ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUNCELİ SARIMSAĞINDA (*Allium tuncelianum* (KOLLMAN), N.ÖZHATAY, D. MATTHEW, Ş. ŞİRANECİ) *İN VİTRO* KÖK VE SÜRGÜN UCU KÜLTÜRÜ YOLUYLA ÇOĞALTMA

Ezgi YAZAR

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2006

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ danışmanlığında, Ezgi YAZAR tarafından hazırlanan bu çalışma 10/10/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Neşet ARSLAN
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Ülkü MEHMETOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TUNCELİ SARIMSAĞINDA (*Allium tuncelianum* (KOLLMAN), N.ÖZHATAY, D. MATTHEW, Ş. ŞİRANECİ) *İN VİTRO* KÖK VE SÜRGÜN UCU KÜLTÜRÜ YOLUYLA ÇOĞALTMA

Ezgi YAZAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ

Bu araştırmada, ülkemize özgü bir tür olan Tunceli sarımsağını, doku kültürü tekniklerinden kök ucu kültürü ve sürgün ucu kültürü yöntemleriyle daha kısa sürede ve yoğun bir şekilde çoğaltabilme olanakları belirlenmeye çalışılmıştır. Kök ucu kültürü çalışmalarında köklerde kallus oluşumu sağlanamamıştır. 0.1 mg/l BA ile 1.0 mg/l NAA bulunan ortamda hafif kallus başlangıcı görülse de daha sonra hiçbir gelişme görülmemiştir. Kök ucu kültürü çalışmamızda beklenen başarıya ulaşılamamıştır.

Sürgün ucu kültürü çalışmasında sürgün uçlarının dikiminden yaklaşık 1 ay sonra kardeş oluşumu başlamıştır. 4 alt kültür sonunda kardeş sayısı bakımından IAA bulunan ortamların NAA bulunduran ortamlardan daha başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Büyümeyi düzenleyiciler kardeşlenme oranı açısından karşılaştırıldığında ise en yüksek kardeşlenme oranı %76 ile 0.05 mg/l BA+0.1 mg/l IAA bulunan ortamdan alınmıştır. Bunu %67 ile 0.1 mg/l BA, 0.1 mg/l BA+0.1 mg/l NAA ve %65 ile 0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA, %56 ile 0.05 mg/l BA bulunan ortamlar izlemiştir. Bu türün çoğalma katsayısının düşük olduğu ve sürgün başına yaklaşık 1 adet kardeş elde edildiği belirlenmiştir. Baş oluşumunda 0.1 mg/l NAA'in IAA'e göre daha etkili olduğu ve alt kültür sayısı artıkça sürgünlerde baş oluşumunun da arttığı ortaya konulmuştur.

2006, 42 sayfa

Anahtar Kelimeler: Allium , *in vitro*, kök ucu kültürü, sürgün ucu kültürü

ABSTRACT

Master Thesis

PROPAGATION OF TUNCELİ GARLIC (*Allium tuncelianum* (KOLLMAN), N.ÖZHATAY, D. MATTHEW, Ş. ŞİRANECİ) THROUGH *IN VITRO* ROOT AND SHOOT TIP CULTURE

Ezgi YAZAR

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

Supervisor: Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ

In this research, possibilities for rapid propagation in shorter times for Tunceli garlic, which is endemic to our country, were determined by root culture and shoot tip culture methods which are among rapid propagation and tissue culture techniques. Callus formation couldn't be provided in the roots in root tip culture studies. Although slight callus inception was observed in the environment where there was 0.1 mg/1 BA and 1.0 mg/1 NAA, no advance was observed afterwards. Expected success was not achieved in the root tip culture study.

In the shoot tip culture study, shoot formation started approximately 1 month after shoot tip planting. After 4 sub-cultures, it was determined that environments containing IAA gave out better results than environments containing NAA with regard to the number of shoots. When environments are compared with regard to shoot rates, the highest shoot rate was obtained from the environment containing 0.05 mg/l BA+0.1 mg/l IAA with 76%. This was followed by environments containing 0.1 mg/l BA, 0.1 mg/l BA+0.1 mg/l NAA with 67% and 0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA with 65%, 0.05 mg/l BA with 56%. It was determined that the propagation co-efficient of this species is low and approximately 1 shoot can be obtained per shoot. Of the auxins, NAA was shown to be more efficient in bulb formation in shoots and bulb formation increased along with the increase in the number of sub-cultures.

2006, 42 pages

Key Words: Allium , *in vitro*, root tip culture, shoot tip culture

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren ve destekleyen danışman hocam Prof. Dr. Ruhsar YANMAZ'a, her konuda kendisine danışma fırsatı bulduğum ve değerli bilgileri ile bana yol gösteren Dr. K. Yaprak KANTOĞLU'na, laboratuar çalışmalarının her aşamasında ve hayatımda benden desteğini hiç esirgemeyen canım arkadaşlarım Ziraat Yüksek Müh. Aslı ALPER ve Ziraat Müh. S. Sencan ÇOBAN'a, çalışmam sırasında bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren bütün bölüm hocalarıma ve hayatım boyunca benden maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından sağlanan destekle yürütülmüştür.

Ezgi YAZAR

Ankara, Ekim 2006

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vii**
1.GİRİŞ **1**
2.KAYNAK ÖZETLERİ **5**
2.1 Kök Kültürü Çalışmaları **5**
2.2 Sürgün Ucu ve Meristem Kültürü Çalışmaları **6**
2.3 Yaprak Kültürü Çalışmaları **10**
2.4 Kallus Kültürü Çalışmaları **11**
2.5 Somatik Embriyogenesis Çalışmaları **12**
2.6 Hücre Süspansiyon Kültürü Çalışmaları **14**
2.7 Anter Kültürü Çalışmaları **14**
3.MATERYAL VE YÖNTEM **15**
3.1 Materyal **15**
3.2 Yöntem **15**
3.2.1 Bitki parçalarının hazırlanması **16**
3.2.2 Kök ucu kültürü denemeleri **16**
3.2.2 Sürgün ucu kültürü denemeleri **17**
3.3 Araştırmada Elde Edilen Bulguların Değerlendirilmesi **19**
3.4 Ölçüm ve Değerlendirme Şekli **19**
4. ARAŞTIRMA BULGULARI **21**
4.1 Kök Ucu Kültürü Denemeleri **21**
4.2 Sürgün Ucu Kültürü Denemeleri **22**
4.2.1 Kardeşlenme **22**
4.2.2 Baş oluşumu **29**
4.2.3 Köklenme **32**
4.2.4 Dış koşullara alıştırma **33**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **35**
KAYNAKLAR **39**
ÖZGEÇMİŞ **42**

SİMGELER DİZİNİ

ABA	Absizik asit
B5 ortamı	Gamborg *et al*. Ortamı
BA	Benziladenin
2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
cm	Santimetre
g/l	Gram/litre
IAA	İndolasetik asit
IBA	İndolbütirik asit
2İP	6-dimetilaminopurin
LS ortamı	Linsmaier and Skoog ortamı
BDS ortamı	Basal Dunstan and Short
mm	Milimetre
MS ortamı	Murashige and Skoog ortamı
mg/l	Miligram/litre
µl	Mikrolitre
µM	Mikromol
NAA	Naftalenasetik asit
^{o}C	Celcius
½ MS	MS tuzları yarı kuvvetinde olan ortam

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Tunceli sarımsağının (A. tuncelianum) Munzur Dağları'nda arazideki görünümü 1
Şekil 1.2 Tunceli sarımsağının (A. tuncelianum) baş kısmı 2
Şekil 1.3 Tunceli sarımsağına (A. tuncelianum) ait çiçek ve tohumların görünümü 3
Şekil 1.4 Tunceli sarımsağında (A. tuncelianum) başlar üzerinde bulunan küçük diş benzeri yapılar....3
Şekil 3.1 Bitki materyali olarak kullanılan Tunceli sarımsağına (A. tuncelianum) ait başların görünümü....15
Şekil 3.2 Tunceli sarımsağında dikilen sürgünlerdeki enfeksiyonun görünümü 16
Şekil 3.3 Tunceli sarımsağına (A. tuncelianum) ait 18 gün yaşlı bitkiler ve bu bitkilerden alınan kök uçları 17
Şekil 4.1 Kök ucu kültürü denemelerinde köklerde kallus oluşumu....21
Şekil 4.2 Tunceli sarımsağında (A. tuncelianum) ana sürgünden oluşan sürgünün görünümü 24
Şekil 4.3 Tunceli sarımsağına (A. tuncelianum) ait sürgünlerde 6. haftadan sonra baş ve sürgün oluşumu 25
Şekil 4.4 0.05 mg/l BA + 0.5 mg/l IAA kombinasyonunda kardeşlenmenin görünümü....26
Şekil 4.5 BA ve NAA kombinasyonlarının kardeşlenme oranına etkisi 27
Şekil 4.6 BA ve IAA kombinasyonlarının kardeşlenme oranına etkisi 27
Şekil 4.7 Tunceli sarımsağında BA+NAA kombinasyonlarının baş oluşum oranına etkisi 31
Şekil 4.8 Tunceli sarımsağında BA+IAA kombinasyonlarının baş oluşum oranına etkisi 31
Şekil 4.9 Tunceli sarımsağında (A. tuncelianum) ait başlı sürgünlerde köklenme 33
Şekil 4.10 Tunceli sarımsağında dış koşullara aktarılmış in vitro bitkilerin 1 ay sonraki görünümü 34

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Tunceli sarımsağında (A. tuncelianum) kök kültürü denemesinde kullanılan temel besin ortamı ve hormon kombinasyonları.....17
Çizelge 3.2 Tunceli sarımsağında (A. tuncelianum) sürgün ucu kültürü denemelerinde kullanılan ortam ve hormon kombinasyonları.....18
Çizelge 4.1 Tunceli sarımsağında BA+Oksin kombinasyonlarının 4 alt kültür sonucunda toplam ve bitki başına kardeş sayısı ile kardeşlenme oranına etkisi (%).....23
Çizelge 4.2 Tunceli sarımsağında hormon kombinasyonlarının 1. alt kültür sonucunda toplam kardeş sayısı, bitki başına düşen kardeş sayısı ve kardeşlenme oranına etkisi (%).....28
Çizelge 4.3 Tunceli sarımsağında BA+Oksin kombinasyonlarının baş oluşumuna etkisi.....30
Çizelge 4.4 Tunceli sarımsağına (Allium tuncelianum) ait sürgünlerde baş oluşturma ortamlarında elde edilen sonuçlar 32
Çizelge 4.5 Tunceli sarımsağına (A. tuncelianum) ait başların köklenmesi üzerine NAA dozlarının etkileri.....33

1. GİRİŞ

Türkiye, pek çok bitki türünde olduğu gibi *Allium* türleri yönünden de zengin bir ülkedir. Dünyada yaklaşık 500 kadar *Allium* türü bulunmakta, bunların yaklaşık 170 tanesine Türkiye'de rastlanmaktadır. Ülkemizdeki *Allium* türlerinin yaklaşık % 40'ının endemik olduğu belirtilmektedir (Anonim 2004). *Allium* cinsinin çok az bir kısmı Güney Amerika tropik ormanlarında ve kuzey kutbunda bulunurken çoğu türü Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya'da bulunmaktadır. *Allium* türleri beslenme amaçlı kullanılabildikleri gibi süs bitkisi ve tıbbi bitki olarak da kullanılmaktadır (Brewster 1994).

Sarımsak, insan beslenmesi yönünden önemli olan birçok vitamin ve mineral maddesi içermesinin yanında, önemli bir tıbbi bitkidir. Dünya sarımsak üretimi 2005 yılı verilerine göre 14 500 000 ton olup 11 093 500 ton ile Çin ilk sırada, Türkiye ise 99 500 ton ile 12.sırada yer almaktadır (Anonymous 2005).

Tunceli sarımsağı olarak adlandırılan *Allium tuncelianum* endemik bir bitki türüdür ve Dünya'da sadece Tunceli ili ve çevresinde ve özellikle Munzur dağları eteklerinde bulunan Ovacık ve çevresinde yaygın olarak bulunmaktadır (Koyuncu ve Güvenç 1994) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Tunceli sarımsağının (*A. tuncelianum*) Munzur Dağları'nda arazideki görünümü *(Fotoğraf: Ruhsar Yanmaz)*

Tunceli sarımsağı ilk kez *A. macrochaetum*'un bir alt türü olarak tanımlanmıştır (Kollman 1983). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda bunun farklı bir tür olduğu anlaşılmış ve tür düzeyine yükseltilerek *A. tuncelianum* adı verilmiştir (Özhatay vd. 1995). Tunceli sarımsağı (*A. tuncelianum*) *Monocotyledonea* (tek çeneklileri) sınıfının, *Liliflore* takımında ve *Liliaceae* familyasının *Allium* cinsi içerisinde yer almaktadır (Hanelt 1990). Kromozom sayısı ise 2n=16'dır (Özhatay 2002).

Tunceli sarımsağı, tek dişli olması, kabuk sayısının bilinen kültür sarımsağından az (1-2 adet) olması ve başların 18-20 ^{o}C'de uzun süre saklanabilmesi gibi özellikleri nedeniyle taze tüketim yanında endüstride de kullanım şansına da sahip bulunmaktadır (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Tunceli sarımsağının (*A. tuncelianum*) baş kısmı (*Fotoğraf: Aslı Alper)*

Özhatay ve Şiraneci 1992'ye göre Tunceli sarımsağının (*A. tuncelianum*), 25-60 cm uzunluğunda çiçek sapı, açık mor renkli çiçekleri, kapsül şeklinde meyveleri, 1-2 mm çapında 3 köşeli ve üzeri buruşuk tohumları vardır (Şekil 1.3). Ayrıca başlar üzerinde henüz tam olarak tanımlanamayan küçük diş benzeri yapılar bulunmaktadır (Şekil 1.4). Tunceli sarımsağını kültüre alma çalışma kapsamında yürütülen arazi denemelerinde 135 cm uzunluğundaki çiçek saplarının bulunduğu bitkilere de rastlanmıştır.



Şekil 1.3 Tunceli sarımsağına (*A. tuncelianum*) ait çiçek ve tohumların görünümü *(Fotoğraf: Ruhsar Yanmaz)*



Şekil 1.4 Tunceli sarımsağında (*A. tuncelianum*) başlar üzerinde bulunan küçük diş benzeri yapılar *(Fotoğraf: Ruhsar Yanmaz)*

Ülkemizde birçok endemik bitki türü doğadan toplanarak kullanılmaktadır. Bilinçsiz ve aşırı miktarda yapılan doğal sökümler sonucu bu bitkilerin büyük bir çoğunluğunun nesli tükenme tehlikesinde olup, değişik tehlike sınıflarında yer almaktadır. Tunceli sarımsağı da kimyasal yapısının kültür sarımsağına (*A. sativum)* benzer olması nedeniyle (Taşkın vd. 1997) yöre halkı tarafından dağlardan toplanarak 'Kaya sarımsağı' adı altında satışı yapılmakta ve ticari ürün olarak kullanılmaktadır. Bitki, endemik olması ve Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'nda zarar görebilir bitkiler grubunda kabul edilmesi nedeniyle korunması gereken bitkiler içinde değerlendirilmektedir (Ekim vd. 2000).

Tunceli sarımsağında bugüne kadar türün teşhisi dışında bir çalışmaya rastlanmamıştır. Birleşmiş Milletler kalkınma programında yer alan küçük ölçekli projeler kapsamında (GEF) yürütülmeye başlanan kültüre alma çalışmaları ile bitkinin değişik organlarından, başlar, baş üzerinde bulunan diş benzeri yapılar ve tohumlar kullanılarak hem yöre halkına hizmet hem de türün kültüre alınmasını sağlama çalışmaları başlatılmıştır. Bu çalışma kapsamında hızlı çoğaltma tekniklerinin kullanılması da hedeflenmiştir (Anonim 2003). Sarımsaklarda doku kültürü teknikleri ile çoğaltma konusunda yapılan araştırmalarda kök ve sürgün ucu kültürlerinden yararlanılabildiği görülmüştür (Gülşen ve Yanmaz 1995, Haque *et al.* 1997, Ferol *et al.* 2002)**.**

Burada sunulan çalışmanın amacı, ülkemize özgü bu türü (*A. tuncelianum* (Kollman), N. Özhatay, D. Matthew, Ş. Şiraneci) hızlı çoğaltma tekniklerinden kök ucu kültürü ve sürgün ucu kültürü yöntemleriyle çoğaltabilme olanaklarını belirlemektir. Böylece hem ileride yapılacak çalışmalara destek olabilecek *in vitro* çoğaltma protokolü ortaya konulacak hem de ülkemizin önemli bir gen kaynağının korunmasına yardımcı olunacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Allium türleri üzerine çok sayıda doku kültürü çalışmaları yapılmıştır. Doku kültürü ile *Allium* türlerinde **sürgün veya kök ucu** (Abo *et al.* 1977, Bhojwani 1980, Gülşen ve Yanmaz 1995, Matsuda and Adachi 1996, Haque *et al.* 1997, Myers and Simon 1998, 1999, Garcia and Vargas 2000, Fereol *et al.* 2002, Roksana *et al.* 2002, Haque *et al.* 2003, Humberto *et al.* 2004, Martin – Urdiroz *et al.* 2004), **gövde ve yaprak parçaları** (Abo El-Nil 1977, Xue *et al*. 1991, Ayabe and Sumi 1998, Sata *et al.* 2001, Fereol *et al*. 2002, Kim *et al*. 2003, Mukhopadhyay *et al*. 2005), **olgun ve olgunlaşmamış embriyolar** (Song and Peffley 1994), **tohum (**Saker 1997), **embriyonik kalluslar** (Buiteveld *et al*. 1994), **anterler** (Park and Guen 1994) kullanılarak temiz, hızlı, sağlıklı bitki elde edilme olanakları araştırılmıştır.

2.1 Kök Kültürü Çalışmaları

Haque *et al.* (1997), sarımsakta (*A. sativum*) büyümeyi düzenleyici tipi ve dozu, temel besin ortamı ve köklerin alındığı bitki yaşının kök ucu kültürü yoluyla sürgün elde etmedeki etkisini ortaya koymak amacıyla yürüttükleri çalışmada, en uygun büyümeyi düzenleyici kombinasyonunu 1 µM (0.2 mg/l) NAA (Naftalenasetik asit) + 10 µM (2 mg/l) BA (Benziladenin) olarak belirlemişlerdir. Bu kombinasyonda kök uçlarının %75'i sürgün oluşturmuştur. Sarımsak başlarının dikiminden 15-18 gün sonra alınan kök uçlarından daha hızlı sürgün oluşmuştur. MS (Murashige and Skoog 1962) ortamında kök başına 10 sürgün elde edilirken, B5 (Gamborg *et al.* 1968) ortamında sürgün sayısı daha fazla olmasına karşılık, daha cılız sürgünler elde edilmiştir. Hormonsuz besin ortamlarında köklenme meydana gelmiş, köklenen bitkiler dış koşullara başarılı bir şekilde alıştırılmış ve dış görünüş yönünden bitkiler arasında önemli farklılıklar görülmemiştir. Geliştirilen yöntemin sarımsak üretiminde başarıyla kullanılabileceği belirtilmiştir.

Fereol *et al.* (2002), sarımsakta (*A. sativum*) somatik embriyo oluşturma ve bitki çoğaltma konusunda protokol geliştirmek amacıyla yürüttükleri araştırmada, genç yaprak ve kök kısımlarından *in vitro* koşullarda kallus elde etmeyi denemişlerdir.

Yaprak parçalarından daha az miktarda kallus elde edilmesine rağmen, embriyonik kapasitenin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. B5 ortamında 2 ay sonunda 0.1 mg/l 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetik asit) + 0.5 mg/l kinetin kombinasyonunda %75 oranında globular aşamada embriyo elde edilmiştir. BDS (Basal Dunstan and Short) ortamında ise BA'nın 0.3 mg/l'lik dozunda embriyoların %30'u bitkiye dönüşüp, sürgün ve kök oluşturmuştur. Bitkiler sera koşullarına aktarılabilmiştir.

Haque *et al.* (2003), sarımsakta (*A. sativum*) 2,4- D (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/l) ile BA (0, 0.5, 1.0 mg/l) kombinasyonlarının *in vitro* koşullarda çoğalmaya etkisini inceledikleri çalışmalarında bitki parçası olarak kök ucu, gövde ve yaprak parçası kullanmışlardır. Çalışma sonucuna göre, en fazla kallus gelişimi yaprak parçaları ile yüksek oranda 2,4 – D ve BA bulunan (2.0 mg/l 2,4- D + 1.0 mg/l BA) ortamlardan alınmıştır (%80). Gövde parçalarından ve kök ucundan aynı ortamda %75 ile %70 oranında kallus oluşumu görülmüştür. Kalluslarda en yüksek çoğalma oranı (% 80) üç parçadan da MS + 2,4-D (2.0 mg/l) + BA (0.5 mg/l) bulunan ortamdan elde edilmiştir. Bitkiler dış koşullara başarıyla aktarılmış ve %40-60 oranında sağlıklı bitki elde edilmiştir.

Martin *et al.* (2004), tarafından sarımsakta (*A. sativum*) gerçekleştirilen kök kültürü çalışmasında sürgün çoğalma oranına ortam ve ışık koşullarının etkisi incelenmiş ve çalışmada kök uçları, üç farklı ortamda (A3: B5+0.03 mg/l 2,4-D+2 mg/l NAA+3 mg/l BA, B4: B5+2 mg/l NAA+3 mg/l BA, H: MS + 0.2 mg/l NAA+2.2 mg/l BA) 16/8 saat (ışık/karanlık) ve karanlık koşullarda kültüre alınmıştır. Çalışma sonucunda, kök uçlarında en fazla kallus oluşumu B4 ortamında meydana gelmiştir (%64). Bunu %41 ile A3 ve %37 ile H ortamı izlemiştir. Kardeşlenme açısından ortamlar karşılaştırıldığında H ortamında kardeş oluşumu görülmezken en fazla kardeşlenme A3 ortamında (%50) ve kallusların ışık altında tutulduğu uygulamalardan elde edilmiştir. Ayrıca ışık altında köklerdeki rejenerasyonun karanlıktaki köklere göre genellikle daha iyi olduğu belirlenmiştir.

2.2 Sürgün Ucu ve Meristem Kültürü Çalışmaları

Bhojwani (1980), sarımsakta (*A. sativum*) virüsten arındırılmış bitki elde etmek amacıyla 5-8 mm uzunluğundaki sürgün uçlarını B5 ortamında 2iP (6-dimetilaminopurin) ve NAA'in çeşitli konsantrasyonlarının bulunduğu ortamlara dikmiştir. Dikimden 14 gün sonra sürgün uçlarında kardeşler görülmeye başlamıştır. Maksimum kardeş sayısı (6 adet/bitki) 6. haftada 0.5 mg/l 2iP + 0.1 mg/l NAA bulunan ortamlarda belirlenmiştir. Alt kültür sayısı arttıkça bitkilerde baş oluşumunda çoğalma ve kardeşlenme sayısında azalma görülmüştür. Kardeş sayısının artmasında, sitokinin-oksin kombinasyonlarının birlikte kullanılmasının daha etkili olduğu belirlenmiştir. En düşük kardeş sayısı sadece oksin bulunan (NAA) ortamlarda görülmüştür. En iyi köklenme ortamının B5 + 0.2 mg/l NAA + 0.01 mg/l 2iP olduğunun belirlendiği araştırmada, NAA dozundaki artış (0.5 mg/l) köklenme oluşumunu azaltmıştır (%56.5). Deneme sonucunda %70 oranında sağlıklı bitki elde edilmiştir.

Gülşen ve Yanmaz (1995), kültür (*A. sativum*) ve yabani sarımsakların (*A. longicuspis*) doku kültürü yöntemiyle çoğaltımında ortam pH'sı, ortama katılan agar ve şeker miktarı, farklı oksin ve BA kombinasyonları ile ortam bileşiminin etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları denemelerin sonucunda; kültür sarımsağının (*A. sativum*) sürgün ucu kültürü ile çoğaltımında sürgünlerin MS ortamında B5 ortamına göre daha iyi geliştiklerini belirlemişlerdir. Yine aynı çalışmada en uygun oksin (IBA (İndolbütirik asit), IAA (İndolasetik asit), NAA, 0.1, 0.5 mg/l) ve sitokinin (BA, 0.1, 0.5 mg/l) kombinasyonu belirlenmiş, bu kapsamda NAA ve IAA katılmış ortamlarda kardeş verme oranının düşük olduğu görülmüş ve en yüksek kardeş verme oranı %60 ile 0.5 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA kombinasyonundan elde edilmiştir. Bunu yine IBA'ın 0.1 mg/l dozunun 0.1 mg/l BA ile olan kombinasyonu ve oksinsiz 0.1 mg/l BA bulunan kontrol uygulamaları izlemiştir (%53). Aynı şekilde en fazla toplam kardeş sayısı 0.1 mg/l BA+0.1 mg/l IBA ve oksinsiz kontrol uygulamalarından alınmıştır. Bu uygulamaları kardeş verme oranı düşük olmasına rağmen IBA'in 0.5 mg/l'lik dozunun 0.5 mg/l BA ile olan kombinasyonu izlemiştir. Bu uygulamalarda sırasıyla 21, 20, 19 adet kardeş elde edilmiştir. Ortalama kardeş sayısı bakımından uygulamalar arasında çok önemli farklılıklar bulunmamasına rağmen en yüksek ortalama kardeş sayısı 3.8 adet ile 0.5

mg/l BA+0.5 mg/l IBA kombinasyonundan elde edilmiştir. Ortalama kardeş sayısının IAA kombinasyonlarında BA dozunun artışıyla azaldığı diğerlerinde ise önemli farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir. BA'in 0.1 ve 0.5 mg/l dozlarını içeren oksinsiz ortamlarda ortalama sürgün sayısı 2.5 ve 1.5 adet olarak bulunmuştur. Farklı oksin (IBA, IAA, NAA, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l) ve BA (2 ve 3 mg/l) kombinasyonlarının Kastamonu ve Edirne sarımsaklarında kardeş verimine etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları deneme sonuçlarına göre, Kastamonu sarımsağı ile yapılan çalışmalarda en fazla toplam kardeş sayısı (25.1 adet) ve ortalama kardeş sayısı (8.3 adet) 2 mg/l NAA+3 mg/l BA bulunan ortamlardan elde edilmiştir. BA bulunan ortamlarda oksinlerin etkileri ayrı ayrı incelendiğinde NAA'lı uygulamalarda toplam kardeş sayısı 5.7-25.1 adet arasında değişiklik gösterirken, IAA'lı uygulamalarda 6.7-20.1 adet arasında değişiklik göstermiştir. Bu değerler IBA+BA kombinasyonlarında diğer oksinlere göre düşük bulunmuştur (5.3-13.6 adet). Farklı oksin ve BA dozlarının Edirne sarımsaklarında da kardeş verimi üzerinde etkili oldukları belirlenmiştir. Uygulamalar arasında en yüksek toplam ve ortalama kardeş sayısı 22.1 ve 7.4 adet değeri ile 2.0 mg/l IAA+2.0 mg/l BA kombinasyonundan alınmıştır. Bunu 20.1 ve 6.7 adetle 0.5 mg/l IAA+3.0 mg/l BA kombinasyonu izlemiştir. Oksinler birbirleriyle karşılaştırıldığında kardeş sayısını artırma yönünden IAA ve NAA'in daha etkili olduğu belirlenmiştir. IAA ve BA kombinasyonlarında toplam kardeş sayısı 8.3-22.2 adet arasında değişiklik gösterirken bu sayı NAA'lı uygulamalarda 5.0-17.3 adet arasında değişiklik göstermiştir. Bu değerler IBA ve BA kombinasyonlarında oldukça düşük bulunmuştur (3.0-9.3 adet) Edirne sarımsağında sürgün ucu kültürü ile çoğaltma çalışmalarında farklı şeker tipleri ve dozlarının sürgün sayısı üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre, enerji kaynağı olarak sakkarozun yerine glikozun da kullanılabileceği, en yüksek ortalama kardeş sayısının glikozun %5'lik dozundan alındığı belirlenmiştir (4.4 adet). Buna karşılık sürgün gelişme durumu dikkate alındığında sakkarozun %3 ve %4'lük dozları daha etkili bulunmuştur. Kardeş veriminde en uygun agar miktarı ve pH düzeyini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın sonucuna göre, ortama katılan agar miktarı arttığında kardeş boylarının kısaldığı ve kardeş veriminin azaldığı, en uygun agar miktarının %0.6 ve %0.7'lik dozlar olduğu belirlenmiştir. Kardeş sayısında pH derecelerinin değişimi ile önemli farklılıklar belirlenmemişse de en yüksek ortalama kardeş sayısı 4.6 adet ile pH'nın 5.4 olduğu ortamlardan alınmıştır. Bunu, 3.2 adet ile

pH'nın 5.8 olduğu ortam izlenmiştir. En düşük kardeş sayısı (2.0 adet) pH'sı 5.2 olan ortamdan alınmıştır. Tunceli ilinden temin edilen *A. longicuspis*'in (daha sonra *A. tuncelianum*'la aynı bitki olduğu tespit edilmiştir) *in vitro* koşullarda çoğaltılması amacıyla yaptıkları çalışmada baş iriliklerinin kardeş verimine etkili olduğu belirlenmiştir. Ortalama kardeş sayısı küçük başlarda (4.1 adet), orta (3.3 adet) ve büyük (3.0 adet) başlara oranla daha yüksek olmuştur. Kardeş verimi bakımından orta irilikteki başlardan % 52 oranında kardeş elde edilebilirken. bu oran küçük başlarda % 25, büyük başlarda % 12 düzeyine inmiştir. Çalışmanın esas amacını oluşturan Tunceli sarımsağının *(A. tuncelianum)* çoğaltımı ile ilgili denemelerde bazı başlarda hiç kardeş görülmezken bazı sürgünlerde ise kardeş sayısının 14'e çıktığı belirlenmiş, ancak enfeksiyon nedeniyle istenilen sonuçlar alınamamıştır.

Garcia and Vargas (2000), 4 farklı sarımsak (*A. sativum*) çeşidinde, meristem dokularından sürgün çoğaltmak amacıyla yaptıkları araştırmada, MS ortamına katılan NAA+BA ve NAA+2iP kombinasyonlarının etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda kardeş sayısı çeşitlere göre 1.83 ile 3.85 adet arasında değişim göstermiş, en iyi sonuçlar 0.5 mg/l 2 iP ve 0.2 mg/l NAA kombinasyonundan elde edilmiştir.

Roksana *et al.* (2002), sarımsakta (*A. sativum*) sürgün ucu kültüründen baş elde edilmesi amacıyla yaptıkları çalışmada 0.2-0.3 mm uzunluğundaki sürgün uçlarını MS ortamında 2iP, BA, kinetin (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/l) ile NAA ve IAA (0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.5 mg/l) kombinasyonlarının bulunduğu sıvı ve yarı sıvı ortamlarda kültüre almışlardır. En yüksek kardeşlenme oranı dikimden 3 hafta sonra 0.5 mg/l 2iP + 0.25 mg/l NAA (9.8 ± 1.2) bulunan ortamdan elde edilmiştir. Bunu 7.9±0.9 ile 1.5 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA bulunan ortam izlemiştir. Bu sonuca göre düşük orandaki 2iP+NAA, yüksek kardeşlenme oranında daha etkili olmuştur. Büyümeyi düzenleyici bulunmayan ortamda kardeşlenme meydana gelmemiştir. 4. alt kültürde ilk baş oluşumu yine 0.5 mg/l 2iP + 0.25 mg/l NAA bulunan ortamda olurken, diğer kombinasyonlarda baş oluşumu 5.-7. alt kültürlerde görülmüştür. En düşük baş oluşumu 7. alt kültürde 1.0 mg/l kinetin bulunan ortamda meydana gelmiştir. Çalışma sonuçlarına göre erken kardeşlenme açısından sitokininlerin tek kullanılması yerine sitokinin-oksin kombinasyonlarının daha etkili olduğu ve sıvı ortamlarda

kardeşlenmenin daha erken başladığı görülmüştür. Başlı sürgünler dış koşullara başarıyla aktarılmıştır.

Humberto *et al.* (2004), sarımsakta (*A. sativum*) 5 çeşitle yapılan sürgün ucu kültürü çalışmasında NAA, IAA, IBA (0.05, 0.1 mg/l) ile kinetin (0.1 mg/l) kombinasyonlarını denemişlerdir. Çalışma sonucuna göre, en yüksek kardeşlenme oranı %89 ile NAA (0.1 mg/l) + kinetin (0.1 mg/l) bulunan ortamda meydana gelmiştir.

2.3 Yaprak Kültürü Çalışmaları

Abo El-Nil (1977), sarımsakta (*A. sativum*) kallus kültürü kullanarak organogenesis ve embriyogenesis yoluyla bitki elde etmek için etkili büyümeyi düzenleyici konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada gövde, yaprak diskleri ve sürgün ucu parçalarını kullanmıştır. Çalışma sonucunda, AZ ortamına kallus oluşumu için konulan her üç bitki parçasından da yüksek oksin ve düşük sitokinin konsantrasyonlarında (10 µM (2 mg/l) p-CPA (p-klorofenoksiasetik asit) + 2 µM (0.4 mg/l) 2,4-D + 0.5 µM (0.1 mg/l) kinetin) %55, % 83 ve % 10 oranında kallus oluşumu görülmüştür. Meydana gelen kalluslar değiştirilmiş AZ ortamında (18 µM (3.6 mg/l) Amonyum azotu ve 40 µM (8 mg/l) Nitrat azotu) 10 µM (2 mg/l) kinetin ile 10 µM (2 mg/l) IAA bulunan ortamda sürgün oluşturmuşlardır. Kinetin dozundaki artış ve uzun süreli (1 aylık) kültür koşularında (20 µM (4 mg/l) kinetin + 10 µM (2 mg/l) IAA) sürgünlerde farklılaşma ve embriyoid oluşumu meydana gelmiştir. Araştırma sonucunda sitokinin ve oksin dengesinin organogenesis ve embriyogenesis çalışmalarında iyi ayarlanması gerektiği vurgulanmıştır.

Kim *et al.* (2003), sarımsak (*A. sativum*) kalluslarından sürgün elde etmek ve *in vitro* ortamda diş oluşumunu sağlamak amacıyla yürüttükleri araştırmada, yaprak parçalarını kullanmışlar ve farklı büyümeyi düzenleyici konsantrasyonları ve şeker dozlarının etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, en fazla kallus MS ortamında 1.0 mg/l 2,4-D, 30 g/l sakkaroz ve 8 g/l agar katılmış ortamlardan alınmıştır. 3.0 mg/l kinetin+3.0 mg/l NAA ve 30 g/l sakkaroz kombinasyonunda kalluslardan daha fazla sürgün elde edilmiştir. Jasmonik asit dozunun 0.5 mg/l'den 2.0 mg/l'ye çıkarılmasıyla

diş oluşumu artmış, buna karşılık JA diş oluşumunu engellemiştir. En yüksek diş oluşturma oranı (%96), 25 ^{o}C sıcaklıkta 2 ay sonunda 2.0 mg/l Jasmonik asit ve 120 mg/l sakkaroz, katılmış ortamdan elde edilmiştir. Aynı araştırmada sürgün verimi ve soğan oluşumu sıvı kültür koşullarında incelenmiştir. Bu amaçla *in vitro* ortamda sürdürülmüş sürgünler, %2 (w/v) sakkaroz ve 0.5 mg/l 2-İP katılmış MS ortamına dikilmiştir. Sürgünler yarı katı, sıvıya daldırma ve köprülü sistemle dikilmiş ve diğer ortamlarla karşılaştırılmıştır. Dikim sistemleri içinde sıvı kültürde sürgün çoğalma oranında artış görülmüştür. Sıvı ortamlarda farklı şeker konsantrasyonlarının (%2-13) soğancık oluşumu ve gelişimi üzerine etkilerinin belirlendiği araştırma sonucunda da %11 (w/v) sakkaroz bulunan ortamlarda en fazla soğancık oluşumu gözlenmiştir. 9 hafta sonunda ölçülen en fazla çoğalma oranı 135 soğancık/bitki parçası ile 5.1 mg/l NAA + % 11 (w/v) sakkaroz + 10 µM (2 mg/l) JA katılan ortamlardan alınmıştır. Büyüme engelleyicilerden CCC (Kloroklorin klorid), B-9 (Daminozid), ABA (Absizik asit) da soğancıkların büyümesinde uyarıcı rol oynamıştır. Ayrıca karanlık ortam soğancık oluşumunu uyarıcı etkide bulunmuştur. Soğancıklarda dinlemenin kırılmasında 4 ^{o}C'de 8 hafta soğuk uygulaması etkili olmuştur.

2.4 Kallus Kültürü Çalışmaları

Ayabe and Sumi (1998), sarımsak (*A. sativum*) dişlerinden ayrılan gövde disklerinin de sarımsağın mikro çoğaltımında önemli olduğunu belirterek, hormonsuz LS (Linsmaier ve Skoog) ortamında ve 0.1 mg/l NAA ve 0.1 mg/l BA'li ortamlarda kültüre alınan gövde disklerinden 2 hafta sonunda çok sayıda sürgün ucu gelişebildiğini kaydetmişlerdir. Bununla birlikte, hormonsuz ortamlarda daha fazla (bir bitki parçasından 15'den fazla) sürgün elde edilmiştir. Ayrıca, sürgünlerin % 90'ından fazlasının soğan oluşturduğu ve rejenerasyondan önce sarımsak başlarının yaklaşık 8 hafta 4 ˚C de ön muamele yapılmasının hem sürgün oluşumunu hem de soğan oluşumunu artırdığını bildirmişlerdir.

Myers and Simon (1998, 1999), sarımsakta (*A. sativum*) kalluslardan sürgün oluşumunda klonal değişim, bitki büyüme düzenleyicileri ve kültür koşullarının etkilerini incelemişlerdir. Kallus oluşumu için B5 ortamına 4.5 µM (0.9 mg/l) 2,4-D

ilavesinin ve sürgün elde edilmesinde ise aynı ortama 4.7 µM (0.94 mg/l) picloram + 0.49 µM (0.10 mg/l) 2iP ilavesinin gerektiği belirtilmiştir. 5, 12 ve 16 ay bekletilen kallus kültürlerinde değişik büyüme düzenleyicilerin rejenerasyon potansiyeli üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 1.4 µM (0.28 mg/l) picloram + 13.3 µM (2.66 mg/l) BA uygulamasının en yüksek sürgün oluşturma oranını sağladığı ortaya konulmuştur. Kallus yaşının artması rejenerasyon oranını azaltmakla birlikte tüm klonlarda 16 aylık kallus kültürlerinden de sağlıklı bitkiler üretilebilmiştir. Kök kültürü ile yapılan çalışmalarda ise kallus yaşının (4, 6, 9, 12 aylık) artmasına paralel olarak sürgün rejenerasyonunda ve bitki parçası başına düşen sürgün sayısında azalma meydana geldiği ve sürgün rejenerasyonu yönünden en iyi sonuçların 6 ve 6 aydan daha az yaşlı kalluslardan elde edildiği belirlenmiştir.

Mukhopadhyay *et al.* (2005), soğan (*Allium cepa* var. rosette) ve sarımsakta (*A. sativum* var. rosette) genç yaprak parçalarını kullanarak yaptıkları kallus kültürü çalışmasında, yaprak parçalarını kallus oluşumu için 9.05 µM (1.81 mg/l) 2,4-D ve 0.93 µM (0.19 mg/l) kinetin bulunan ortama koyduktan 4 hafta sonra hepsinde kallus oluşumu görüldüğünü belirtmişlerdir. Oluşan kalluslar, rejenerasyon amacıyla farklı dozlarda NAA (5.37 µM (1.07 mg/l), 10.74 µM (2.15 mg/l)) ve kinetin (0.93, 4.65, 9.29 µM (0.19, 0.93, 1,90 mg/l)) bulunan sıvı MS besin ortamında kültüre alınmış ve dikimden 2 hafta sonra kalluslarda rejenerasyon başladığı görülmüştür. Her iki türde de 5.37 µM (1.07 mg/l) NAA+4.65 µM (0.93 mg/l) kinetin bulunan ortamlarda fazla sayıda sürgün (13 adet) ve kök (10 adet) meydana gelmiştir. Diğer taraftan düşük dozda sitokinin bulunan ortamlarda sürgün ve kök gelişiminin zayıf olduğu görülmüştür. Meydana gelen yeni bitkiciklerin %90'ı başarıyla dış koşullara aktarılmıştır.

2.5 Somatik Embriyogenesis Çalışmaları

Xue *et al.* (1991), sarımsakta (*A. sativum*) embriyonik kallus üretimi açısından çeşitleri karşılaştırmışlardır. Dişin dip kısımlarından alınan parçalardan 1 µM (0.2 mg/l) 2,4-D, 10 µM (2 mg/l) p-CPA ve 1 µM (0.2 mg/l) kinetin ile desteklenmiş AZ ortamında embriyonik kalluslar elde edilmiştir. Kallustan embriyo üretimi, kalluslarda alt kültür sayısı arttıkça azalmıştır. Sürgün oluşumu 1 µM (0.2 mg/l) NAA + 5 µM (1 mg/l) BA

kombinasyonunda sağlanmış, bu yönden çeşitler arasında önemli farklılıklar bulunmuştur.

Buiteveld *et al.* (1994), pırasada (*A. ampeloprasum* L.) embriyonik kallus oluşumunda ortamın ve embriyo büyüklüğünün etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada, temel besin ortamları arasında bir fark bulamamışlardır. En uygun embriyo büyüklüğünün 2.5 mm'den daha küçük embriyolar olduğu ve L-prolin miktarının artışına paralel olarak embriyonik kallus oluşumunun azaldığı belirlenmiştir.

Buiteveld and Creemers-Molenaar (1994), pırasada (*A. ampeloprasum* L.) yaptıkları çalışmada olgunlaşmamış embriyolardan embriyonik kallus oluşumunda genotipin etkisini incelemişlerdir. Üç çeşit arasından (R7, M10, M2) en yüksek kallus kökenli embriyo oranı R7 çeşidinden elde edilmiştir. Çalışma sonucunda türler arasında hatta aynı tür içinde çeşitler arasında embriyonik kallus oluşumunun farklılık gösterdiği belirtilmiştir.

Matsuda and Adachi (1996), *A. tuberosum*'da dört farklı çeşitte somatik embriyogenesis yoluyla bitki elde etmek amacıyla yaptıkları çalışmada embriyo oluşumunun çeşitlere göre değiştiğini belirterek Green-Belt ve Giant-Belt çeşitlerinde somatik embriyo oluşumu görülmezken, Super-Green Belt ve Wild-Green çeşitlerinde %54.7 ve %30.1 oranında somatik embriyo oluşmuştur. Aynı çalışmada çeşit yanında farklı konsantrasyonlardaki 2,4-D'nin kallus oluşumuna etkisi araştırılmış ve çalışma sonucunda 5.0 mg/l 2,4-D bulunan ortamda embriyonik kallus oluşumu görülürken, 2.0 mg/l 2,4-D bulunan ortamda kallus oluşumu görülmemiştir. 0.2 mg/l 2,4-D bulunan ortamda sadece nodul şeklinde kallus oluşumu görülürken, 0.5 mg/l 2,4-D bulunan ortamda ise nodul şeklindeki kalluslardan anormal sürgünler meydana gelmiştir. Somatik embriyolardan bitki rejenerasyonunda da ortam bileşimi etkili olmuş ve somatik embriyo oluşumunun görüldüğü her iki çeşitte de ½ MS + 1.0 mg/l kinetin ve 1.0 mg/l GA_3 ortamından daha iyi sonuç alınmıştır.

Saker (1997), soğanda *(A. cepa)* tohumdan kallus oluşumu ve somatik embriyo elde etmek amacıyla 2,4 D'nin 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mg/l dozlarının 1.0 mg/l

kinetinle olan kombinasyonlarını denemiştir. En yüksek embriyonik kallus oluşumu (% 60) 2.0 mg/l 2,4-D bulunan ortamdan elde edilmiştir. Elde edilen embriyonik kallusların rejenerasyonunda ise en uygun ortam (%50), MS + 1.0 mg/l kinetin olarak belirlenmiştir.

Sata *et al.* (2001), sarımsağın (*A. sativum*) mikro çoğaltımında daha pratik ve fazla sayıda bitki elde etmek için *in vitro* teknikler geliştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada sarımsak dişlerin dip kısımlarından aldıkları dokulardan somatik embriyo oluşumu için, farklı büyüme düzenleyicilerin (0.0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/l kinetin ile 0,0 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/l 2,4-D), temel besin ortamının (White's) ve bitkicik tipinin etkisini araştırmışlardır. En iyi büyümeyi düzenleyici kombinasyonu olarak %60 somatik embriyo oluşumu sağlayan 1.0 mg/l 2,4-D ve 0.5 mg/l kinetin kombinasyonu belirlenmiştir.

2.6 Hücre Süspansiyon Kültürü Çalışmaları

Song and Peffley (1994), *A. fistulosum*'un süspansiyon kültüründe bitki büyümeyi düzenleyicilerin hücre canlılığına etkisini inceledikleri çalışmada, en yüksek hücre canlılığı %45 ile 2 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l ABA bulunan ortamlardan elde edilmiştir. Ortamda BA bulunması hücre canlılığını azaltmıştır. Süspansiyon kültürü yoluyla bitki rejenerasyonunda tüm kombinasyonlarda sürgün rejenerasyonu kök rejenerasyonuna göre daha düşük olmuştur. Rejenerasyonda en iyi ortamın 2 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l ABA olduğu belirlenmiştir.

2.7 Anter Kültürü Çalışmaları

Park and Guen (1994), tarafından yürütülen sarımsakta (*A. sativum*) anter kültürü çalışmalarında ön uygulamaların kallus gelişimine etkisini belirlemek amacıyla, anterlere 12 farklı ön uygulama (-70 ^{o}C /4 dakika, 0 ^{o}C/12 saat, 0 ^{o}C/ 2 gün, 0 ^{o}C/ 4 gün, 5 ^{o}C/ 12 saat, 5 ^{o}C/2 gün, 5 ^{o}C/4 gün, 20 ^{o}C/18 ^{o}C, 35 ^{o}C/12 saat, 35 ^{o}C/2 gün, 35 ^{o}C/4 gün, 80 ^{o}C/10 dak.) yapılmıştır. Ön uygulamalar arasından sadece 5 ^{o}C'de 2 gün

bekletme iyi sonuç vermiştir. Çok yüksek (35 ^{o}C, 80 ^{o}C) ve çok düşük (-70 ^{o}C) sıcaklık uygulamalarında anterlerde, kallus oluşumu görülmemiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırma 2003-2005 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuarında ve TAEK Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi Doku Kültürü Laboratuarında yürütülmüştür.

3.1 Materyal

Araştırmada materyal olarak Tunceli-Munzur Dağı'nın Ovacık ilçesinden ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü deneme arazilerinden toplanan tek dişli başlar kullanılmıştır (Şekil 3.1). Tunceli'den başların temininde ortak proje yürütülen Ulaşılabilir Yaşam Derneği'nden (UYD) yardım alınmıştır.

3.2 Yöntem

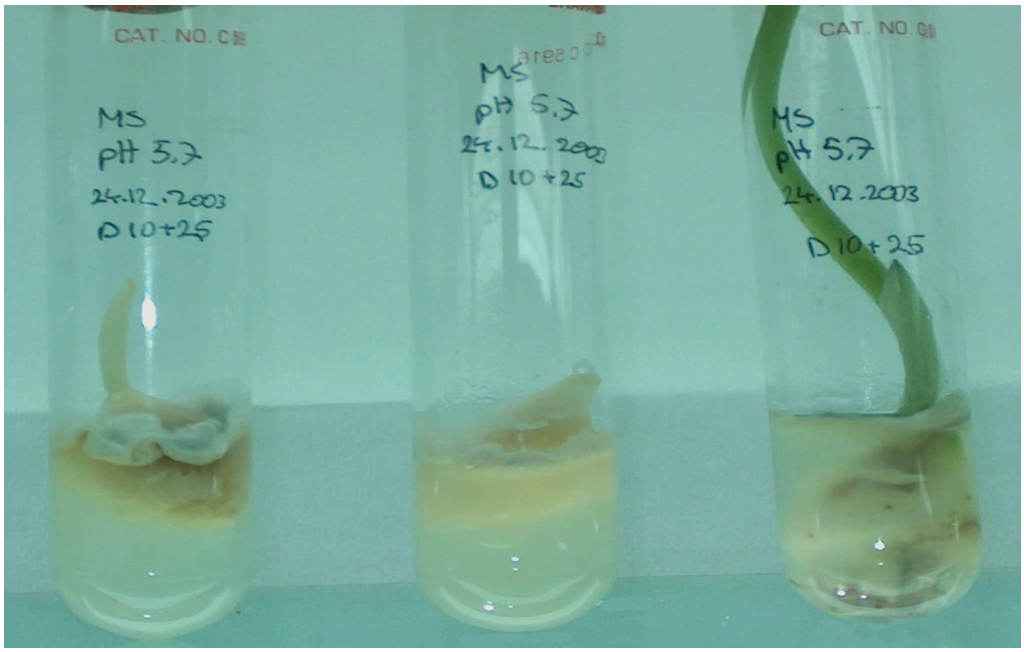
Yapılan kaynak taramalarında *A. tuncelianum*'a özgü bir yayına rastlanmadığı için doku kültürü ile çoğaltma çalışmalarında son yıllarda sarımsakta (*A. sativum*) başarılı olduğu belirtilen kök ucu kültürü ile sürgün ucu kültürü yöntemlerinden yararlanılmıştır.



Şekil 3.1 Bitki materyali olarak kullanılan Tunceli sarımsağına (*A. tuncelianum*) ait başların görünümü *(Fotoğraf:Gülay Beşirli)*

3.2.1 Bitki parçalarının hazırlanması

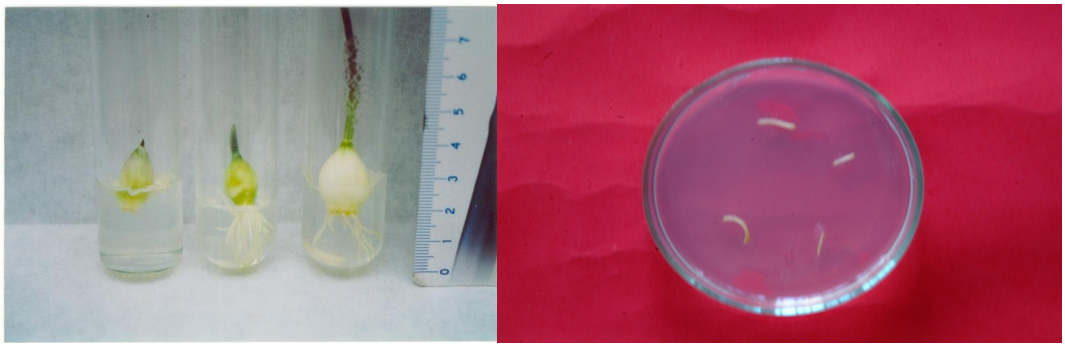
Doğadan toplanan Tunceli sarımsağı başlarında irilik yönünden bir örneklik olmaması nedeniyle denemede orta irilikteki başlar kullanılmıştır (Gülşen ve Yanmaz 1995). Yapılan ön denemelerde materyalin bulaşık olmasının belirlenmesi nedeniyle (Şekil 3.2) bir seri dezenfeksiyon denemesi yapılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda enfeksiyonu engelleme açısından 2 aşamalı dezenfeksiyon (%10'luk sodyum hipoklorit solüsyonunda 10 dakika + 3 defa steril suyla 5'er dakika çalkalama + başların kabukları soyulduktan sonra %70'lik alkolde 30 saniye + tween 20 katılan %25'lik sodyum hipokloritte 25 dakika) ve antibiyotik (250 mg/l penicilin ve 250 mg/l streptomisin) uygulamaları etkili bulunmuştur. Denemenin diğer aşamalarında bu dezenfeksiyon yöntemi kullanılmıştır.



Şekil 3.2 Tunceli sarımsağında dikilen sürgünlerdeki enfeksiyonun görünümü *(Fotoğraf: K. Yaprak Kantoğlu)*

3.2.2 Kök ucu kültürü denemeleri

Kallusların Elde Edilmesi: 18 gün yaşlı bitkilerden alınan yaklaşık 5 mm uzunluğundaki kök uçları besin ortamına dikilmiştir (Haque et al.1997) (Şekil 3.3)



Şekil 3.3 Tunceli sarımsağına (*A. tuncelianum*) ait 18 gün yaşlı bitkiler ve bu bitkilerden alınan kök uçları *(Fotoğraf:Ruhsar Yanmaz)*

Besin Ortamı ve Kültür Koşulları: Denemede kullanılan besin ortamlarının belirlenmesinde Haque *et al.* 1997, 2003, Myers and Simon 1998, 1999, Fereol *et al.* 2002, Martin *et al*. 2004'den yararlanılmış ve Çizelge 3.1' de belirtilen BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonları kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Tunceli sarımsağında *(A. tuncelianum)* kök kültürü denemesinde kullanılan temel besin ortamı ve hormon kombinasyonları

BA (mg/l)	**2,4-D (mg/l)**	**NAA (mg/l)**
0.0	0.0	0.0
0.1	1.0	1.0
1.0	2.0	2.0
MS (Murashige and Skoog 1962) temel besin ortamı, 30 g/l sakkaroz, 6 g/l agar, 500 mg/l antibiyotik (250 mg/l penicilin ve 250 mg/l streptomisin), pH 5.6		

Kök dokularından hazırlanan kök parçaları her petride 5'er kök ucu olacak şekilde dikilmiş ve 25±1 ^{0}C 'de karanlık koşullarda kültüre alınıp 1 ay sonra floresan ışığı altında 16 saat aydınlık/8 saat karanlık olacak şekilde aydınlık koşullara alınmıştır. Kök ucu kültürü çalışmaları iki kez tekrar edilmiştir.

3.2.3 Sürgün Ucu Kültürü Denemeleri

Sürgün Ucu Kültürlerinin Kurulması: Dezenfeksiyonu tamamlanan başlar, binoküler mikroskop altında açılarak baş üzerindeki kabuk ve depo yaprakları kesilerek

uzaklaştırılmış, daha sonra 0.5-1.0 cm uzunluğunda 1-2 yaprak taslağı taşıyan büyüme konisi ile birlikte Çizelge 3.2'de belirtilen ortamlara dikilmiştir.

Besin Ortamı ve Kültür Koşulları: Denemede kullanılan besin ortamlarının belirlenmesinde Abo *et al.* 1977, Bhojwani 1980, Gülşen ve Yanmaz 1995, Garcia and Vargas 2000, Roksana *et al.* 2002, Humberto *et al.* 2004'nın yaptığı araştırmalardan yararlanılmış ve kardeşlenme amacıyla birbiri ardına iki deneme yapılmıştır. Denemelerde kullanılan ortam ve BA + IAA, BA + NAA kombinasyonları Çizelge 3.2'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2 Tunceli sarımsağında *(A. tuncelianum)* sürgün ucu kültürü denemelerinde kullanılan ortam ve hormon kombinasyonları

1. Deneme			**2. Deneme**		
BA (mg/l)	**NAA(mg/l)**	**IAA(mg/l)**	**BA(mg/l)**	**NAA(mg/l)**	**IAA(mg/l)**
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.05	0.1	0.1	0.01	0.1	0.1
0.1	0.5	0.5	0.025	0.5	0.5
			0.05		
			0.1		
MS (Murashige and Skoog 1962) temel besin ortamı, 30 g/l sakkaroz, 6 g/l agar, 500 mg/l antibiyotik (250 mg/l penicilin ve 250 mg/l streptomisin), pH 5.6					

Her kombinasyon için kullanılan 8 tüpten 5 tanesine antibiyotik olarak 250 mg/l penicilin ve 250 mg/l streptomisin ilave edilmiş, 3'er tüpe de antibiyotik katılmamıştır. Böylece başlangıç ortamına katılan antibiyotiğin, sürgün dikiminden sonra da etkisini devam ettirip ettirmeyeceği ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Dikimden 1 ay sonra elde edilen kardeşlerle 1. alt kültür denemeleri kurulmuştur. Daha sonra 2'şer hafta arayla 4 alt kültür yapılmıştır.

Baş Oluşturma: Sürgünler, NAA (0, 0.1 mg/l), 30 g/l sakkaroz, 6 g/l agar katılmış ve pH'sı 5.6'ya ayarlamış MS (Murashige and Skoog 1962) besin ortamına dikilmiş ve

daha önce belirtilen kültür koşullarına alınmıştır (Bhojwani 1980, Roksana *et al.* 2002). Dikimden 1 ay sonra baş oluşturma oranı belirlenip baş oluşumu görülen sürgünler köklenme ortamına alınmıştır.

Köklendirme: Baş oluşturmuş sürgünler ayrılarak NAA (0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l), 30 g/l sakkaroz, 6 g/l agar katılmış ve pH'sı 5.6'ya ayarlamış MS besin ortamı içeren tüplere dikilerek iklim odasına alınmıştır. Köklenme sonrası bitkiler torf doldurulmuş viyollere transfer edilip, aydınlatmalı, sıcaklığı 25 ^{o}C'ye ayarlanmış iklim odasına aktarılmıştır.

Dış Koşullara Alıştırma: Köklenme denemeleri sonunda elde edilen köklü bitkiler torf doldurulmuş viyollere dikilip 1 ay iklim odasında bekletildikten sonra iklim odasından çıkarılıp açık havada yarı gölge ortama konulmuştur.

3.3 Araştırmada Elde Edilen Bulguların Değerlendirilmesi

Tüm denemeler 'Tesadüf Parseli Deneme Deseni'ne göre kurulmuştur. Elde edilen veriler, SPSS istatistik paket programında analiz edilmiş ve elde edilen varyans analizlerine ait bulgular p=0.01 hata sınırları içinde değerlendirilmiştir. Buradan elde edilen bulgulara göre SPSS istatistik paket programından yararlanarak Duncan testi yapılmıştır.

3.4 Ölçüm ve Değerlendirme Şekli

Sürgün ucu kültürü denemelerinde aşağıda belirtilen ölçüm ve değerlendirmeler yapılmıştır.

Kardeşlenen sürgün sayısı (KSS): Ortamlara dikilen sürgünlerden kardeş verenlerin sayısı

Kardeşlenme oranı (KO%): Kardeşlenen sürgün sayısının dikilen sürgün sayısına oranının yüzdesi

Kardeş sayısı (KS): Kardeşlenen sürgünlerde meydana gelen kardeşlerin sayısı

Ortalama kardeş sayısı (OKS): Kardeş sayısının dikilen sürgün sayısına oranı

Baş oluşturan sürgün sayısı (BOSS): Ortama dikilen sürgünlerde baş oluşumu görülenlerin sayısı

Baş oluşum oranı (BO %): Baş oluşumu görülen sürgünlerin dikilen sürgünlere yüzde oranı

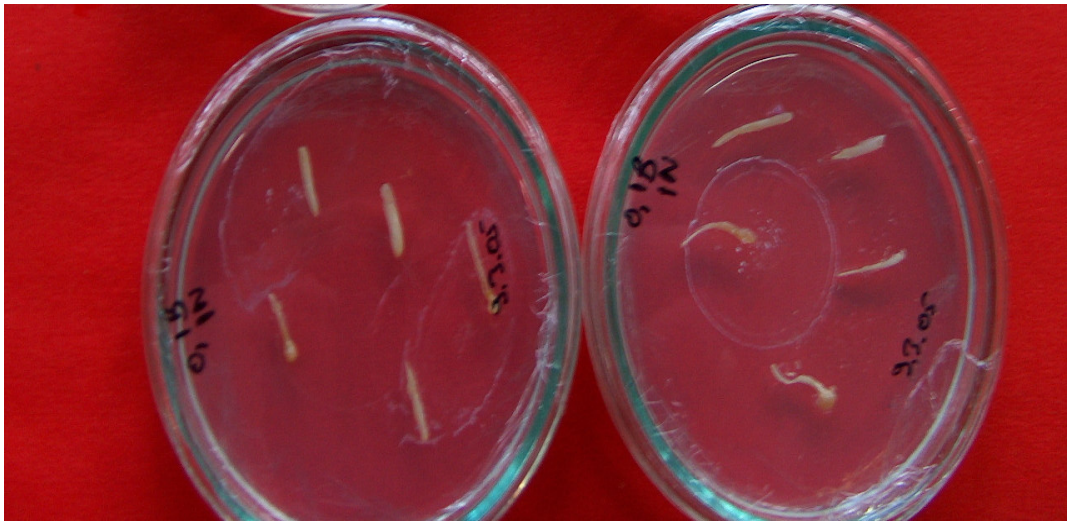
Köklü bitkilerin sayısı (KBS): Ortama dikilen başlı sürgünlerde köklenen bitkilerin sayısı

Köklü bitkilerin oranı (KBO %): Köklenen bitkilerin dikilen başlı bitkilere yüzde oranı

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Kök Ucu Kültürü Sonuçları

Tunceli sarımsağında gerçekleştirilen kök ucu kültürlerinin ilkinde tüm BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonlarında hiçbir değişim görülmemiştir. 1. denemede başarılı sonuç alınamadığından, aynı büyümeyi düzenleyici kombinasyonları ile yapılan ikinci denemede, sadece 0.1 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA kombinasyonunun bulunduğu ortamda kök uçlarında kallus oluşumu görülmüş, diğer kombinasyonların hiçbirinde kök uçlarında bir değişim görülmemiştir (Şekil 4.1). Bu kültürlerde 6. haftanın sonunda kalluslarda çok az renk değişimi görülmüş, ancak sürgün gelişimine rastlanmamıştır.



Şekil 4.1 Kök ucu kültürü denemelerinde köklerde kallus oluşumu *(Fotoğraf:Ruhsar Yanmaz)*

İki kez tekrar edilen denemelerin sonucunda Tunceli sarımsağında kök ucu kültürlerinde sürgün rejenerasyonu sağlanamamıştır.

4.2. Sürgün Ucu Kültürü Sonuçları

4.2.1 Kardeşlenme

Tunceli sarımsağında sürgün ucu kültürlerinde NAA ve IAA'in BA ile olan kombinasyonlarının kardeşlenme oranı ve ortalama kardeş sayısı üzerine etkisi 0.01 hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu bakımdan BA + Oksin kombinasyonunda 4 alt kültür sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.1 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1'deki değerler incelendiğinde, 4 alt kültür sonunda tüm BA+NAA kombinasyonları için dikilen ve enfeksiyonsuz olan 55 sürgünden toplam 34 kardeş elde edilirken BA+IAA kombinasyonunda 56 sürgünden toplam 62 adet kardeş elde edilmiştir. En yüksek kardeşlenme oranı **%76 ile 0.05 mg/l BA+0.1 mg/l IAA, %67 ile 0.1 mg/l BA ve 0.1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA**, **%65 ile 0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA, %56 ile 0.05 mg/l BA** bulunan ortamlardan alınmıştır. Bu kombinasyonlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ortalama kardeş sayısı ise en fazla **(1.0 adet) 0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA** bulunan ortam ile, **(0.9 adet) 0.05 mg/l BA ile 0.05 mg/l BA+0.1 mg/l IAA** ve, **0.1 mg/l BA ve 0.1 mg/l BA+0.1 mg/l NAA bulunan ortamlardan elde edilmiştir (0.7 adet).** (Şekil 4.2). İstatistiksel değerlendirme sonucunda bu ortamlar arasındaki fark önemli bulunmamıştır.

BA+Oksin kombinasyonları ve oksinsiz BA bulunan ortamlardan daha iyi sonuç alınmasına rağmen IAA'in yüksek dozlarında bile (0.5 mg/l) BA'siz ortamlarda %38 oranında kardeşlenmeye rastlandığı ancak 0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA kombinasyonunda bu oranın %65'e çıktığı görülmektedir.

Çizelge 4.1 Tunceli sarımsağında BA+Oksin kombinasyonlarının 4 alt kültür sonucunda toplam ve bitki başına kardeş sayısı ile kardeşlenme oranına etkisi (%)

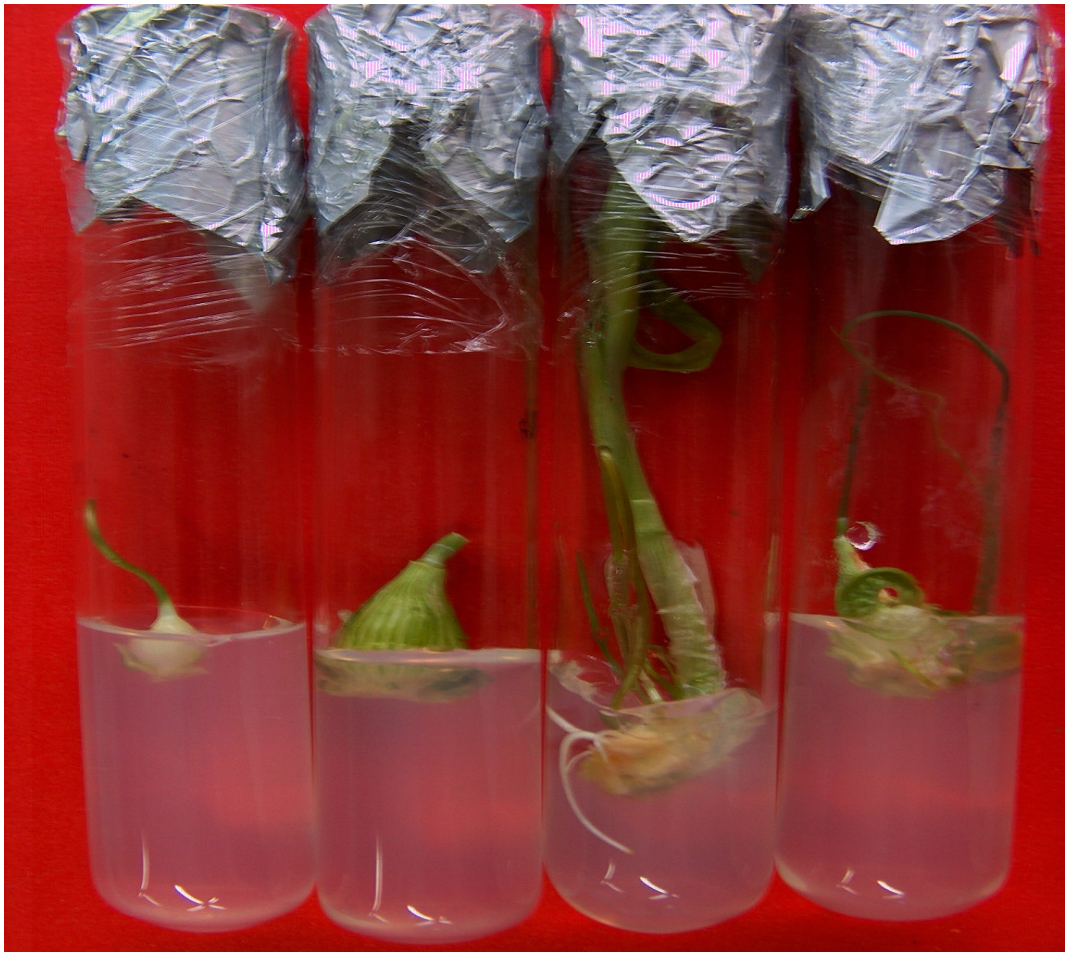
AKS		**1**			**2**			**3**			**4**			**Genel Toplam**		
BA (mg/l)		**0.0**	**0.05**	**0.1**	**0.0**	**0.05**	**0.1**	**0.0**	**0.05**	**0.1**	**0.0**	**0.05**	**0.1**	**0.0**	**0.05**	**0.1**
0.0 NAA (mg/l)	**DSS**	8	8	8	6	14	7	4	16	5	4	16	6	4*	16*	6*
		6*	7*	6*	4*	10*	3*	4*	16*	5*	4*	16*	6*			
	KSS	0	4	1	0	3	2	0	0	1	0	2	0	0	9	4
	KO	0	**57ab**	17de	0	**30bc**	**67ab**	0	0	20 de	0	13 de	0	0	**56ab**	**67ab**
	KS	0	7	1	0	6	2	0	0	1	0	2	0	0	15	4
	OKS	0	**1.0a**	0.2de	0	**0.6ab**	**0.7ab**	0	0	0.2de	0	0.1de	0	0	**0.9a**	**0.7ab**
0.1 NAA (mg/l)	**DSS**	8	8	8	5	9	10	5	11	8	5	11	9	5*	11*	9*
		5*	6*	8*	5*	9*	6*	5*	11*	8*	5*	11*	9*			
	KSS	0	2	2	0	2	2	0	0	1	0	0	1	0	4	6
	KO	0	**33bc**	25cd	0	22cd	**33bc**	0	0	13de	0	0	11de	0	36bc	**67ab**
	KS	0	3	2	0	2	2	0	0	1	0	0	1	0	5	6
	OKS	0	0.5bc	0.3cd	0	0.2de	0.3cd	0	0	0.1de	0	0	0.1de	0	0.5bc	**0.7ab**
0.5 NAA (mg/l)	**DSS**	8	8	8	7	5	7	5	5	6	5	5	7	4*	5*	7*
		6*	5*	6*	5*	4*	6*	5*	5*	6*	4*	5*	7*			
	KSS	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2
	KO	17de	0	17de	0	25cd	0	0	0	17de	0	0	0	25cd	20de	12de
	KS	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2
	OKS	0.2de	0	0.2de	0	0.3cd	0	0	0	0.2de	0	0	0	0.3cd	0.2de	0.1de
0.1 IAA (mg/l)	**DSS**	8	8	8	2	8	10	1	12	10	1	17	11	1*	17*	11*
		2*	6*	8*	1*	8*	10*	1*	12*	10*	1*	17*	11*			
	KSS	0	2	2	0	3	0	0	4	1	0	4	0	0	13	3
	KO	0	**33bc**	25cd	0	**38bc**	0	0	**33bc**	10de	0	24de	0	0	**76a**	27cd
	KSS	0	2	2	0	4	0	0	5	1	0	5	0	0	16	3
	OKS	0	0.3bc	0.3cd	0	**0.5bc**	0	0	**0.4bc**	0.1de	0	0.3cd	0	0	**0.9a**	0.3cd
0.5 IAA (mg/l)	**DSS**	8	8	8	8	12	8	8	16	8	8	26	7	8*	26*	7*
		7*	7*	7*	6*	9*	7*	8*	16*	7*	8*	26*	7*			
	KSS	1	2	1	2	5	1	0	7	0	0	3	0	3	17	2
	KO	14de	29cd	14de	33	**56ab**	14de	0	**44ab**	0	0	12de	0	38bc	**65ab**	29cd
	KS	1	5	1	2	7	1	0	10	0	0	4	0	3	26	2
	OKS	0.1de	**0.7ab**	0.1de	0.3bc	**0.8ab**	0.1de	0	**0.6ab**	0	0	0.2de	0	0.4bc	**1.0a**	0.3cd

DSS: Dikilen sürgün sayısı ,* Enfeksiyonsuz bitki sayısı, KSS: Kardeşlenen sürgün sayısı, KS: Kardeş sayısı, KO: Kardeşlenme oranı, OKS: Ortalama kardeş sayısı



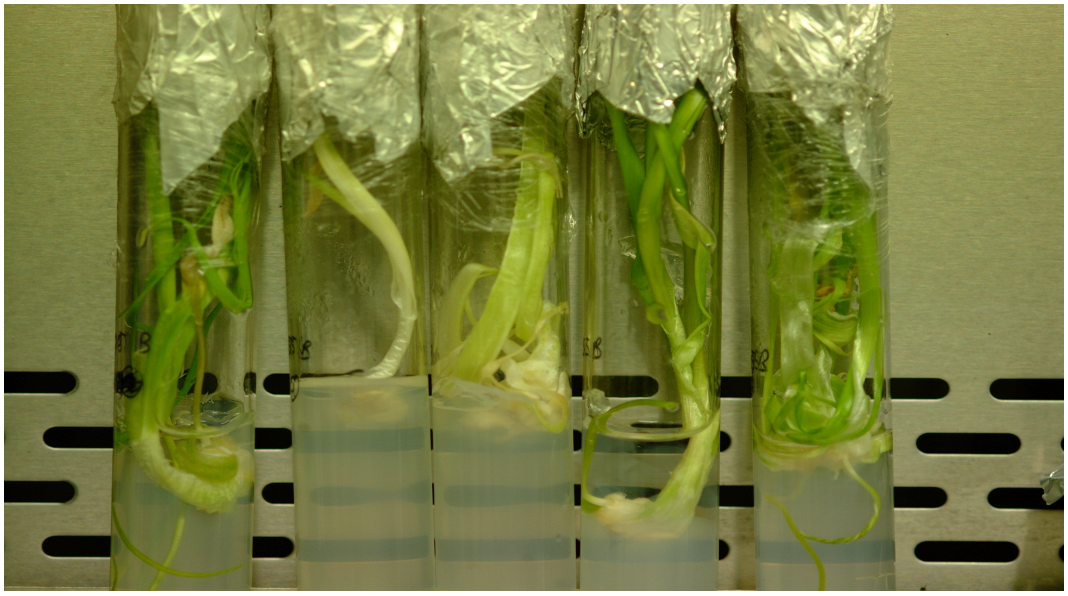
Şekil 4.2 Tunceli sarımsağında (*A. tuncelianum*) ana sürgünden oluşan sürgünün görünümü *(Fotoğraf:Ruhsar Yanmaz)*

Sonuçlardan alt kültür sayısının artışıyla sürgün veriminin düştüğü görülmektedir. Yine BA içermeyen ortamlarda 0.0 ve 0.1 mg/l NAA'in kardeş oluşumunu uyarmadığı görülmektedir. BA'in bulunduğu ortamlarda NAA'in özellikle 0.0 ve 0.1 mg/l düzeylerinde sürgün oluşumu artmıştır. Sürgün ucu kültürlerinde altıncı haftadan itibaren sürgünlerde baş oluşumu meydana gelmiştir (Şekil 4.3).



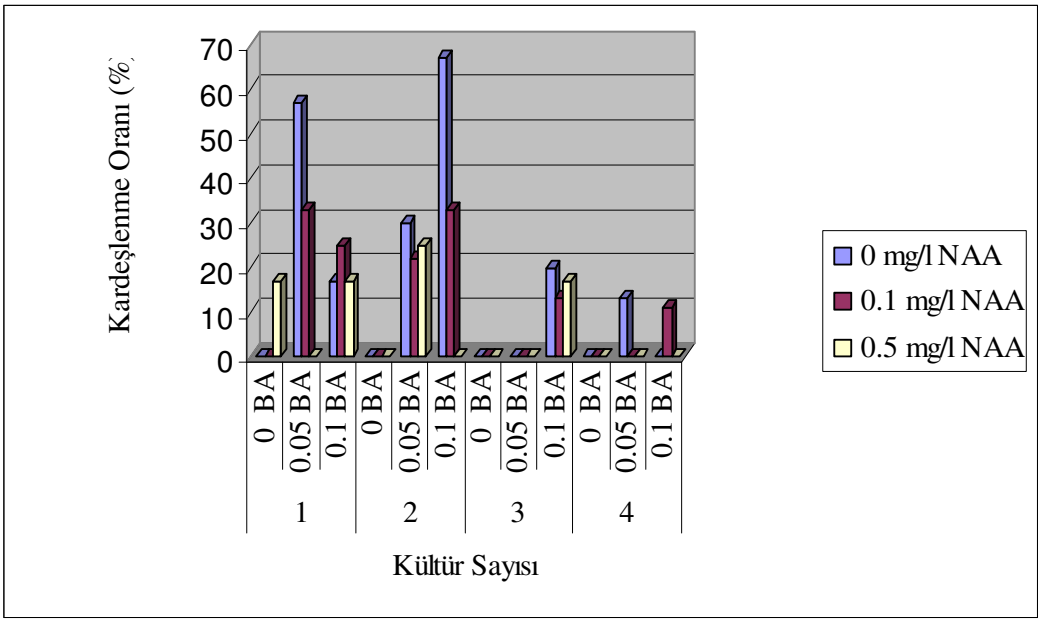
Şekil 4.3 Tunceli sarımsağına (*A. tuncelianum*) ait sürgünlerde 6. haftadan sonra baş ve sürgün oluşumu *(Fotoğraf:Ruhsar Yanmaz)*

IAA bulunan ortamlarda ise aynı şekilde alt kültür sayısı arttıkça kardeşlenme oranı azalmış buna rağmen 3. alt kültürde bile %44 oranında (0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA) kardeşlenme sağlanabilmiştir (Şekil 4.4).

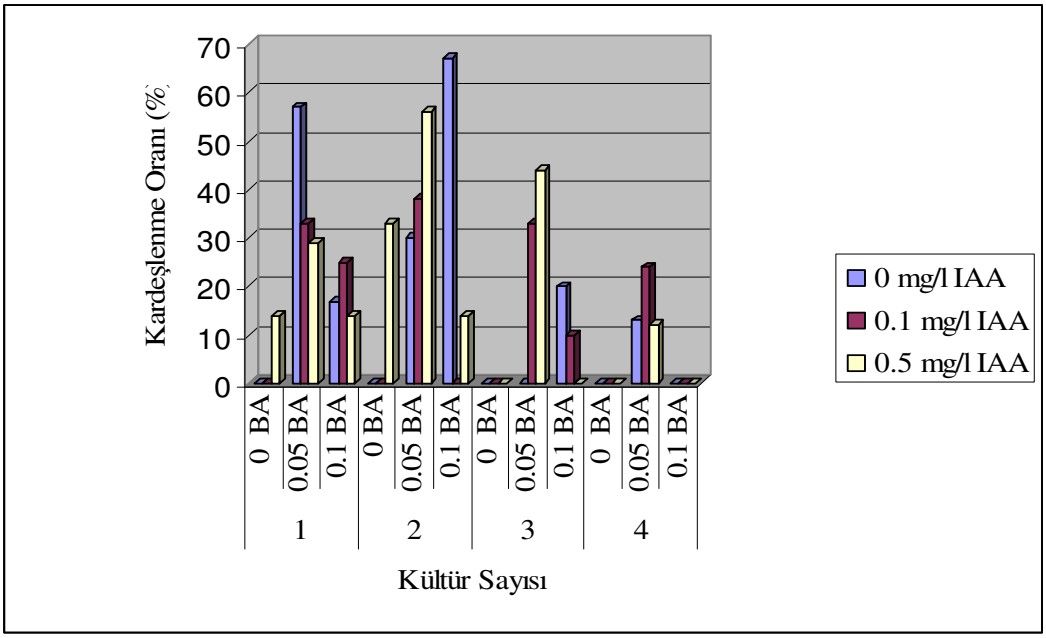


Şekil 4.4 0.05 mg/l BA + 0.5 mg/l IAA kombinasyonunda kardeşlenmenin görünümü
(Fotoğraf:Ruhsar Yanmaz)

Şekil 4.5'te BA+ NAA ve Şekil 4.6'da BA+IAA kombinasyonlarının kardeşlenme oranına etkileri daha çarpıcı bir şekilde görülebilmektedir.



Şekil 4.5 BA ve NAA kombinasyonlarının kardeşlenme oranına etkisi



Şekil 4.6 BA ve IAA kombinasyonlarının kardeşlenme oranına etkisi

Sürgün ucu kültürü denemelerinde düşük oksin ve BA kombinasyonlarının daha etkili görünmesi nedeniyle düşük oksin ve BA kombinasyonları ile Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü deneme arazisinde yetiştirilen Tunceli sarımsağına ait başlar ile ikinci bir deneme kurulmuştur (5/12/2005). Bu denemelerden alınan sonuçlar da Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi düşük oksin ve BA kombinasyonlarından da başarılı sonuçlar alınamamıştır. BA + Oksin kombinasyonları içinde en iyi sonuç % 29 ile 0.05 mg/l BA + 0.1 mg/l IAA kombinasyonundan alınmıştır. Ancak diğer kombinasyonlarla arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır. Kardeşlenme görülen ortamlarda bitki başına kardeş sayısı 1 adet olarak belirlenmiştir. Mevcut sürgünlerle kurulan 1. alt kültür denemelerinde de sürgünlerde beyazlaşmaya rastlanmış, dolayısıyla sürgünler gelişememiştir.

Çizelge 4.2 Tunceli sarımsağında hormon kombinasyonlarının 1. alt kültür sonucunda toplam kardeş sayısı, bitki başına düşen kardeş sayısı ve kardeşlenme oranına etkisi (%)

Oksin	BA (mg/l)		0.0	0.01	0.025	0.05	0.1
NAA (mg/l)	0.0	DSS	10	10	10	10	10
			9*	9*	9*	9*	9*
		KSS	0	0	0	1	1
		KO %	0	0	0	**11ab**	**11ab**
		KS	0	0	0	1	1
	0.1	DSS	10	10	10	10	10
			8	7	7	7	9
		KSS	0	0	0	0	0
		KO %	0	0	0	0	0
		KS	0	0	0	0	0
	0.25	DSS	10	10	10	10	10
			10	9	4	4	3
		KSS	0	0	0	0	0
		KO %	0	0	0	0	0
		KS	0	0	0	0	0
	0.5	DSS	10	10	10	10	10
			7	6	5	8	5
		KSS	0	0	0	0	0
		KO %	0	0	0	0	0
		KSS	0	0	0	0	0
IAA (mg/l)	0.1	DSS	10	10	10	10	10
			8	7	9	7	8
		KSS	0	0	0	2	0
		KO %	0	0	0	**29a**	0
		KS	0	0	0	2	0
	0.25	DSS	10	10	10	10	10
			7	7	8	4	3
		KSS	1	0	0	0	0
		KO %	**14ab**	0	0	0	0
		KS	1	0	0	0	0
	0.5	DSS	10	10	10	10	10
			10	7	8	8	7
		KSS	2	0	0	0	0
		KO %	**20a**	0	0	0	0
		KS	2	0	0	0	0

*Enfeksiyon sonucu kalan bitki sayısı, DSS: Dikilen sürgün sayısı, KSS: Kardeşlenen sürgün sayısı, KS: Toplam kardeş sayısı, KO: Kardeşlenme oranı

4.2.2 Baş oluşumu

Denemeler sırasında 2. alt kültürden itibaren sürgünlerin baş oluşturdukları görülmüştür (Çizelge 4.3, 4.4). Alt kültür sayısı arttıkça bitkilerde baş oluşum oranı da artmıştır. Baş oluşum oranı bakımından **hormonsuz ortam (%100)** ile **0.1 mg/l NAA (%80)** ve **0.1**

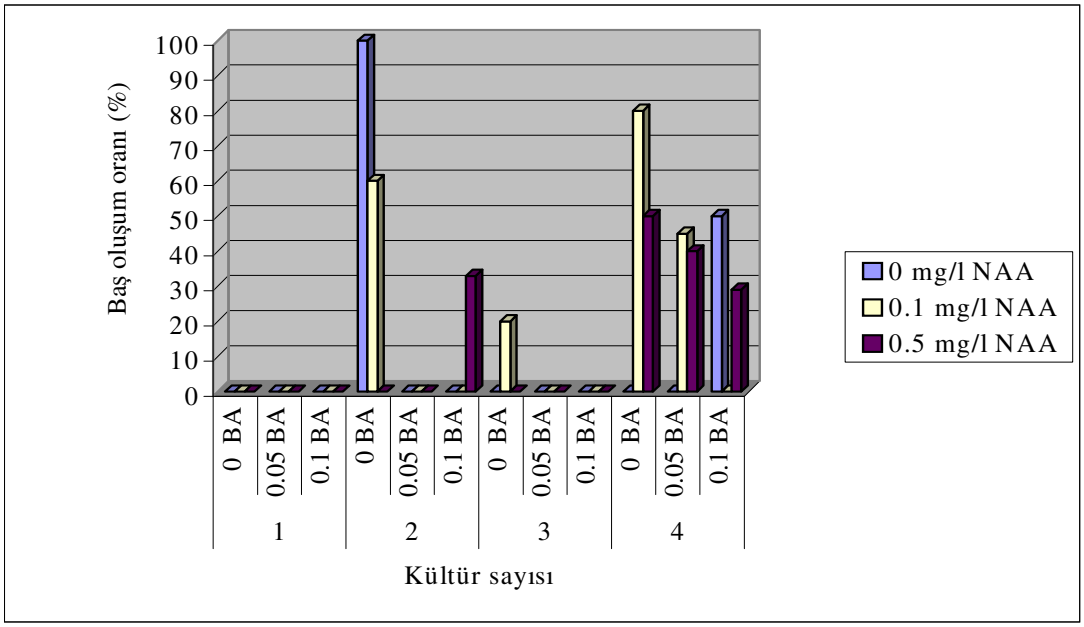
mg/l BA + 0.5 mg/l NAA, 0.1 mg/l BA + 0.5 mg/l IAA (%71) bulunduran ortamlar iyi sonuç vermiştir. Bu ortamlar istatistiksel değerlendirmede aynı grup içerisinde yer almıştır. 4. alt kültür sonunda 146 bitkinin 48'inde baş oluşumu meydana gelmiştir (%30).Çalışmada BA+Oksin kombinasyonlarının sürgünlerde baş oluşumuna etkileri 0.01 hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.3 Tunceli sarımsağında BA+Oksin kombinasyonlarının baş oluşumuna etkisi

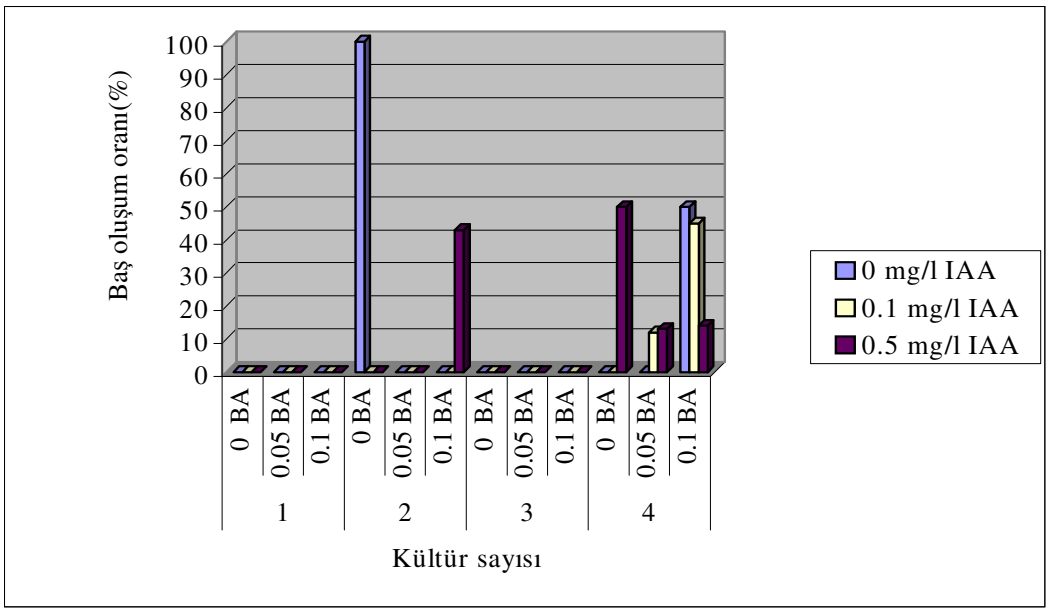
AKS		1			2			3			4			Genel Toplam		
BA (mg/l)		0.0	0.05	0.1	0.0	0.05	0.1	0.0	0.05	0.1	0.0	0.05	0.1	0.0	0.05	0.1
0.0 NAA (mg/l)	DSS	8	8	8	6	14	7	4	16	5	4	16	6	4	16	6
		6*	7	6	4	10	3	4	16	5	4	16	6			
	BSS	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	3	4	0	3
	BO %	0	0	0	**100a**	0	0	0	0	0	0	0	50bc	**100a**	0	50bc
0.1 NAA (mg/l)	DSS	8	8	8	5	9	10	5	11	8	5	11	9	5	11	9
		5	6	8	5	9	6	5	11	8	5	11	9			
	BSS	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	5	0	4	5	0
	BO %	0	0	0	60b	0	0	20d	0	0	0	45bc	0	**80ab**	45bc	0
0.5 NAA (mg/l)	DSS	8	8	8	7	5	7	5	5	6	5	5	7	4	5	7
		6	5	6	5	4	6	5	5	6	4	5	7			
	BSS	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	3	2	2	5
	BO %	0	0	0	0	0	33cd	0	0	0	50bc	40bc	29d	50bc	40bc	**71ab**
0.1 IAA (mg/l)	DSS	8	8	8	2	8	10	1	12	10	1	17	11	1	17	11
		2	6	8	1	8	10	1	12	10	1	17	11			
	BSS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	0	2	5
	BO %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12ef	45bc	0	12ef	45bc
0.5 IAA (mg/l)	DSS	8	8	8	8	12	8	8	16	8	8	26	7	8	26	7
		7	7	7	6	9	7	8	16	7	8	26	7			
	BSS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	2	0	3	5
	BO %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50bc	13ef	14ef	0	12ef	**71ab**

(DSS: Dikilen sürgün sayısı, BSS: Başlı sürgün sayısı, BO: Baş oluşumu)
*Enfeksiyon sonucu kalan sürgün sayısı

Şekil 4.7 ve 4.8'de BA, NAA ve IAA kombinasyonlarının baş oluşum oranına etkisi daha çarpıcı izlenebilmektedir.



Şekil 4.7 Tunceli sarımsağında BA+NAA kombinasyonlarının baş oluşum oranına etkisi



Şekil 4.8 Tunceli sarımsağında BA+IAA kombinasyonlarının baş oluşum oranına etkisi

4 alt kültür sonunda baş oluşumu görülmeyen 101 adet sürgün baş oluşumu için hormonsuz ve 0.1 mg/l NAA bulunan ortamlarda kültüre alınmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Tunceli sarımsağına (*A. tuncelianum*) ait sürgünlerde baş oluşturma ortamlarında elde edilen sonuçlar

Baş oluşturma ortamı									
0					**0.1 mg/l NAA**				
DSS	**BOSS**	**BOO (%)**	**KBS**	**KBO (%)**	**DBS**	**BOSS**	**BOO (%)**	**KBS**	**KBO (%)**
51	51	**100a**	19	37	50	50	**100a**	20	40

(DSS: Dikilen sürgün sayısı, BOSS: Baş oluşturan sürgün sayısı, BOO: Baş oluşturma oranı, KBS: Köklü baş sayısı, KBO: Köklü baş oranı)

Kültüre alındıktan yaklaşık 1 ay sonra bütün bitkilerde baş oluşumu görülmüştür. Baş oluşturma ortamlarından hormonsuz ortam ile 0.1 NAA bulunan ortamlarda %100 baş oluşumu görülmüştür. Hormonsuz ortam ile 0.1 mg/l NAA bulunan ortamlar arasında baş oluşumu açısından bir fark görülmediğinden dolayı hormonsuz ortamın sürgünlerde baş oluşumu için kullanılması tarafımızca önerilmektedir.

4.2.3 Köklenme

Çizelge 4.5'de Tunceli sarımsağında başların (48 adet) köklenmesi üzerine NAA dozlarının (0.0, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l) etkileri görülmektedir. En yüksek köklenme oranı **%33 ile 2.0 mg/l NAA** bulunan ortamdan alınmıştır (Şekil 4.9). Bunu **%17 ile 0.5 mg/l NAA** bulunan ortam izlemiştir. Bu ortamlar istatistiksel değerlendirmede aynı grupta yer almıştır. Hormonsuz ortamdaki sürgünlerde köklenme görülmemiştir. Köklenme ortamları birbirleriyle karşılaştırıldığında beklenen köklenmenin sağlanamadığı görülmüştür.

Çizelge 4.5 Tunceli sarımsağına (*A. tuncelianum*) ait başların köklenmesi üzerine NAA dozlarının etkileri

NAA											
0.0			**0.5 mg/l**			**1.0 mg/l**			**2.0 mg/l**		
DBS	**KBS**	**KÖO**	**DBS**	**KBS**	**KÖO**	**DBS**	**KBS**	**KÖO**	**DBS**	**KBS**	**KÖO**
12	0	0	12	2	**17ab**	12	1	8b	12	4	**33a**

(DBS:Dikilen baş sayısı, KBS: Köklü baş sayısı, KÖO: Köklenme Oranı)



Şekil 4.9 Tunceli sarımsağında (*A. tuncelianum*) ait başlı sürgünlerde köklenme

4.2.4 Dış koşullara alıştırma

Köklendirme denemeleri sonunda elde edilen köklü ve köksüz toplam 135 bitki torf doldurulmuş plastik kaplara dikildikten 1 ay sonra 33 bitkide kuruma görülmüştür Kalan 119 bitki iklim odasından çıkarılıp açık havada yarı gölge ortama konulmuştur.

Dış ortama konulduktan 2 hafta sonra 34 bitkide kuruma görülmüştür. Geriye kalan 68 bitki gelişimini zayıf bir şekilde sürdürmüştür (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Tunceli sarımsağında dış koşullara aktarılmış *in vitro* bitkilerin 1 ay sonraki görünümü

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizin Tunceli-Erzincan sınırında özellikle Munzur Dağları eteklerinde yayılma gösteren endemik bir tür olan ve koruma altına alınması gerektiği belirtilen Tunceli sarımsağı (*A. tuncelianum*), kontrolsüz bir şekilde doğadan sökülerek toplanmakta ve pazarlanmakta, hatta yurt dışına ihraç edilmektedir. Bu araştırmada koruma altında olmasına rağmen bilinçsizce söküm nedeniyle kaybolma tehlikesi içinde bulunan Tunceli sarımsağını (*A. tuncelianum*), çeşitli kültüre alma çalışmalarının yanısıra *in vitro* kök ve sürgün ucu kültürleri yoluyla da çoğaltılabilme olanakları incelenmiştir.

Araştırma başlangıcında sarımsaklarda görülen enfeksiyon yoğunluğu nedeniyle bir seri dezenfeksiyon denemesi kurulmuştur. Bu çalışmalar sonucunda iki aşamalı dezenfeksiyon ile ortama 500 mg/l antibiyotik katılmasının kültürlerdeki enfeksiyon oranını azalttığı belirlenmiştir. Başlangıçta % 100 düzeyinde olan enfeksiyon oranı yaptığımız uygulama ile %16-26'ya düşürülebilmiştir. Bununla birlikte enfeksiyon oranının yüksek oluşunda materyalin yetiştiği yer ve iklim koşulları, saklama koşulları, hasat tekniği gibi faktörlerin de etkili olduğu düşünülmektedir. Diğer sarımsak türlerinden farklı olarak Tunceli sarımsağında içsel olarak ifade edilebilecek enfeksiyonun da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu nedenle doku kültürü çalışmalarında kullanılan çoğaltma materyalinin sağlıklı olması önemlidir. İçsel etmenlerin giderilmesinde antibiyotik uygulamasının etkili olduğu ortaya konulmuştur.

Tunceli sarımsağında kültür sarımsaklarının çoğaltılması için önerilen kök ucu kültürü yöntemi etkili olmamıştır. MS (Murashige and Skoog 1962) besin ortamına kallus oluşturması için katılan 0.1 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA kombinasyonu hafif bir kallus oluşumuna neden olmuş, ancak daha sonra hiçbir gelişme görülmemiştir. Buna karşılık kültür sarımsağı (*A. sativum*) üzerinde kök ucu kültürünü deneyen Haque *et al.* (1997, 2003), kök uçlarından NAA ve BA'nın 1+10 µM (0.2+2 mg/l) konsantrasyonlarında %75 oranında sürgün oluşumu görüldüğünü belirtmektedirler. Ayrıca 2.0 mg/l 2,4-D + 1.0 mg/l BA bulunan ortamda kök uçlarının %70'inde kallus oluşumu görülmüş ve kalluslardan %80 oranında rejenerasyon sağlanmıştır. Fereol *et al.* (2002) de, kök uçlarında 0.1 mg/l 2,4-D + 0.5 mg/l kinetin kombinasyonunda %75 oranında globular

aşamada embriyo elde edildiğini, daha sonra 0.3 mg/l BA bulunan ortamda embriyoların %30'unun bitkiye dönüşüp sürgün ve kök oluşturduğu bildirmektedir. Bu durumda bizim çalışmalarımızda tür farklılığının kök ucu kültürü çalışmalarının başarısız olmasında önemli bir etkisinin bulunduğu düşünülmektedir.

Çalışmada diğer bir *in vitro* teknik olan sürgün ucu kültürlerinde başı oluşturan koruyucu yaprakların uzaklaştırılmasından sonra MS besin ortamına dikilen sürgün uçları dikiminden yaklaşık 1 ay sonra kardeşlenmeye başlamıştır. 2 şer hafta arayla yapılan 4 alt kültür sonunda kardeş sayısı bakımından IAA bulunan ortamların NAA bulunduran ortamlardan daha başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Büyümeyi düzenleyiciler kardeşlenme oranı açısından karşılaştırıldığında ise en yüksek kardeşlenme oranı %76 ile 0.05 mg/l BA+0.1 mg/l IAA bulunan ortamdan alınmıştır. Bunu %67 ile 0.1 mg/l BA, 0.1 mg/l BA+0.1 mg/l NAA ve %65 ile 0.05 mg/l BA+0.5 mg/l IAA, %56 ile 0.05 mg/l BA bulunan ortamlar izlemiştir. Ancak istatistiksel değerlendirmede bu ortamlar arasında fark önemsiz bulunmuştur. Buna göre BA ve oksinlerin düşük dozlarının bile kardeşlenme açısından etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca BA+Oksin kombinasyonları ile oksinsiz ortamlardan benzer sonuçlar elde edilmiştir. Gülşen ve Yanmaz (1995), kültür sarımsağında (*A. sativum*) yaptıkları çalışmada da oksinsiz BA ortamının (0.1 mg/l), oksinle (0.1 mg/l IBA) kombinasyon oluşturduğu ortamlarla benzer oranda kardeşlenme (%53) oluşturduğunu belirtmektedirler. Yine aynı şekilde Garcia and Vargas (2000), yaptıkları çalışmada en iyi sonuçları 0.2 mg/l NAA+0.5 mg/l 2iP kombinasyonlarından almışlardır. Bu yönden sonuçlar birbirine benzer görünmektedir.

Tunceli sarımsağında yürüttüğümüz çalışmalar sonucunda bu sarımsak türünün çoğaltma katsayısının düşük olduğu ancak bazı sürgünlerde 2-3 adet kardeş elde edilebilmesine rağmen ortalama kardeş sayısı düşünüldüğünde yaklaşık 1 adet kardeş elde edilebildiği ortaya konulmuştur.

Bizim yaptığımız çalışmalarda alt kültür sayısının artışıyla sürgün veriminin düştüğü görülmüş, buna karşılık hormonsuz besin ortamlarında ve 0.1 mg/l NAA bulunduran ortamlarda kardeş oluşumu görülmezken, altıncı haftadan (2. alt kültür) itibaren sürgünlerde baş oluşumu meydana gelmiştir. Roksana *et al.* (2002) tarafından yapılan

çalışmada da hormonsuz ortamda kardeş oluşumu görülmezken, en yüksek kardeşlenme oranı düşük orandaki oksin ve sitokinin kombinasyonlarından (0.5 mg/l 2iP+0.25 mg/l NAA) alınmıştır.

Sürgün ucu kültürü çalışmasında yapılan ikinci denemede birinci denemeden farklı olarak daha düşük oksin ve sitokinin konsantrasyonları denenmiştir. Bu çalışmada da 1.alt kültür sonucunda kardeşlenme oranının çok düşük olduğu ve sürgünlerde beyazlaşma (albinolaşma=etiyolleşme) görülmüş ve dolayısıyla sürgünlerde gelişme olmamıştır. Bu sonuçlar denemede kullanılan başların hasadın hemen arkasından alınması nedeniyle soğuklama ihtiyacının karşılanamamış olmasından kaynaklandığını düşündürtmüştür. Elde edilen bu sonuç, aslında dinlenme süresi kısa olduğu tahmin edilen Tunceli sarımsağının kısa süre de olsa soğuklama ihtiyacının giderilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda 4 alt kültür sonunda 146 bitkinin 44'ünde baş oluşumu meydana gelmiştir. Baş oluşturmayan sürgünlerde 0.0, 0.1 mg/l NAA katılmış baş oluşturma ortamına dikiminden 1 ay sonra baş oluşumu görülmüş, hatta bazılarında kök oluşumuna da rastlanmıştır. Bununla birlikte hormonsuz ve 0.1 NAA katılmış ortamlarda da %100 oranında baş oluşumu görülmüştür. Baş oluşturma ortamları arasında fark görülmemesi nedeniyle hormonsuz ortam baş oluşturma ortamı için önerilebilir nitelikte bulunmuştur. Bhojwani (1980) yaptığı çalışmada, sürgünlerde ilk kardeş oluşumunun dikimden 2 hafta sonra başladığını ve maksimum sayıda kardeşin 6. haftadan itibaren elde edildiğini ve alt kültür sayısı arttıkça bitkilerde baş oluşumunun arttığını belirtmektedir. En düşük kardeş sayısı NAA'nın tek başına bulunduğu ortamlardan alınmıştır. Bu çalışma sonuçları ile sonuçlarımız uyum göstermektedir.

Baş oluşturan sürgünler köklenme ortamına alınmışsa da (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l NAA) beklenen köklenme sağlanamamıştır. Köklü ve köksüz toplam 135 bitkinin aşamalı olarak dış koşullara alıştırma aşamasında geriye 68 bitki kalmıştır. Bunlarda gelişimini zayıf bir şekilde sürdürmüştür. Ancak yaprak kurumalarından sonra saksılar kontrol edildiğinde, küçük başların (1-2 mm) oluştuğu görülmüştür. Bunlar daha önce

yaptığımız çalışma sonuçlarına göre ertesi sene dikildiğinde veya kışı tarlada geçirdiğinde daha iri başlar oluşturabilmektedir.

Sonuç olarak, hem kök ucu kültüründe hem de sürgün ucu kültürü çalışmalarında bitki büyümeyi düzenleyici kombinasyonlarının ve dozlarının çalışma sonuçlarını etkileyen önemli bir faktör olduğunu daha ortaya çıkarılmıştır. Bunun yanında Tunceli sarımsağının yapısal özelliklerinden kaynaklanan enfeksiyon nedeniyle doku kültürü çalışmalarında temiz sürgün elde edilmesinin aşılması gereken ilk problem olduğu görülmüştür. Bu amaçla yapılacak çoğaltma çalışmalarında materyal sayısının geniş tutulması yarar sağlayacaktır. Bizim denemelerimizde kullandığımız çift dezenfeksiyon ve antibiyotik uygulamaları bu konuda çalışacaklara önerilmektedir.

Tunceli sarımsağında bu araştırmada sürgün ucu kültüründen kök ucu kültürüne göre daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak başların soğuklama ihtiyacının giderilmesi çalışmanın başarısında önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle ileride yapılacak çalışmalarla Tunceli sarımsağının dinlenme süresini ve dinlenme koşullarını ortaya koyacak çalışmaların yapılmasında fayda görülmektedir. Ayrıca elde edilen kardeşlerin köklendirilip tarla koşullarına aktarılması aşamasında detaylı çalışmalar yapılmalıdır. Baş üzerinde bulunan küçük diş benzeri yapılar ile çiçeklenme ve tohum bağlama özelliği olması nedeniyle embriyo kültürü konusunda da detaylı çalışmaların yapılması düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abo El Nil, 1977. Organogenesis and embryogenesis in callus cultures of garlic (*Allium sativum* L.). Plant Science Letters, 9: 259-264.

Anonim. 2003. Tunceli sarımsağının (*Allium tuncelianum*) kültüre alınması. www. Undp.org.

Anonim. 2004. Sarımsağın dağlısı. www. atlas.com.tr.

Anonymous. 2005. Dünya sarımsak üzeretim istatistikleri. www. fao.org.

Ayabe, M. and Sumi, S.1998. Establishment of a novel tissue culture method, stem-disc culture and its practical application to micropropagation of garlic (*Allium sativum* L.). Plant Cell Reports, 17: 773-779.

Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. 2001. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları ders kitabı. S.Ü.Vakfı Yayınları. s.36-210.

Bhojwani, S. S. 1980. In vitro propagation of garlic by shoot proliferation. Scientia Horticulturae, 13:47-52.

Brewster, J. L. 1994. Onions and other vegetable Alliums.Cab International.

Buiteveld, J., Fransz, P. F. and Creemers-Molenaar, J. 1994. Induction and characterization of embryogenic callus types for the initiation of suspension cultures of leek (*Allium ampeloprasum* L.). Plant Science 100: 195-202.

Buiteveld, J. and Creemers-Molenaar, J. 1994. Plant regeneration from protoplasts isolated from suspension cultures of leek (*Allium ampeloprasum* L.). Plant Science 100: 203-210.

Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z.ve Adıgüzel, N. 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği. Yayın No: 18, 118-118.

Fereol, L., Chovelon, V., Causse, S., Michaux-Ferriere, N. and Kahane, R. 2002. Evidence of a somatic embryogenesis process for plant regeneration in garlic (*Allium sativum* L.). Plant Cell Report, 21(3), 197-203.

Garcia, E. and Vargas, T. 2000. Micropropagation clonal masivade variedades de ajo (*Allium sativum*) con fines comerciales. Memorias del X. Congreso Halo Latinoamericano de Etnomedicina, 217-218.

Gülşen, Y. ve Yanmaz, R. 1995. *Allium sativum* (sarımsak) ve *Allium longicuspis* (yabani sarımsak) türlerinin doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Projeleri Sonuç Raporu, Proje No:87-11-01-02

Gamborg, OL, Miller, Rr. and Ojima, K. 1968. Nutrition requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exper. Cell Res. 50:151-159.

Haque, M. S., Wada, T. and Hattari, K. 1997. High frequency shoot regeneration and plantlet formation from root tip of garlic. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 50:83-89.

Haque, M. A., Nath, U. K., Ahmad, Q. N. and Alam, S. 2003. Effect of 2,4-D and BAP on in vitro regeneration of garlic. Online Journal of Biological Sciences, 2(12):771-774.

Humberto, I. O., Yovany, Q. O., Rosalina, D. C., Dolores, P. A., Maria, C. G., Sergio, G. S.and Olimpia, G. C. 2004. Micropropagation Del Ajo (*Allium sativum* L.). Alimentaria, 65.

Hanelt, P. 1990. Onions and Allied Crops, Vol. 1. Botany, Physiology and genetics. CRC. Press, Boca Raton, Florida, pp. 1-26.

Kim, E. K., Hahn, E. J., Murthy, H. N. and Paek, K. Y. 2003. High frequency of shoot multiplication and bulblet formation of garlic in liquid cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 73:231-236.

Kim, S. S., Guo, D. P., Jung, D. C. and Kwon, S. T. 2003. Multiple shoots regeneration and in vitro bulblet formation from garlic callus . Journal plant Biotechnology, 5(2): 95-99.

Kollman, F.1983. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 8. Edinburgh University Pres, Edinburgh, pp. 98-208.

Koyuncu, M.ve Güvenç, A. 1994. Türkiye'nin endemik Allium L.(soğan) türleri. Tübitak Projesi (Proje No: TBAG-1089). Ankara.

Martin-Urdiroz, N., Garrido-Gala, J., Martin, J. and Barandiaran, X. 2004. Effect of light on the organogenic ability of garlic roots using a one- step in vitro system. Plant Cell Report. 22: 721-724.

Matsuda, Y. and Adachi, T. 1996. Plant regeneration via embryogenesis in commercial cultivars of Chinese Chive (*Allium tuberosum* Rottl.). Plant Science, 119:149-156.

Mukhopadhyay, J., Sengupta, P., Mukhopadhyay, S. and Sen, S. 2005. In vitro stable regeneration of onion and garlic from suspension culture and chromosomal instability in solid callus culture. Scientia Horticulturae, 104:1-9

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Myers, J.M. and Simon, P.W.1998. Continuous callus production and regeneration of garlic (*Allium sativum* L.) using root segments from shoot tip-derived plantlets. Plant Cell Reports, 17:726-730.

Myers, J.M. and Simon, P.W.1999.Regeneration of garlic callus as affected by clonal variation, plant growth regulators and culture conditions over time. Plant Cell Reports, 19:32-36.

Özhatay, N. 2002. Diversity of bulbous monocots in Turkey with special reference chromosome numbers. Pure apple chem., Vol 74, No: 4, pp 547-555.

Özhatay, N. Mathew, B.and Şiraneci, Ş. 1995. Kew Bull. 50(4): 723.

Özhatay, N. ve Şiraneci, Ş. 1992. Comperative morphological, anatomical and priliminary chemical studies on two subspecies of *Allium macrochaetum*. Boiss.eta Houssin in Turkey. İstanbul Eczacılık Fakültesi Mec, 26-28,31.

Park, S. S. and Guen, H. 1994. Effect of temperature pretreatment, growth regulators and antibiotic treatments on anter cultures of various cultivars of garlic (*Allium sativum* L.). J. Kor. Soc. Hort. Sci, 35(4): 337-344.

Roksana, R., Alam, M. F., Islam, R. and Hossain, M. M. 2002. In vitro bulblet formation from shoot apex in garlic (*Allium sativum* L.). Plant Tissue Culture, 12(1): 11-17.

Saker, M. M. 1997. In vitro regeneration of onion through repetitive somatic embryogenesis. Biologia Plantarum, 40(4):449-506.

Sata, S. J., Bagatharia, S. B. and Thaker, V. S. 2001. Induction of direct somatic embryogenesis in garlic (*Allium sativum*). Methods in Cell Science, 22:229-304.

Song, P. and Peffley, E. B. 1994. Plant regeneration from suspension cultures of *Allium fistulosum* and an *Allium fistulosum* x *Allium cepa* interspecific hybrid. Plant Science, 98:63-68.

Taşkın, R., Özgen, U., Babacan, M., Tuncel, E.ve Koyuncu, M. 1997. Sarımsak ve bazı Allium türlerinin antimikrobik etkileri üzerine karşılaştırmalı bir çalışma. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 26(2), 77-82.

Xue, H. M., Araki, H. and Yakuwa, T. 1991. Varietal difference of embryogenic callus induction and plant regeneration in garlic (*Allium sativum* L.). Plant Tissue Culture Letters, 8(3): 166-170.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ezgi Yazar
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 09/09/1982
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Eryaman Lisesi - Ankara (1996-1999)
Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü (1999- 2003)
Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (2003-2006)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

T.C. Karayolları 14. Bölge Müdürlüğü – BURSA (2005)
T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı – Mihalgazi Tarım İlçe Müdürlüğü - ESKİŞEHİR (2006 -)

Yayınları (SCI ve diğer)

TANER K. Y., YANMAZ R., **YAZAR E.**, ALPER A. 2003. Ortamın şeker ve pH düzeyinin kavunda (*Cucumis melo* L.) farklı bitki parçalarının *in vitro* organ oluşumuna etkisi. Alatarım Dergisi.

ALPER, A., **YAZAR, E.** 2005. Biyoçeşitliliğimizi korumak adına Tunceli Sarımsağını (*Allium tuncelianum*) kültüre alma çalışmaları.A.Ü.Z.F. Tarım ve Çevre İlişkileri 1. Öğrenci Kongresi 14-15/04/05.