naftalen asetik asit) de bir grup uygulamada yer almıştır.

Denemeler faktöriyel tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenlenmiş, uygulamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde varyans analizi ve Duncan testinden yararlanılmıştır. Eksplant tipi ve karbonhidrat kaynağı denemesinde her uygulamada 50'şer adet, pH denemesinde 100'er adet eksplant kullanılmıştır.

Eksplant dikimleri yapılan tüpler, 20°C±2 sıcaklık ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyodik ayarlama yapılmış iklim dolabına yerleştirilmiştir. Işık şiddeti 2000 lux olacak şekilde düzenlendikten sonra, bu koşullarda 16 hafta boyunca bekletilmişlerdir.

## Bulgular

### Eksplant tipi

Soğan parçası, çift pul yaprak ve soğan pul yaprağı ile bazal doku içermeyen pul yaprağın üst kısımlarından hazırlanan eksplantlar içerisinde, ortama dikilen dokuda bazal kısımdan bulunmak koşuluyla tüm eksplantlar üzerinde adventif soğancık oluşumu gerçekleşmiştir. Tablo 1'de *G.ikariae*'nin soğanlarından hazırlanan dört farklı eksplant tipinden *in vitro* koşullarda elde edilen soğancık sayıları gösterilmiştir.

Tablo 1. Değişik eksplant tipleri ve KNA dozlarının *G.ikariae*'de adventif soğancık oluşumuna etkisi

Eksplant tipi	KNA dozu (mg/l)	Soğancık sayısı (adet/eksplant)
A	0.2	3.25 a
	0.4	2.23 bc
B	0.2	2.98 a
	0.4	1.76 c
C	0.2	2.34 ab
	0.4	1.87 c
D	0.2	0.0 d
	0.4	0.0 d

Oksin kaynağı olarak KNA'in 0.4 mg/l kullanılması, adventif soğancık oluşumunu önemli düzeyde azaltmıştır. Denemede yer alan ve soğancık elde edilen her üç eksplant tipinde de oksin dozunun artması halinde oluşan soğancık sayıları azalmıştır. Dörde bölünmüş soğan parçaları (A),

0.2 mg/l KNA içeren ortamlarda en yüksek sayıda soğancık oluşumunu sağlamıştır. Ancak istatistiksel değerlendirmelerde pul yaprakların kullanılmasıyla (B,C) elde edilen soğancık sayıları ile soğan parçası eksplantlarından oluşan soğancık sayıları arasında önemli düzeyde bir farklılık belirlenmemiştir. 3.25 adet/eksplant soğancık elde edilen soğan parçası eksplantı ile 2.98 ve 2.34 adet/eksplant soğancık elde edilen çift ve tek pul yaprak eksplantları, bazal doku içermeyen pul yaprağın üst bölümü eksplantından üstün bulunmuştur. Besin ortamları üzerinde şişkinleşerek iri ve kaba bir doku haline dönüşen, buna karşılık hiç soğancık oluşturmayan "D" tipi eksplantların doku kültürü ile çoğaltmaya uygun olmadığı belirlenmiştir. Soğancıkların görünüşleri ve irilikleri, pul yaprak veya soğan parçası kullanılmasına göre bazı ufak farklılıklar göstermiştir. Soğan parçaları üzerinde gelişen soğancıkların, pul yapraklar arasında sıkıştıkları için daha yassı, pul yapraklardan gelişenlerin ise düzgün oval şekilli ve daha iri oldukları dikkati çekmiştir. Şekil 1 a, b ve c'de soğan parçası, çift pul yaprak ve soğan pul yaprağı üzerinde soğancık oluşumları görülmektedir.

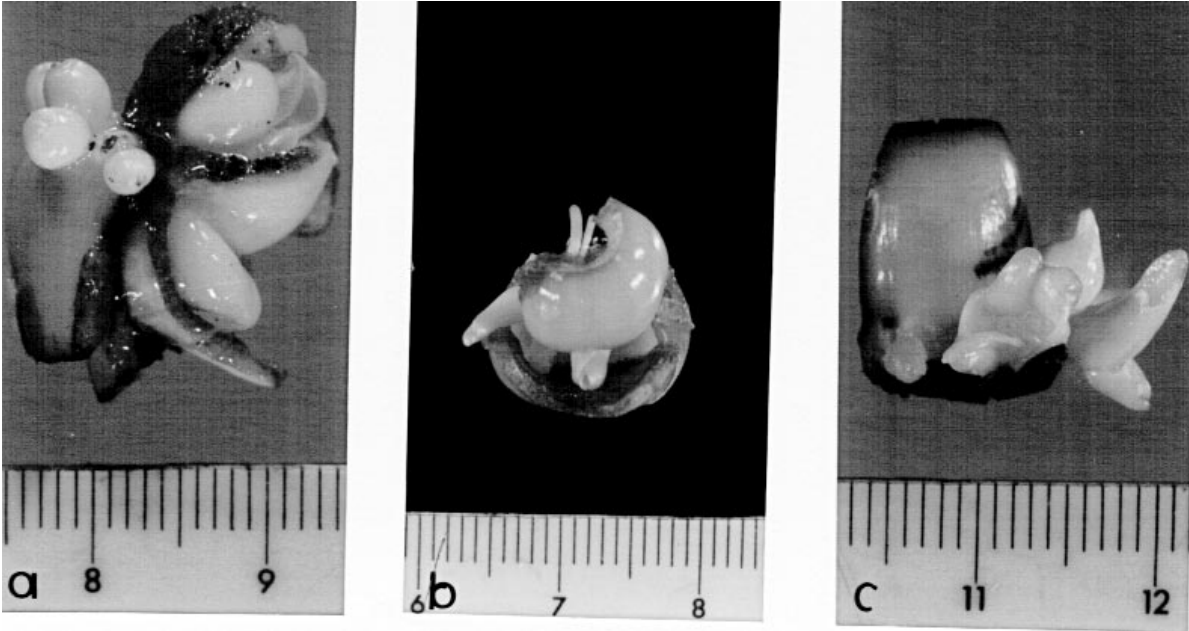
#### Ortam pH'sı

Üç değişik pH seviyesinde kültüre alınan *G.ikariae* soğan pul yaprakları üzerinde adventif soğancık oluşumu

tüm ortamlarda gerçekleşmiştir. pH 5.0 düzeyinde her bir eksplanttan 2.50 adet soğancık oluşurken, pH 5.5'da bu sayı 2.57 olmuş ve bu iki uygulama arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Oysa 1.35 adet/eksplant değerinin elde edildiği pH 6.0 seviyesi, diğer iki uygulamaya göre önemli düzeyde ( $p < 0.01$ ) düşük bir soğancık oluşumuna sebep olmuştur. Oluşan soğancık kalitesi göz önüne alındığında pH seviyesinin 5.5'tan daha az veya çok olması halinde dokularda şeffaflaşma ve sulanmanın yanısıra, kallus oluşumuna benzer bir dejenerasyon ortaya çıktığı görülmüştür. Bu nedenle *G.ikariae*'nin doku kültüründe en uygun pH seviyesinin 5.5 olduğu belirlenmiştir.

#### Karbonhidrat cins ve dozu

Denemede yer alan faktörler arasındaki etkileşim, adventif soğancık oluşumu bakımından istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. Farklı şeker cins ve dozları, soğancık oluşumu üzerinde farklı etkilere neden olurken; farklı oksin kaynakları olan NAA ve KNA de soğancık oluşturma üzerinde farklı etki yaratmıştır (Tablo 2). Genel olarak KNA, kullanılan tüm şeker cins ve dozlarında NAA'ye göre daha fazla sayıda soğancık oluşumuna neden olmuştur. Soğan pul yaprağı ve soğan parçası eksplantları arasında KNA katılan ortamlarda soğancık oluşturma bakımından çok fazla farklılık ortaya çıkmamış ve her iki eksplant birbirine yakın değerler vermiş olmakla beraber,



Şekil 1. *G. ikariae*'nin *in vitro* kültüründe farklı eksplant tipleri üzerinde oluşan adventif soğancıklar. a. Soğan parçası, b. Çift pul yaprak, c. Soğan pul yaprağı.

Tablo 2. *G.ikariae*'de farklı şeker cins ve dozlarının KNA veya NAA içeren ortamlarda adventif soğancık oluşumuna etkisi (adet/eksplant)

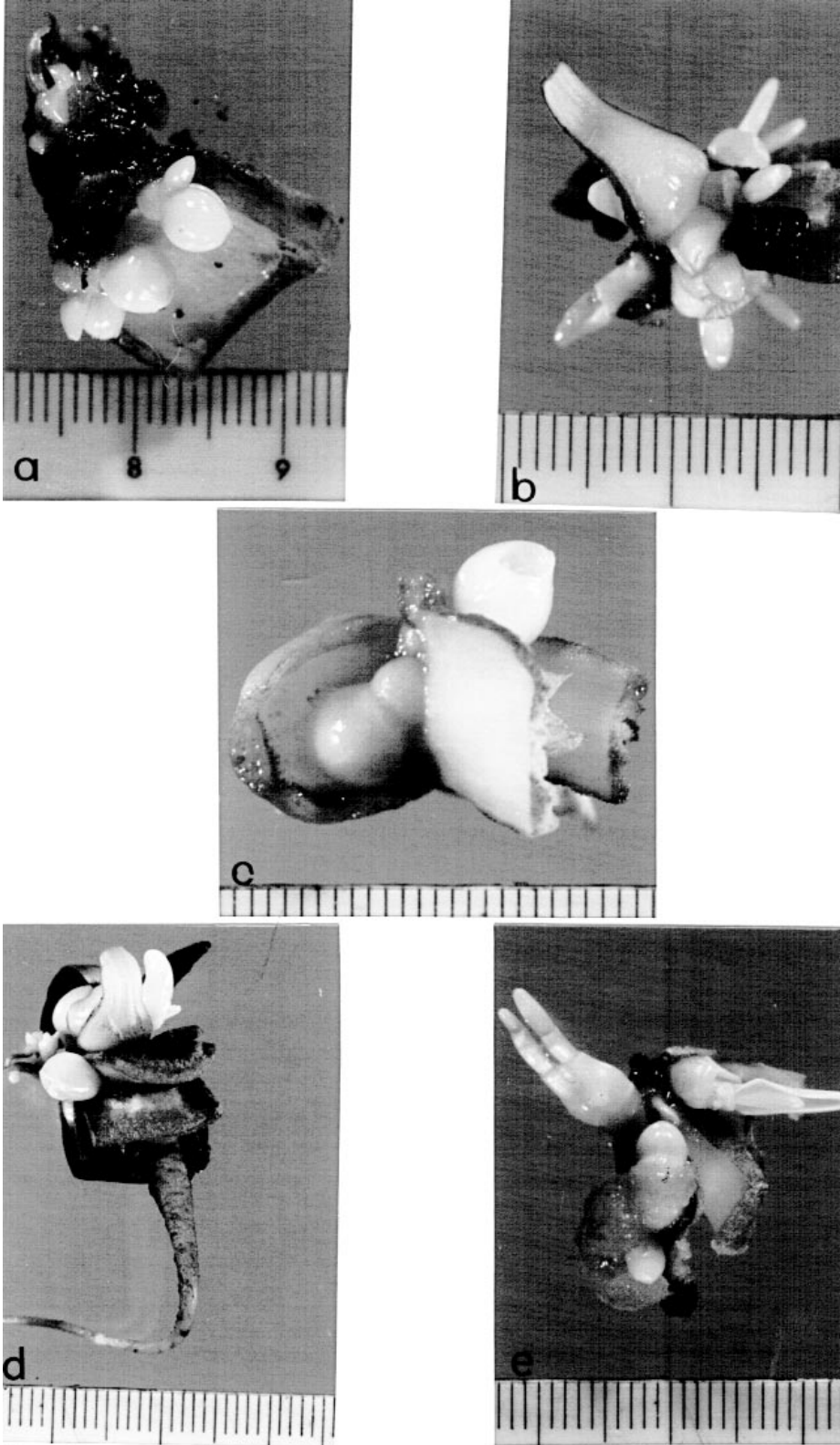
Şekerler	Soğan parçası				Soğan pul yaprağı			
	Adventif Soğancık Sayısı (adet/eksplant)		Köklenme (%)		Adventif Soğancık Sayısı (adet/eksplant)		Köklenme (%)	
	KNA	NAA	KNA	NAA	KNA	NAA	KNA	NAA
Sakkaroz %2	2,2 cd	1,7 de	35	3	2,1 cd	1,9 de	-	-
Sakkaroz %3	3,2 c	0,8 gh	30	-	2,5 cd	1,2 e-g	8,7	-
Sakkaroz %6	7,1 a	1,0 f	87	5	4,1 b	2,3 cd	11	-
Fruktoz %2	1,6 d-f	1,4 ef	-	-	1,9 de	1,2 e-g	-	-
Fruktoz %3	3,0 c	0,5 f-h	20	-	2,7 c	1,0 fg	-	-
Fruktoz %6	4,1 b	0,5 gh	40	-	3,0 c	0,5 g-h	-	-
Glukoz %2	2,7 c	0,5 gh	-	-	1,7de	1,2 e-g	-	-
Glukoz %3	2,0 c-e	2,1 cd	40	-	2,0 cd	0,3 gh	12	-
Glukoz %6	1,7 de	1,4 ef	90	11	2,3 cd	1,7 de	9,7	-
Laktoz %2	3,0 c	0,5 f-h	15	-	2,3 cd	1,0 fg	-	-
Laktoz %3	1,7 de	1,6 d-f	10	-	1,5 d-f	0,7 gh	-	-
Laktoz %6	1,0 f	1,9 de	-	-	2,0 c-e	1,1 e-g	-	-
Maltoz %2	4,0 b	2,1 cd	-	-	3,2 c	2,1 cd	-	-
Maltoz %3	2,0 cd	1,4 ef	-	-	2,0 cd	1,9 d-f	-	-
Maltoz %6	2,8 c	0,4 gh	20	-	1,7 de	0,7 gh	-	-

%6 sakkaroz içeren ortamlarda soğan parçası eksplantlarında (7.1 adet/eksplant), soğan pul yaprağı eksplantına göre (4.1 adet/eksplant) daha fazla sayıda soğancık oluşumu gerçekleşmiştir. %6 oranında kullanılan sakkaroz, denemede yer alan şeker cins ve dozları içerisinde en yüksek soğancık oluşumunun elde edilmesini sağlamış ve bu farklılık, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). %6'lık sakkaroz uygulamasının yanında, iki uygulamanın daha oluşan soğancık sayısı bakımından diğer uygulamalardan farklılık gösterdiği görülmüştür. Bunlardan birisi %6 fruktoz, diğeri %2 maltoz uygulamasıdır. Bu uygulamalarda soğan parçası eksplantları, soğan pul yapraklarından daha verimli bulunmuştur. %6 fruktoz ve %2 maltoz içeren ve oksin olarak KNA kullanılan uygulamalarda, soğan parçalarından sırasıyla 4.1 ve 4.0 adet/eksplant soğancık elde edilmiştir. Aynı uygulamalarda yer alan soğan pul yaprakları ise 3.0 ve 3.2 adet/eksplant soğancık oluşumu gerçekleştirmiştir. Soğan pul yaprakları, bu verim değerleriyle soğan parçalarından farklı bir harflendirme grubu içerisinde kalmışlardır. Şekil 2'de farklı şeker cins ve dozlarında elde edilen *in vitro* kardelen soğancıklarına ait bazı örnekler gösterilmiştir.

Denemede yer alan diğer "Şeker cins ve dozu, oksin cinsi ve eksplant tipi" kombinasyonlarından ortalama 0.3-3.2 değerleri arasında, eksplant başına adventif soğancık oluşumu elde edilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılıklar, Tablo 2'de farklı harf grupları ile gösterilmiştir.

Oluşan soğancık sayısının yanısıra soğancıkların görünüşleri bakımından da uygulanan şeker cinsleri arasında farklılık olduğu görülmüştür. Örneğin glukoz içeren ortamlarda yalnızca pul yaprağın dip kısmından değil, yaprak dokusunun üzerinde de soğancık oluşumu gerçekleşmiş, ancak bunlar oldukça küçük soğancıklar olmuştur. Laktoz ve maltoz içeren ortamlarda oluşan soğancıklarda ise sürgünlerde gelişme eğilimi belirlenmiştir. Sakkaroz içeren ortamlarda oluşan soğancıklarda sürgün gelişimi ve yapraklarda yeşillenme olmazken, fruktoz içeren ortamlarda daha az, fakat maltoz ve laktoz içeren ortamlarda hemen hemen oluşan tüm soğancıklarda sürme ve yeşillenme olduğu belirlenmiştir.

Şeker cins ve dozlarının bir başka etkisi ana eksplant üzerinde köklenme oluşması yönünde olmuştur. Genel olarak soğan parçası eksplantları, soğan pul yaprağı



Şekil. 2. Bazı şeker cins ve dozlarında *G. ikariae*'de oluşan adventif soğancıklar a. %6 sakkaroz, b. %6 laktoz, c. %2 glukoz, d. %3 fruktoz, e. %3 maltoz

eksplantlarından daha yüksek oranda köklenme değerlerine sahip olmuşlardır. Sakkaroz oranının %2'den %6'ya yükseltilmesi köklenme oranını artırmış, fruktoz ve glukozda da şeker dozunun artması, köklenme oranını artırmıştır. Laktoz ve maltoz kullanılan ortamlarda kök oluşumu ya hiç olmamış, en fazla %20 dolaylarında kalmıştır. Soğan pul yaprağı eksplantları, şekerlerin köklenme üzerindeki farklı etkilerinin açıkça ortaya konmasında soğan parçası eksplantlarıyla paralel sonuçlar vermiştir. Buna göre ana eksplantlar üzerinde kök oluşumunu en fazla sakkaroz ve glukoz sağlamış, kullanılan doz arttıkça oluşan köklenme miktarında da artış kaydedilmiştir. Fruktoz, laktoz ve maltoz şekerleri ise sürgün gelişimini ve yeşillenmeyi uyardığı halde köklenmeyi olumlu yönde etkilememiştir.

### Tartışma

Soğan parçaları ve pul yapraklarından *in vitro* koşullarda *G. ikariae*'de adventif soğancık oluşumu gerçekleştirilmiştir. Soğanların dört parçaya ayrılmasıyla elde edilen eksplantlardan oluşan soğancıkların sayısı, soğan pul yaprağı eksplantlarından daha fazla olmuştur. Ancak bir soğandan hazırlanacak soğan pul yaprağı eksplantı sayısının daha fazla olduğu gözönüne alındığında, oluşan soğancıkların nitelikleri de düşünülerek, soğan pul yaprağının daha iyi bir başlangıç materyali olduğu kanısına varılmıştır. Soğan pul yaprağının veya soğan parçalarının birçok soğanlı bitkinin doku kültürü yoluyla çoğaltılmasında elverişli eksplant tipleri olduğuna ilişkin çeşitli araştırmacılar tarafından kaydedilmiş bilgiler bulunmaktadır. Lalede (9,10), nergiste (5,16) ve zambakta (17) soğan pul yaprakları, doku kültürü ile çoğaltım amaçlandığında en uygun eksplant olarak belirtilmiştir. Girmen (12), *G.elwesii*'de soğan pul yapraklarını kullanarak eksplant başına 15 adet kadar yeni soğancık elde edebildiğini bildirmiştir.

Besin ortamının pH değeri, soğancık oluşumu üzerinde etkili olmuştur. 5.0 ve 5.5 pH değerleri arasında oluşan soğancık sayıları bakımından önemli düzeyde farklılık yaratmadığı halde, pH seviyesinin 6.0'ya yükseltilmesi soğancık oluşumunu olumsuz etkilemiştir. Bu durum, yüksek pH derecesine ayarlanan ortamlarda uzun süren inkübasyon dönemi sırasında meydana gelen muhtemel pH düşüşü nedeniyle ortaya çıkmıştır. Nitekim Girmen (12), ortamdaki başlangıç pH değeri ne kadar yüksek ise kültürün devamı boyunca ortaya çıkan düşüşün

o kadar hızlı meydana geldiğini bildirmektedir. Hızlı pH düşüşünü, amonyum katyonunun seçici alınımı ve eksplantların diğer katyonları anyonlara göre tercihan almaları ile açıklayan araştırmacı da yüksek pH seviyelerinin *G.elwesii* türündeki olumsuz etkilerinden bahsetmektedir.

Bitki doku kültürlerinde genel olarak karbonhidrat olarak sakkaroz kullanılmakta; ancak bazı durumlarda glukoz veya fruktoz da sakkaroz yerine kullanılabilir (18). Bizim denememizde bu karbonhidratların yanısıra maltoz ve laktoz da denemelerde kullanılmıştır. Beş farklı şeker cinsinin üç değişik dozuna sahip ortamların tümünde adventif soğancık oluşumu elde edilebilmiştir. Ancak en fazla soğancık sayısına, %6 oranında sakkaroz kullanılan ortamda ulaşılmıştır. Hem soğan parçaları, hem de soğan pulları denenen kombinasyonlar içerisinde en fazla soğancığı, %6 sakkaroz içeren KNA'li ortamlarda oluşturmuşlardır. Genelde sakkarozun %2 ve %3 dozları da oldukça iyi bulunmuş; %6 fruktoz ve %2 maltoz uygulamalarından da diğer uygulamalara göre daha yüksek soğancık sayısı elde edilmiştir. Girmen (12), *G.elwesii* türüne ait doku kültüründe besin ortamına %1,2,3 ve 4 oranında katılan sakkaroz, maltoz, laktoz, fruktoz ve glukoz içerisinde en yüksek soğancık oluşumunun %2 veya 3 oranında sakkaroz, maltoz ve fruktoz içeren ortamlardan elde ettiğini bildirmektedir. Araştırmacı, laktoz ve glukoz içeren ortamlarda önemli derecede daha düşük soğancık oluşumu belirlendiğini, ayrıca şeker dozunun %4'e çıkartılmasıyla soğancık oluşumunun azaldığını rapor etmiştir. Fakat bizim çalışmamızda %6 sakkaroz, diğer tüm uygulamalardan daha yüksek soğancık oluşumuna neden olmuştur. Bu farklılığın, kullanılan türlerin farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi, eksplant kaynaklarının bulunduğu fizyolojik dönem farklılıklarından da ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir. Sözü edilen çalışmayla ortak olan nokta, sakkarozun *Galanthus* sp. türlerinde *in vitro* soğancık oluşumu amacıyla kullanılabilir bir karbonhidrat olduğudur.

Karbonhidrat dozundaki artışlar, ana eksplant üzerinde kök oluşumunu artırmıştır. Kubitz ve ark.(19) da zambakta sakkaroz dozunun %6'ya yükseltilmesiyle eksplantlarda kuvvetli kök oluşumu meydana geldiğini belirtmektedir. Zambak doku kültüründe %4'lük sakkaroz dozunun en iyi soğancık oluşumunu sağladığı, konsantrasyonun %8 veya 12'ye yükseltilmesinin soğancık sayısında azalmaya neden olduğu



bildirilmektedir (20). Kullanılan karbonhidrat dozundaki artışın soğancık oluşumu üzerindeki olumsuz etkileri bulunduğu dair önceki bulgulara karşın bizim çalışmamızda şeker dozlarının %3'ten %6'ya yükseltilmesi, hem oluşan soğancık sayısını, hem de

oluşan soğancıkların gelişimlerini olumlu yönde etkilemiştir. Ancak kullanılan doz daha da artılırsa, *Galanthus ikariae*'de soğancık oluşumunu olumsuz yönde etkilenebilmesi olasıdır.

## Kaynaklar

1. Ekim,T., Koyuncu,M., Türkiye'den İhraç Edilen Çiçek Soğanları ve Koruma Önlemleri. II.Uluslararası Ekoloji ve Çevre Sorunları Sempozyumu, Ankara,Türk-Alman Kültür İşleri Kurulu Yayın Dizisi No:3, (1993).
2. Ekim,T., Koyuncu, M., Erik, S., İlarlan,R., Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir ve Endemik Bitkileri. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Yayın No:18, Ankara, (1989).
3. Ekim,T., Koyuncu, M., Güner,A., Erik,S., Yıldız,B., Vural,M., Türkiye'nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerinde Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar. Tarım Orman ve Köyşyeri Bakanlığı Genel Müdürlüğü Yayınları, Sıra no:669, Seri no:65, Ankara,(1991), pp: 111.
4. Davis,P.H., Flora of Turkey and The East Aegean Island, Cilt:8, Edinburg, (1984).
5. Hussey,G., *in vitro* Propagation of *Narcissus*. Ann. Bot., 49,707-719, (1982).
6. Gu,H.S., Gao,C.H., The Effects of Plant Growth Regulators on Callus Induction From Bulb Segments of *Narcissus tazetta*: Maintenance and Organogenesis in Callus Cultures. Acta Hort.of Sinica, 14(1), 53-56, (1987).
7. Squires,W.M., Langton,F.A., Potential and Limitations of *Narcissus* Micropropagation: an Experimental Evaluation. Acta Hort., No:266, 67-76, (1990).
8. Alderson, P.G., Rice,R.D., Wright, N.A., The Potential For Propagating Tulips Through Tissue Culture. Plant Propagator, 29(4), 10-13, (1983).
9. Nishiuchi,J., Multiplication of Tulip Bulb By Tissue Culture *in vitro*, Acta Hort., No: 177, Vol:1, 279-283, (1986).
10. Koster,J., Tissue Culture of Tulip- Leiden University Has Succeed With the Cultivar Apeldoorn. Bloembollencultuur 99 (26), 44-45, (1988).
11. Popov,Y.G., Cherkazov,O.A., Rapid *in vitro* Propagation of Some Bulbous Species of The Family *Amaryllidaceae*. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya, 4, 76-79, (1984).
12. Girmen,M., Untersuchungen zur *in vitro* Kultur von Geophyten. Dissertation der Univ. Hannover, (1986).
13. Tıpırdamaz, R., *Galanthus elwesii*'nin Doku Kültürü ile Çoğaltılmasında Farklı Besin Ortamı ve Eksplant Tiplerinin Soğancık Oluşumu Üzerine Etkisi. XII. Ulusal Biyoloji Kongresi Cilt I. s:274-279, 6-8 Temmuz (1994), Edirne.
14. Ellialtıoğlu, Ş., Tıpırdamaz, R. Çakırlar, H., Farklı Besin Ortamı Bileşimlerinin Kardelende (*Galanthus* sp.) *in vitro* Soğancık Oluşumu Üzerine Etkileri. KÜKEM Dergisi, Cilt 18, Sayı 1, s:33-36, (1995).
15. Murashige,T., Skoog,F.A., A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay With Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant., 15, 473-479, (1962).
16. Steinitz,B., Yahel,H., *in vitro* Propagation of *Narcissus tazetta*, Hort.Sci., 17(3), 333-334, (1982).
17. Takayama,S., Misawa,M., Regulation of Organ Formation By Cytokinin and Auxin in *Lilium* Bulbscales Grown *in vitro*, Plant & Cell Physiol., 23(1), 67-74, (1982).
18. Hughes, K.W., Ornamental species. In: Conger (ed.), p:5-50, (1981).
19. Kubitz,K., Börner,R., Richter,P., Versuche zur Vermehrung von Lilien über Kalluskultur. Arch. Gartenbau, 27(2), 61-71, (1979).
20. Niimi,Y., Onozawa,T., *in vitro* Bulblet Formation From Leaf Segments of Lilies, esp. *Lilium rubellum* Bater. Sci.Hort., 11, 379-389, (1979).