

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARKLI SÜKROZ KONSANTRASYONLARININ PİRASA DA
(*ALLIUM AMPELOPRASUM* L.) GİNOGENESİS UYARTIMINA
EKTİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELDA AKGÜN

DENİZLİ, 2018

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**FARKLI SUKROZ KONSANTRASYONLARININ PIRASA DA
(*ALLIUM AMPELOPRASUM* L.) GİNOGENESİS UYARTIMINA
EKTİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELDA AKGÜN

DENİZLİ, 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

SELDA AKGÜN tarafından hazırlanan "FARKLI SÜKROZ KONSANTRASYONLARININ PİRASA DA (ALLIUM AMPELOPRASUM L.) GİNOGENESİS UYARTIMINA EKTİLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 27 Nisan 2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Fevziye Çelebi Toprak
Pamukkale Üniversitesi

F. Çelebi Toprak

Üye
Prof. Dr. Ali Ramazan Alan
Pamukkale Üniversitesi

A. Ramazan Alan

Üye
Prof. Dr. Bayram Çevik
Süleyman Demirel Üniversitesi

B. Çevik

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 29/05/2018 tarih ve 21/12...sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Uğur Yücel

Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

SELDA AKGÜN


.....

ÖZET

**FARKLI SUKROZ KONSANTRASYONLARININ PIRASA DA
(*ALLIUM AMPELOPRASUM* L.) GİNOGENESİS UYARTIMINA
EKTİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SELDA AKGÜN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. FEVZİYE ÇELEBİ TOPRAK)
DENİZLİ, 2018**

A. ampeloprasum türünde çiçek tomurcuğu kültürü tekniği ile farklı sukroz konsantrasyonlarının ginogenesis uyartımına etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada Akdeniz, Ege ve Marmara bölgelerine adapte olmuş özellikteki dört farklı *A. ampeloprasum* hattı Pamukkale Üniversitesi Bitki Genetiği ve Tarımsal Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (PAÜ BİYOM) yetiştirilerek kullanılmıştır. Tomurcukların ekimi için farklı konsantrasyonlarda sukroz ve büyüme hormonları içeren MS, BDS ve B5 temelli 35 farklı medya kullanılmıştır.

Çalışma da 96 binden fazla çiçek tomurcuğu kullanılmıştır ve dört hattan 157 adet ginogenik ve 50 adet somatik bitkicik elde edilmiştir. Dört adet genotipten, kullanılan 35 medyanın 28 adedinden % 0,10 ile % 2,54 oranları arasında cevap alınmıştır. *A. ampeloprasum* hattı için ginogenesis denemelerinde en iyi ginogenik bitkicik oluşumu BDS temelli medyalardan büyüme ve gelişme hormonu bulundurmayan ve 100 gr/l sukroz içeren medyada ($A4_{(100)}$) % 2,54 oranında, en iyi somatik bitkicik oluşumu ise MS temelli medyalardan 1 mg/l NAA, 8 mg/l 2IP ve 100 gr/l sukroz içeren medyada (F9) % 1,30 oranında olduğu kaydedilmiştir. Genel olarak cevap alınan medyaların 25 gr/l ve üzerinde sukroz içerdikleri gözlemlenmiştir.

Elde edilen bitkilerden 131 adet ginogenik ve 43 adet somatik bitki flow sitometri cihazı ile analiz edilmiştir. Ginogenik bitkilerin 84(% 64,12) adedinin diploid (30 ± 1 pg/2C DNA), 46 (% 35,11) adedinin tetraploid (60 ± 1 pg/2C DNA) ve bir(% 0,76) adedinin ise miksploid ($2x+4x$) olduğu tespit edilmiştir. Somatik bitkilerin bir adedi hariç tamamının tetraploid olduğu kaydedilmiştir.

Flow sitometri analizleri yapılan bitkiler önce büyüme kabiniinde dış ortama alıştırıldı, daha sonra sera da büyütülerek morfolojik özelliklerine bakıldı. Ölçümleri yapılan ginogenik bitkilere bakıldığında; diploid ploidi seviyesine sahip bitkiler tetraploid olan bitkilere oranla daha küçük yapıda oldukları görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, genetik ve ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere ginogenik ve somatik bitkilerin üretilebileceğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: *Allium ampeloprasum* L., Ginogenesis, Sukroz Konsantrasyonu

ABSTRACT

STUDYING THE EFFECTS OF DIFFERENT SUCROSE CONCENTRATION SON GYNOGENESIS INDUCTION IN LEEK (*ALLIUMAMPELOPRASUM L.*)

MSC THESIS

SELDA AKGÜN

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
BIOLOGY

(SUPERVISOR:PROF.DR. FEVZİYE ÇELEBİ TOPRAK)

DENİZLİ, 2018

The effect of a variety of sucrose concentrations on gynogenesis induction in *A. ampeloprasum* via flower bud culture technique was studied. Four *A. ampeloprasum* lines adapted to Mediterranean, Aegean and Marmara regions were grown in Pamukkale University Plant Genetics and Agricultural Biotechnology Application and Research Center (PAU BIYOM) and used in this study. MS, BDS, B5 based 35 media containing different concentrations of sucrose and plant growth regulators were used in these flower bud cultures.

In this study, more than 96 thousands flower buds were cultured. 157 gynogenic and 50 somatic plantlets were obtained by using these four lines. 28 of 35 media that flower buds were cultured gave a response to gynogenesis induction from 0,10 % to 2,54 % ratio for all four genotypes. The best gynogenic and somatic plantlet regeneration in *A. ampeloprasum* were gained via BDS-based medium containing 100 gr/L sucrose and no plant growth regulator ($A4_{(100)}$) with 2,54 % ratio and MS-based medium containing 100 gr/L sucrose and 1 mg/L NAA, 8 mg/L 2IP(F9) with 1,30% ratio, respectively. In general, it was observed that most of responsive media contained more than 25 gr/L sucrose.

DNA content of 131 gynogenic and 43 somatic plants were analyzed by using flow cytometer. 84(% 64,12), 46(% 35,11) and 1(% 0,76) of tested gynogenic plants were determined as diploid (30 ± 1 pg/2C DNA), tetraploid (60 ± 1 pg/2C DNA) and mixoploid ($2x+4x$), respectively. All somatic plants were founded as tetraploid except one plant.

All plants were acclimated in growth chamber after flow cytometer analysis. After acclimation process in the growth chamber, these plants were transferred into greenhouse to observe their morphological characteristics. Length measurements of these plants showed that diploid gynogenic plants were shorter and thinner compared to tetraploid ones. The results of this study have shown that gynogenic and somatic plants can be produced to use in genetic and breeding studies.

KEYWORDS: *Allium ampeloprasum*, Gynogenesis, Sugar Concentration

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	v
SEMBOL LİSTESİ.....	vi
ÖNSÖZ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Allium Türleri.....	2
1.2 <i>Allium ampeloprasum</i> Genel Morfolojik Özellikleri	3
1.3 <i>Allium ampeloprasum</i> 'a Yeni Özelliklerin Sağlanması	4
1.3.1 Melezleme Islahı.....	4
1.3.2 Doku Kültürü Uygulamaları	5
1.3.2.1 Protoplast Kültürü Ve Protoplast Füzyonu	5
1.3.2.2 Embriyo Kurtarma	6
1.3.2.3 Kallus Ve Süspansiyon Kültürü.....	7
1.3.2.4 Dişi Gametten Haploid Uyartımı (Ginogenesis).....	8
1.3.2.5 Ploidinin Belirlenmesi.....	10
2. MATERYAL VE METOD	11
2.1 <i>Allium ampeloprasum</i> Genotipleri	11
2.1.1 <i>A. ampeloprasum</i> Büyüme Şartları ve Umbeldeki Tomurcuklarının Elde Edilmesi.....	11
2.1.2 <i>A. ampeloprasum</i> Genotiplerinde Polen Canlılığı Tayini.....	11
2.1.3 Tomurcukların Yüzey Sterilizasyonu	12
2.1.4 <i>A.ampeloprasum</i> 'da Kullanılan Medyalar ve İçerikleri	12
2.1.4.1 <i>A. ampeloprasum</i> Hatlarının Umbellerindeki Açmayan Tomurcukların Kültüre Alınması	14
2.1.4.2 <i>A.ampeloprasum</i> Kültürlerinin Kontrol Edilmesi	15
2.1.4.3 <i>A. ampeloprasum</i> Tomurcuklarının Gelişimleri	15
2.1.4.4 <i>A.ampeloprasum</i> Bitkilerinde Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi	16
2.1.4.5 <i>A. ampeloprasum</i> Bitkilerinin Laboratuvar Dışına Transferi .	18
2.1.4.6 <i>A. ampeloprasum</i> denemeleri sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi	20
3. KÜLTÜRLERDE YAPILAN GÖZLEMLER.....	21
3.1 <i>A. ampeloprasum</i> Genotiplerine Ait Ginogenesis Uyartımı Çalışmaları Bulguları	21
3.2 <i>A. ampeloprasum</i> Hatlarından Elde Edilen Bitkilerin Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi	38
3.1 <i>A. ampeloprasum</i> Hatlarında Morfolojik Özellikler	41
4. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	48
5. ÖZGEÇMİŞ	53

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1: <i>A. ampeloprasum</i> hatlarının tomurcuklarının kültüre alınma aşamaları	14
Şekil 2: Tüpe alınan ginogenik ve somatik bitkicikler	16
Şekil 3: Flow sitometri cihazı ile <i>A.ampeloprasum</i> bitkilerinde DNA miktarı ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi	18
Şekil 4: <i>A. ampeloprasum</i> bitkilerinin dış ortama aktarılması	19
Şekil 5: <i>A. ampeloprasum</i> materyallerinin FCM analizi sonucu elde edilen histogramları	40
Şekil 6: Dış ortama aktarılan <i>A. ampeloprasum</i> bitkileri	42

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1: <i>A. ampeloprasum</i> genotiplerinin kültüre alınan medya içerikleri	13
Tablo 2: NIB (nuclei isolation buffer) solüsyonu içeriği	17
Tablo 3: Tarsus Uzun genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu.....	27
Tablo 4: Tarsus Kısa genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu.....	28
Tablo 5: Kartal Kalem genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu	29
Tablo 6: İnegöl genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu.....	30
Tablo 7 : Tarsus Uzun genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu	34
Tablo 8 : Tarsus Kısa genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu	35
Tablo 9: İnegöl genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu	36
Tablo 10: Kartal Kalem genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu.....	37
Tablo 11: <i>A. ampeloprasum</i> hatlarında ploidi düzeyleri belirlenen ginogenik bitkiler	39
Tablo 12: <i>A. ampeloprasum</i> hatlarında ploidi düzeyleri belirlenen somatik bitkiler	39
Tablo 13: <i>A. ampeloprasum</i> hatlarında bitkilerin morfolojik özellikleri	42

SEMBOL LİSTESİ

2,4-D	: 2,4- Dikloro Fenoksi Asetik Asit
2İP	: 2-İzopenten Adenin
BAP	: Benzil Amino Purin
°C	: Santigrad derece
g/l	:Gram/litre
Mg/l	: Miligram/litre
NAA	: Naftalen Asetik Asit
PI	: Propodium iodide (10 µl)

ÖNSÖZ

Farklı sukroz konsantrasyonlarının pırasa da (*Allium ampeloprasum* L.) ginogenesis uyartımına ektilerinin araştırılması amacıyla bu çalışmayı tez konusu olarak öneren danışman hocam sayın Prof. Dr. Fevziye Çelebi Toprak'a tezimin her aşamasında bana yardımcı olduğu ve her türlü desteği gösterdiği için sonsuz sevgi ve saygılarımı yürekten sunuyorum.

Tezimin jüri üyesi olan sayın Prof. Dr. Ali Ramazan Alan'a değerli yardımları ve desteği için teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezimin birçok aşamasında yardımcı olan Dr. Öğr. Gör. Arzu Kaska'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca her zaman yardımları ve destekleri ile sürekli yanımda olan özellikle arkadaşlarım Esra Elver ve Hasan Hüseyin Şalk olmak üzere PAÜ BİYOM çalışma ekibine teşekkür ederim.

En zor zamanımda yanımda olan maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Habibe Akgün, babam Cafer Akgün ve ablam Rukiye Akgün'e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı gerçekleştirebilmem için maddi manevi katkı sağlayan proje yürütücülüğünü Prof. Dr. Ali Ramazan Alan'ınve araştırmacılığını ise Prof. Dr. Fevziye Çelebi Toprak'ın yapmış olduğu 1130232 nolu TUBİTAK projesine sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

27.04.2018

Selda AKGÜN

Biyolog

1. GİRİŞ

Bitki ıslahı, ekonomik açıdan oldukça büyük bir öneme sahip olan bitkilerin genetik ve sitogenetik alanlarından faydalanılarak tür, çeşit, cins ve genetik yapıların, güzel tatlı, görünümü güzel, yüksek verim ve uzun raf ömrü gibi tüketici ve yetiştiricinin isteğine göre planlı olarak farklılaştırılması ve geliştirilmesine bitki ıslahı adı verilmektedir.

Çoğu ıslahatçının ilk amacı verimi daha da arttırmaktır. Yüksek verim sağlamak için hastalıklara dayanıklılık gösteren türlerin geliştirilmesi ve aynı zamanda fizyolojik özelliklerden kaynaklanan yüksek verimli olan çeşitler elde etmek ile mümkün olur. Bitki ıslahının en çok faydası, yeni oluşacak olan tarımsal alanlara uyum sağlayan türlerin geliştirilmesidir. Türlerin vejetasyon periyodunu ayarlayarak mevcut olan büyüme mevsimine uyum sağlayabilecek olan türler geliştirmektir. Bitki ıslahının bir diğer yararı ise, bitkilerin agronomik özelliklerini geliştirmektir. İslah terimi, tarım kadar eski yıllara dayanır. Çiftçiler her dönemde en iyi ve verimli bitkileri seçerek tohumlarını aldılar ve bitkileri dış ortama uyumlu bir duruma getirdiler. Bitki ıslahının bilimsel olarak temelleri 19. yüzyılın başlarında doğa bilimcisi olan Charles Darwin ve Gregor Mendel tarafından atılmıştır. Charles Darwin doğal seleksiyon teorisi ile evrim sürecine açıklık getirmiştir ve bu süreçte en güçlü olanın hayatını sürdürme ilkesi kabul görmüştür. Mendel ise Darwin in teorisine katkı sağlayarak, çiçeklerin renginin yalnızca doğa ve havadan kaynaklanmadığını bu olayı yalnızca bitkinin kendi özelliklerinin yapabileceğini fark etmiştir. Günümüzde ticari bitki ıslahı teknolojinin gelişmiş şekline dönüşmüş olsa bile ana fikir hala seleksiyon ve melezlemedir. Bitkilerin daha verimli ve kaliteli hale getirilmesi bitki ıslahı yöntemiyle gerçekleştirildiği için son zamanlarda ıslaha verilen önem daha da artmıştır. Bitki ıslahında klasik metod ve modern metod olarak iki değişik yöntem kullanılır. Klasik ıslah metodlarının uzun sürmesi, tüm türler için uygulanmasının zor olması ve çok maliyetli olduğu için uygulayıcılar farklı metod arayışına girmişlerdir. Klasik ıslah uygulamasının getirdiği zorlukları aşmak için protoplast füzyonu, mutasyon ıslahı, transformasyon ve haploidizasyon teknikleri gibi biyoteknolojik yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu modern tekniklerin

amacı; üretim kapasitesini yükselterek hasta olmayan sağlam bitkiler yetiştirip verim ve kaliteyi artırmaktır. Ayrıca bir diğeri amacı bitki gelişimi için en ideal şartları sağlamaktır. Bitki ıslahında en iyi başarı böceklerle ve hastalıklara karşı dayanıklı türler elde edilerek gerçekleştirilmiştir.

Allium' ların iki yıllık olması, açık tozlanması ve kendilenme sorunu olduğundan dolayı tam bir saflık elde edilememiştir. Bu sıkıntılar yüzünden klasik ıslah teknikleri ile çalışmalarda fazla ilerleyemeyen ıslahçılar modern ıslah tekniklerine yönelmişlerdir. Modern ıslah yöntemleri daha kısa sürede, daha az maliyetle ve türler arasındaki uyum sorununu ortadan kaldırarak hedefimizi gerçekleştirme imkânı sağlamaktadır. Biyoteknolojik uygulamaları kapsayan modern ıslah metodları ile *Allium*'larda karşılaşılan sıkıntılar aşılabilmektedir.

1.1 *Allium* Türleri

Allium cinsi, Alliaceae familyası içinde soğanlı bitki gurubunda yer alır ve 800' den çok türü içinde bulunduran bir cinistir. (Fritsch ve diğ., 2010). Bazı türleri Orta Amerika'da ve Güney Yarımküre'de (Güney Afrika)bulunmaktadır fakat tür bakımından zengin olan yeri, Türkiye'nin de yer aldığı Akdeniz'den Orta Asya ve Pakistan'a kadar olan bölgedir (Fritsch ve Friesen, 2002). Türkiye'de doğal yetişen *Allium* türleri üzerine ilk olarak toplu bilgi Boissier (1882) tarafından verilmiştir ve araştırmacı "Flora Orientalis" isimli beş ciltten oluşan eserinde Türkiye'de 63 *Allium* türünün yetiştiğini bildirmiştir. Pek çoğu yenilebilir tür olarak bilinmektedir. *Allium* cinsi, dünyada çok fazla yetiştirilip kullanılan tıbbi özelliklere sahip ekonomik olarak da önemli *A. cepa* L. (soğan), *A. sativum* L. (sarımsak), *A. porrum* L. (pırasa), *A. fistulosum* L gibi türleri içinde bulundurur. Bazı *Allium* türleri gıda amaçlı sebze olarak üretilip tüketilmesinin yanında, güzel çiçekleri sebebi ile süs bitkisi gibi amaçlarla da kullanılmaktadır. Baş ve kökler toprak içerisinde bulunmakta iken brakteleri, çiçekleri, stamenleri ve yaprakları toprak üzerinde bulunur. Meyve kapsül şeklinde görülmektedir. Ovaryum üç bölmeli olup, genelde her biri 2-3 ovulbulundurlar.

A. ampeloprasum iki yıllık otsu özellikte bir sebze türüdür. *A. ampeloprasum* bitkisinin üretimi uzun yıllar öncesine dayanmaktadır. *A. ampeloprasum* sınıflandırmada büyük genoma sahip olan türler arasında yer almaktadır (Labani ve Elkington, 1987; Aramuganathan ve Earle, 1991). *A. ampeloprasum* 'un ticari olan çeşitleri çoğunlukla tetraploid olarak bilinmektedir. ($2n = 4x = 32$) (Van der meer ve Hanelt, 1990).

1.2 *Allium ampeloprasum* Genel Morfolojik Özellikleri

A. ampeloprasum iki yıllık bitkidir ve ikinci yılında çiçeklenme meydana gelmektedir. *A. ampeloprasum* baş üretmemektedir. Yapraklar çenekli özelliktedir. Yapraklar çiçek sapını örtecek biçimde şekil almıştır. *A. ampeloprasum* 'un pseudostem(yalancı gövde) denilen beyaz renkli yenilebilen yalancı gövdesi bulunur. Yalancı gövde yapraklardan oluşmaktadır. Yalancı gövdenin boyu ve kalınlığı tiplerine göre değişkenlik göstermektedir. Türk tipi pırasalarda yalancı gövde çoğunlukla ince ve uzun olmaktadır. Fakat Batı Avrupa çeşitlerinde ise kısa ve kalın olmaktadır. Yalancı gövde kısa olan türler genel olarak kış soğuklarına daha dayanıklıdır fakat ticari yönden beyaz kısmı uzun olan türler daha fazla tercih edilip yetiştirilmektedirler.

A. ampeloprasum 'da en fazla gelişim gösteren organlar yaprak kısımlarıdır. Yapraklar arasında V biçiminde bir açığı gözlenir, bu özellik tür tayininde kullanılmaktadır. Yapraklar sürekli birbirlerinin iç kısımlarından çıkarak meydana gelmektedir (Van der Meer ve Hanelt, 1990). En dış kısımda bulunan yapraklar ilk oluşan en yaşlı yaprakken iç kısımdakiler ise en genç yaprakları oluşturur. Yaprak ayası boyuna çizgilidir ve ortadan simetrik olarak gelişme göstermektedir. Çiçek (umbel) ikinci yılda sapın orta kısmında şemsiye şeklinde dizilmiş demet olarak meydana gelmektedir. Çiçek renkleri genellikle açık pembe ile koyu mor arasında değişkenlik göstermektedir. Çiçekler ilk başta bir zar içerisinde bulunur fakat zamanla zar patlar ve çiçekler sap üzerinde uzayarak gelişmektedir. Çiçeklerin tamamı yaklaşık olarak bir hafta kadar sürede açmaktadır. Tozlanma böceklerin aracılığı ile gerçekleşmektedir. *A. ampeloprasum* ' un tohum rengi siyah, şeklinin ise buruşuk bir görüntüsü vardır. 1 gr ağırlığındaki tohumu yaklaşık olarak 350 adet sayıya tekâmül etmektedir(Kaska, 2013) Tohumlar çimlenme özelliklerini 2-3 yıla

kadar muhafaza edebilmektedirler. Tohumların çimlenmesi 10-35 °C de, 12-15 günlük sürede olmaktadır.

Türkiye *A. ampeloprasum* üretimi ile önemli sıralarda yer almaktadır. Pırasa üretim miktarı yaklaşık olarak yıllık 208239 ton civarındadır (FAO).Asıl anavatanı Doğu Akdeniz Bölgesi olarak bilinmektedir. *A. ampeloprasum* Türkiye'nin her yerinde yaygın olarak üretimi ve tüketimi yapılan, özellikle kış aylarında tüketilen bir sebzedir. *A. ampeloprasum* iklim koşullarına fazlaca toleransı olan bir bitki olması sebebi ile başarılı şekilde yetiştirilebilmektedir. Karasal iklim şeklinin hâkim olduğu bölgelerde büyük oranda tüketimi yapılmaktadır. Ayrıca sağlık açısından da büyük öneme sahip olan bir sebzedir. Yılın tüm mevsimlerinde üretimi yapılabilen bir sebze olması özelliğinden dolayı tüketimi fazladır.

A. ampeloprasum'da klasik ıslah çalışmaları uzun yıllar sürmekte ve yavaş ilerlemektedir. Bunun sebebi ise iki yıllık bir bitki olması, yabancı tozlanma gerçekleştirilmesi, yüksek oranda heterozigotluk ve kendileme depresyonu göstermesidir. *A. ampeloprasum*'da biyoteknolojik çalışmalar ilk olarak 1970'li yıllarda in vitroklonal çoğaltım çalışmaları ile yapılmıştır (Kaska, 2013). 1990'lı yıllarda *A. ampeloprasum* için önceden yapılan biyoteknolojik çalışmalara, ginogenesis yöntemi ile yeni uygulamalar eklenmiştir. Smith ve diğ. (1991) *A. ampeloprasum* bitkisinin çiçek tomurcuğunu ginogenesis uyarımı uygulamalarında eksplant olarak kullanarak ilk kez bir dihaploid bitki gözlemlediklerini belirtmişlerdir.

1.3 *Allium ampeloprasum* 'a Yeni Özelliklerin Sağlanması

1.3.1 Melezleme Islahı

Türlerde hibridizasyon yıllardır kapsamlı olarak genetik çeşitlilik sağlanmak amacıyla kullanılmıştır ve kısa zaman içerisinde istenilen özelliklerin kazandırılabilirdiği yeni ürünler elde edilmiştir. Hastalığa karşı dirençlilik gibi farklı özellikler sağlanan F1 hibrid dölü ile tekrarçaprazlama yapılarak aktarılabilir (Kik, 2002).

Bitki ıslahında tür içerisinde ve farklı türler arasındaki melezleme, biyotik ve abiyotik stres şartlarına karşı dirençli olan genlerin yabancı olan atasal türlerden kültür çeşitlerine transferi ve ya ticari yönden önemli olan bir özelliğin bir türden başka bir türe transferi için kullanılmaktadır (Bowley ve Taylor, 1987). Çoğunlukla *A. cepa*, *A. sativum*, *A. ampeloprasum* vb. türlerin ya kendileri ile ya dayakın akraba türler ile çaprazlaması gerçekleştirilmektedir. Hibridizasyon ile sağlanan yeni hibrid bitkiler kullanılan donör bitkilerin arasında bir morfolojik özellik göstermekte ve sayıca daha fazla kromozoma sahip olmaktadır (Kaska, 2013). Genel olarak *Allium* türlerin 16 kromozom bulundurması hibridizasyon için kolaylık ve başarı yönünden fayda sağlamaktadır (Nomura ve diğ., 2002).

Melezleme ıslahının yapılması ile bitki ıslahında tarım yönünden faydalı olabilecek biyotik ve abiyotik stres şartlarına dirençli olan genlerin yabancı türlerden kültürü yapılanlara transfer edilmesi veya ticari yönden önemli olan bir özelliğin türler arası transferi gibi çalışmaların olabileceği gösterilmiştir (Kaska, 2013). Bu çalışmalar sayesinde istediğimiz özelliklere sahip özellikle ticari türler yetiştirmek ve geliştirmek mümkün olacaktır.

1.3.2 Doku Kültürü Uygulamaları

1.3.2.1 Protoplast Kültürü Ve Protoplast Füzyonu

Hücre çeperi olmayan hücreye protoplast adı verilmektedir. Protoplast kültürü ayrılmış olan protoplastların hibridizasyon teknikleriyle bitkilerin uygun medya ortamlarında amacına yönelik olarak kültüre alınmasıdır. Protoplast kültürü ile bir hücreden bir bitki yetiştirmek hedeflenmektedir. Protoplastlar belirli koşullarda canlılığını devam ettirirler, bölünerek çoğalırlar ve sonrada tekrardan birey oluştururlar. Teorikte tüm dokulardan protoplast hücresi oluşturulur. Bunların hepsinden bitki oluşturulması mümkün değildir ancak gün geçtikçe bu konuda ilerlemeler olmaktadır (Ochatt ve Power, 1992). Çevresel etmenler, protoplast hücresinin temeli, besiyeri çeşidi, sukroz seçimi ve regülatör hormonlar totipotensiye ayrıca verimli birey oluşumuna etki etmektedirler (Davey ve diğ., 2005). Olumlu olarak protoplast çalışmasını ilk defa Cocking (1960), protoplast ile bitki oluşumunu

ise Takabe ve diğ. (1971) gerçekleştirmişler ve bu konu ile ilgili izlenecek yolların ana hatlarını belirlemişlerdir.

A. ampeloprasum için Schum ve diğ. (1994) filizlerin yapraklarını kullanarak *in vitro* ortamda protoplast kültür çalışması yapmışlardır ve bitkicik görüldüğünü belirtmişlerdir. Protoplast kültürlerinin genelde hedefi bitki yetiştirilmesi ve yenilenme süresini kısaltarak fazla miktarda ürün oluşturmaktır.

Protoplast füzyonu (Somatik Hibridizasyon) iki hattın sitoplazmalarının birleştirilmesi ile olur. Bu birleşim ile bireylerde yeni organel ve genetik bilgi meydana getirilmiş olur, ayrıca çaprazlanması imkânsız olan hatlarında çaprazlanması yapılmış olmaktadır. Protoplast füzyonu genotipler arasında gen transferine yardımcı olur. İlk protoplast füzyon uygulamasını ve bundan sonraki uygulamalar için izlenecek yolların belirlenmesini Carlson ve diğ. (1972) gerçekleştirmiştir. Bunlara ek olarak protoplastlardan hücrede besin alışverişi, mutant ayrımı ve hücre klonlaması şeklindeki uygulamalarda da faydalanılabilir (Feher ve Dudits, 1994). Protoplast füzyonu sayesinde kalıtsal şekilde aktarılan (erkek kısırlık gibi) ticari ve tarımsal yönden değerli karakterlerin aktarımına imkân sağlamış olur (Buiteveld ve diğ., 1998).

1.3.2.2 Embriyo Kurtarma

Bitkinin tohumlarından gelişmiş ya da gelişmemiş embriyoların (oğulcuk) yalıtılarak uygun ve aseptik koşullarda kültürünün yapılmasıdır ve ilk kez bu yöntemi Hanning 1904 yılında gerçekleştirilmiştir (Kurt, 2001; Drew, 1997). Embriyo kurtarma tekniğinde ortalama bir olgunluktaki içinde embriyo olan tohum temizlendikten sonra aseptik şartlarda etrafındaki dokulardan arındırılır. Eğer tohumlar biraz katı (sert) ise temizlenip belli bir süre temiz H₂O içerisinde bekletilip ayrılır. Tohumlar ufak ise de hasar vermemek için mikroskopla işlem yaparak embriyo arındırılmasına özen gösterilir. Ayrılan bu embriyolar optimum şartlarda besiyerlerine alınarak burada çimlenmesi ve bitki gelişimi sağlanır. Embriyo kültürü 2 farklı biçimde gerçekleştirilmektedir.

Birincisi olgun embriyo kültürü; gelişimini tamamlamış olan tohumlardan elde edilen embriyo kültürüdür, uygulaması kolaydır ve olumlu sonuçlar elde edilir. Bu yöntemde çimlenmeyi engelleyen dormansi ortadan kaldırılmış olur. Gelişim evrelerini incelemeye de imkân tanır.

Diğeri ise olgunlaşmamış embriyo kültürü; erken bölünme fazındaki proembriyoların kültürüdür. Normal şartlar altında gelişimi bitmemiş olan embriyolardan bitki eldesi amacıyla yapılmaktadır. Fakat çaprazlamalar sırasında embriyolarda erken ölüm olabilir. Bu çok karşılaşılan bir durumdur. Ancak bu problem, rastgele bir dönemde ayrılan embriyo temiz, uygun koşullarda *in vitro* da kültüre alınarak aşılabilmektedir (Pierik, 1989).

Değişik kromozom sayılarına sahip bireyler çaprazlanırken uyum sorunu ortaya çıkmaktadır, bu uyumsuzluk embriyonun gelişimini önler ve embriyo ölür. Böyle sorunlar olduğunda embriyo kurtarma kültürü kullanılarak hayatta kalabilen bireyler yetiştirilebilir. *A.ampeloprasum* türünde homojenitenin oluşturulması biraz güçtür, Yanagino ve diğ. (2003) *A.ampeloprasum*' da homojeniteyi sağlamak için *A.ampeloprasum* ile *A.sativum* arasında bir melezleme uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Bu uygulama da araştırmacılar hibrit birey ürettiklerini ayrıca hibritlerin özelliklerini tanımladıklarını rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak embriyo kurtarma yöntemlerinin hedefleri; çimlenmesi güç olan tohumların çimlendirilmesi, genetik uygulamalarında ıslah süresinin kısaltılması, hastalıktan ari bitki üretimi, tohumla bitki oluşumu zor olan türlerde bitki oluşturma, haploid bitki üretimi, olgunlaşmamış ve hibrit embriyoların hayatlarının sürdürülmesi olarak sayılabilir.

1.3.2.3 Kallus Ve Süspansiyon Kültürü

Kallus kültürü; bitkinin bir parçasının uygun besiyerinde steril koşullarda kallus meydana getirilmesi olarak tanımlanabilir. Kallus kültürüne bitkinin bölünebilme özelliğinde olan hücrelerinden başlanabilir. Değişik koşullarda yapılan kültürlerde hücredeki kromozom şekli farklılaşabilmektedir(Mukhopadhyay ve diğ., 2000) ancak genel olarak bitki hatlarında

genetik durum korunmaktadır (Mukhopadhyay ve Desjardins, 1994). Uygulamalarda faydalanılan eksplant çeşidi, hormonlar, regülatörler, zaman vb. etmenler meydana gelecek varyasyonları etkileyebilir (D'Amato, 1985; Mukhopadhyay ve diğ., 2000).

A. ampeloprasum için de sekiz adet tür kullanılarak kallus kültür uygulaması yapılmıştır (Buitevelt ve diğ., 1993). Çalışmada üç çeşit besiyeri ve eksplant olarak yaprak kullanılmıştır. Araştırmacılar en fazla kallusun MS (1 mg/l 2,4-D ile 30 g/l şeker) ortamında oluştuğunu rapor etmişlerdir.

1.3.2.4 Dişi Gametten Haploid Uyartımı (Ginogenesis)

Bitki hücrelerinin sahip olduğu kromozom miktarı ile dâhil olduğu çeşidin eşey hücrelerindeki kromozom miktarı aynıysa böyle bitkilere haploid bitkiler denir (Murovec ve Bohanec, 2012). Gametlerden faydalanılarak o çeşidin eşey hücreleriyle aynı kromozom miktarına sahip bireylerin oluşturulmasına da haploidizasyon adı verilmektedir. Haploidizasyonun; homozigotiye zaman tasarrufu sağlamak, kendilenmenin mümkün olmadığı bitkiler için uygun olmak, resesif mutasyonların belirlenmesine katkı sağlamak şeklinde avantajları vardır (Babaoğlu ve diğ., 2002). Ginogenesis ovulun (yumurta hücreleri) steril şartlarda besiyerinde haploid embriyo ve biki eldesi için kullanılan kültür yöntemidir (Murovec ve Bohanec, 2012). Kaynaklara göz atıldığında 1980'li yıllarda ginogenesis uygulamalarının arttığı görülmektedir.

Döllenmiş ovulun kültüre edilmesi sonucu haloid embriyo eldesine “ovaryum ya da ovül kültür” denilmektedir (Babaoğlu ve diğ., 2002). Ovaryum kültürler iki (A, B) farklı şekilde yapılabilmektedir. A; olgunlaşmayan tomurcukların yaklaşık iki hafta kültüre alınması ve sonra bunlardan ovaryumu ayırarak değişik besi ortamında rejenere olmasını sağlayarak yapılır (Jakse ve diğ., 1996), B; olmamış tomurcuktan ovaryum direk alınarak kültürü yapılır (Muren, 1989). Ovaryumun alım zamanı şişmiş olmasından dolayı yapılan uygulamalardan ilk yöntemin daha kolay olduğu anlaşılmaktadır. Ginogenesis başarısını ana bitkinin büyüme şartları (özellikle dönem sıcaklığı ve günlük ışık miktarı), genetik yapısı, besiyerinin bileşimi, inkübasyon şartları gibi faktörler etkilemektedir (Babaoğlu ve diğ., 2002).

Ginogenesis de başarı oranını yalnızca türler arası değil tür içi genotip farklılıkların da etkilediği çalışmalarda görülmüştür (Murovec ve Bohanec 2012, Javornik ve diğ. 1998). Ginogenesis de büyüme şartlarından bahsederken sterillik ve bulunduğu ortam sıcaklığında oldukça önemlidir. Ana bitkinin büyüme evresinde kontaminasyon (hastalık ve zararlı) olasılığını engellemek ve sulamanın daha özenli olması için serada gerçekleştirilmesinin altı çizilmiştir (Bohanec, 2002). Kontaminasyondan dolayı bitki kaybı yaşanmaması için kültürün ilk basamağından son basamağına kadar olan tüm süreç boyunca sürekli steril ortam sağlanmalıdır. Kontaminasyonun farklı sebepleri (kişisel ya da trips vs) olabilir bu yüzden temiz olmasına fazla özen gösterilmektedir. Sterillik kadar ısı ışık faktörleri de önemlidir. Muren (1989) bütün kültürlerini 25° C' de, 16 saat ışıklı ortamda tutmuştur.

Ginogenesis uygulamalarında kullanılan ana besiyeri, şeker oranı ve hormonun türü şeklindeki faktörler önemli rol almaktadır (Murovec ve Bohanec, 2012). Bu uygulamalarda en fazla MS, BDS, B5 medyaları kullanılmaktadır, medyaların içinde 58-348 mM (% 2-% 12) aralığında şeker oranı bulunmaktadır (Kaska, 2013). Kültür ortamlarında şekerin de büyüme düzenleyiciler gibi tesir ettiği vurgulanmıştır (Vinterhalter ve Vinterhalter, 1999).

A.ampeloprasum çeşidi için ginogenesis uygulamaları 1990 senelerinde başlamıştır, bu çalışmalarda bazı araştırmacılar başarısız olurken (Flier, 1990; Kanne, 1991) bazı araştırmacılar ise birkaç veri bulduklarını kaydetmişlerdir (Smith ve diğ., 1991; Voorrips, 1991). Değişik genotiplerin ginogenesis etkisini göstermek için Schum ve diğ. (1993) *A.ampeloprasum*' da uygulamalar gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmanın sonucu olarak gelişme, ploidi seviyesi, albinoluk gibi meydana gelen değişiklikleri rapor etmişlerdir. Özzambak (1992) *A.ampeloprasum* türü için besiyerindeki hormon ve sukroz değişikliklerinin ginogenesis etkilerini göstermek için bir uygulama gerçekleştirmiştir. Araştırmacı çalışmasını Carino ile Farinto türleri üzerinde farklı besiyerleri, iki değişik şeker (% 6 ve % 12) ve hormon kullanarak gerçekleştirmiştir. Çalışma da en iyi sonucun Carino türünde görüldüğü kaydedilmiştir. Ovaryumların % 6 şeker içeren MS medyasında daha iyi sonuç verdikleri bildirilmiştir.

1.3.2.5 Ploidinin Belirlenmesi

Bitkilerde ploidi seviyesinin bulunmasında farklı tekniklerden faydalanılmaktadır. Ploidi belirlemede fenotipik gözlemler ve kromozom sayımları çok eskilere dayalı tekniklerdir (Murovec ve Bohanec, 2012). Kromozom sayısı fazlaştıkça bitkideki bütün organlar büyümektedir; fakat bitki ister androjenetik isterse ginogenetik yolla haploid olarak gelişirse diploid bitkilere kıyasla daha ufak yapıda olmaktadır (Babaoğlu ve diğ., 2002). Fenotipik gözlemlerin hızlı ve maliyetsiz olması şeklinde avantajı olsa da güvenilirliğin az olması dezavantajdır, bu yüzden bu tekniğe başka metotlarla takviyede bulunmak gerekmektedir (Babaoğlu ve diğ., 2002). Genellikle kök uçlarında yapılan kromozom sayımında, daha profesyonel (hidroliz boyama, preparat hazırlama gibi) bir çalışma istemesi dezavantaj olsa da güvenilirliği çok yüksek olan eski bir tekniktir. Ploidi seviyesinin tespitinde kullanılan bir diğer teknik de stoma sayımı yapmaktır (Dore ve Marie, 1993). Ploidi seviyesi büyüdükçe stoma boyu aynı zaman da plastit miktarı da yükselmektedir.

Ploidi tespitinde son dönemlerde en fazla faydalanılan teknik ise flow sitometri yöntemidir. Süspansiyon durumundaki hücreler kanal içerisinde sabit bir hızla tek tek geçerken flüoresans boyalarla işaretlenip lazer ışık ile analizleri yapılmaktadır. Bu yöntem tek hücre seviyesinde analiz etmeye olanak sağlamaktadır. Yöntem pratik, güvenilir, değişik kısımlarda kullanılabilen ve bitki hasar görmeden uygulanabilen bir tekniktir (Alan ve diğ., 2003).

2. MATERYAL VE METOD

2.1 *Allium ampeloprasum* Genotipleri

Çalışmada Pamukkale Üniversitesi Bitki Genetiği ve Tarımsal Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (PAÜ BİYOM)' nde yetiştirilen dört farklı (İnegöl, Kartal Kalem, Tarsus Uzun ve Tarsus Kısa) *A. ampeloprasum* genotipleri kullanılmıştır.

2.1.1 *A. ampeloprasum* Büyüme Şartları ve Umbeldeki Tomurcuklarının Elde Edilmesi

A. ampeloprasum genotiplerinin bitkileri içerisinde 2:1 oranında torf ve perlit karışımı bulunan 7 litrelik saksılara dikildi. Serada büyütüldüler. Bitkilerde Nisan döneminde çiçek sapı meydana gelmeye başladı ve bu çiçek sapının oluşum dönemi yaklaşık Temmuz'a kadar sürdü. İlk önce oluşan umbellerin antesis seviyesine ulaşması Haziran sonuna kadar sürdü. Antesis çiçeklerin açma hali ve süresidir. Antesis seviyesine gelen umbeller kesilip alındı. Kesilen umbeller etiketlenerek vakit geçirmeden laboratuvara alındı. Umbellerdeki açmış olan çiçekler koparılıp atıldı ve umbeller su olan kap içerisine alındı.

2.1.2 *A. ampeloprasum* Genotiplerinde Polen Canlılığı Tayini

Antesis seviyesindeki umbellerden gelişmiş güzel birkaç çiçek seçildi. Seçilen çiçeklerin anterleriyle preparat hazırlanarak mikroskopta 40X görüntüde incelendi. Preparat hazırlarken lam üzerine anterler koyulup, polenleri boyamayı sağlayan Asetokarmin eklendi ardından polenler ezilerek boyanması amaçlandı. Boyanan polenler canlı boyanmayanlar cansız kabul edildi. Mikroskopta alan taraması yapılarak boyanın etki ettiği ve etmediği yapılar sayıldı ve belli oranlarda yüzdelik olarak polen canlılıkları belirlendi.

2.1.3 Tomurcukların Yüzey Sterilizasyonu

Ginogenesis uyartımı için önceden alınan umbellerden açmamış durumdaki tomurcuklar bir makas yardımı ile kesildi. Kesilen tomurcuklar yüzey sterilizasyonu yapılmak üzere metal süzgeç içerisine alındı. Sterilizasyon solüsyonu (% 20 çamaşır suyu + 0.01 Tween-20 ve distile su) hazırlandı. İlk olarak önceden hazırlanmış olan %70 Etil alkol bir kaba alındı ve metal süzgeç kabın içine daldırıp karıştırılarak 30 saniye bekletildi. Sonra ise alkolden alınan tomurcuklar solüsyon bulunan kap içine daldırılıp sürekli karıştırılarak 30 dakika içinde bekletildi. Bu işlemden sonra tomurcukların olduğu kaplar steril kabin içerisine alındı ve işleme steril kabin içerisinde devam edildi. Solüsyondan çıkarılan tomurcuklar üç kez sterildistile su ile yıkandı. Sonra ise temiz kurutma kâğıtlarına yayılarak tomurcukların kuruması sağlandı(Şekil 1A-1E).

2.1.4 *A.ampeloprasum* ' da Kullanılan Medyalar ve İçerikleri

Ginogenesis uygulamalarında çok çeşitli besi ortamları uygulandı. *A.ampeloprasum* genotiplerinin ginogenesis uygulamaları için ana medya olarak BDS (A türevleri), MS (F türevleri) ve B5 (G türevleri) medyaları denendi(Dunstan ve Short,1977 ; Murashige ve Skoog, 1962; Gamborg, 1968).Besi ortamlarının içerikleri ise Tablo 1'de gösterildi. Bu besi ortamlarına hormon olarak farklı miktarlarda 2-4 D (Diklorofenoksiasetik asit) ve BAP (Benzin amino pürin) gibi maddeler eklendi. Bu medyaları hazırlamadan önce stok olarak kullanılan eriyikler hazırlandı. Şeker ve ortam sertleştirici madde ise medya hazırlandığı aşamada ilave edildi. Medya sertliği için uygulamalarda agar miktarı yüzde 7 olarak kullanıldı. Besiyeri pH' sının değeri Sodyumhidroksit ve Hidroklorik asit ile yapıldı. BDS medyasının pH değeri 6, MS ve B5 medyasının pH değeri 5.8 olarak ayarlandı. Hazırlıkları tamamlanan medyaların sterilizasyonu otoklav ile gerçekleştirildi. Bu işlem 1 atmosfer basınç altında, 121° C' de 20 dakika ile sağlandı.

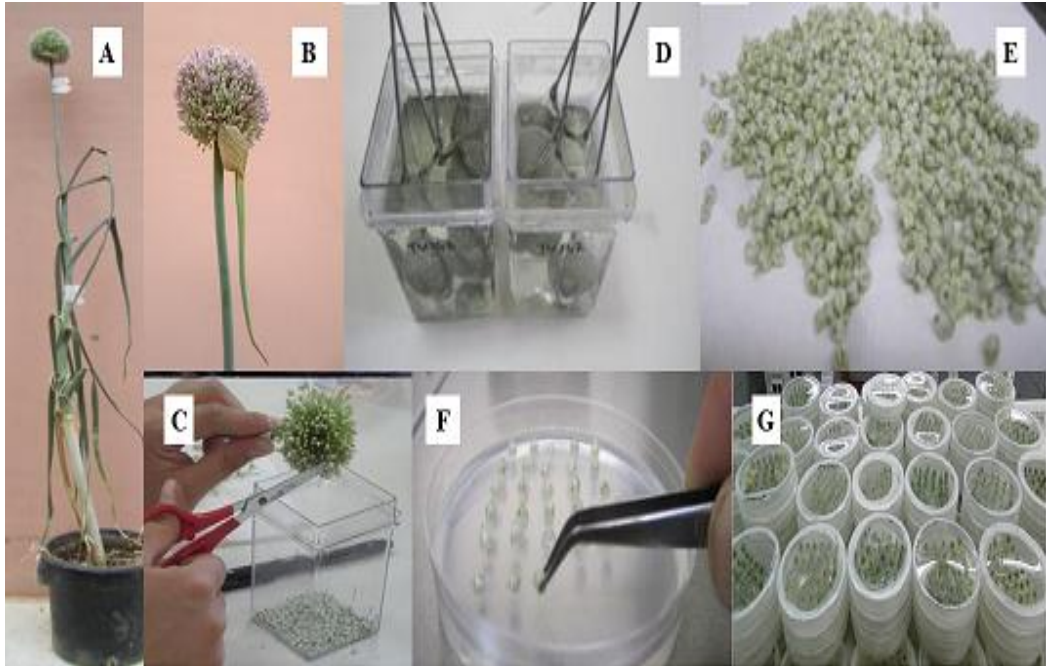
Tablo 1: *A. ampeloprasum* genotiplerinin kültüre alınan medya içerikleri

İçerik						
	Oksin		Sitokinin		Karbon	Katılaştırıcı
Uyartım ortamı	2,4-D (mg/l)	NAA (mg/l)	BAP (mg/l)	2İP (mg/l)	Sukroz (g/l)	Agar (g/l)
BDS temelli						
A ₀	2	-	2	-	0	7
A ₂₅	2	-	2	-	25	7
A ₅₀	2	-	2	-	50	7
A ₇₅	2	-	2	-	75	7
A ₁₀₀	2	-	2	-	100	7
A4 ₀	-	-	-	-	0	7
A4 ₂₅	-	-	-	-	25	7
A4 ₅₀	-	-	-	-	50	7
A4 ₇₅	-	-	-	-	75	7
A4 ₁₀₀	-	-	-	-	100	7
MS temelli						
F	-	-	-	-	0	8
F1	-	-	-	-	25	8
F2	-	-	-	-	50	8
F3	-	-	-	-	75	8
F4	-	-	-	-	100	8
F5	-	1	-	8	0	8
F6	-	1	-	8	25	8
F7	-	1	-	8	50	8
F8	-	1	-	8	75	8
F9	-	1	-	8	100	8
F10	2	-	2	-	0	8
F11	2	-	2	-	25	8
F12	2	-	2	-	50	8
F13	2	-	2	-	75	8
F14	2	-	2	-	100	8
B5 temelli						
G	-	-	-	-	0	7
G1	-	-	-	-	25	7
G2	-	-	-	-	50	7
G3	-	-	-	-	75	7
G4	-	-	-	-	100	7
G5	2	-	2	-	0	7
G6	2	-	2	-	25	7
G7	2	-	2	-	50	7
G8	2	-	2	-	75	7
G9	2	-	2	-	100	7

*BDS (Dunstan ve Short,1977), MS (Murashige ve Skoog,1962), B5 (Gamborg ,1968)

2.1.4.1 *A. ampeloprasum* Hatlarının Umbellerindeki Açmayan Tomurcukların Kültüre Alınması

Ginogenesis uyartımı için *A. ampeloprasum*'a ait dört hattan toplam olarak 108154 adet tomurcuk kültüre alındı. Kültüre alınan tomurcuklardan bir kısmı kontaminasyon olduğu için atıldı. Hatların ginogenesisise cevap verme ve şeker oranının ginogenik uyartımda farklı hatlara etkisini araştırmak amacıyla kültür ortamlarına şeker miktarı değişik oranlarda eklendi. Ayrıca hormon eklenen ve hormon eklenmeyen besi ortamları da çalışmada kullanıldı. Kültürler, içerisinde uyartım besi ortamı olan 90-15 mm çaplarındaki Petritabakları her birine 30 adet tomurcuk yerleştirilerek meydana getirildi. Petri tabaklarının kontaminasyonunu ve kurummasını engellemek için çift kat parafilm çekildi. Oluşturulan kültürlerin bilgileri veri olarak daha sonra kullanılmak üzere bilgisayara kaydedildi. Kültürler uygun gelişme şartlarına (16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık ortamda 22° C) gözlemleri yapılmak üzere bırakıldı.



Şekil 1: *A. ampeloprasum* hatlarının tomurcuklarının kültüre alınma aşamaları

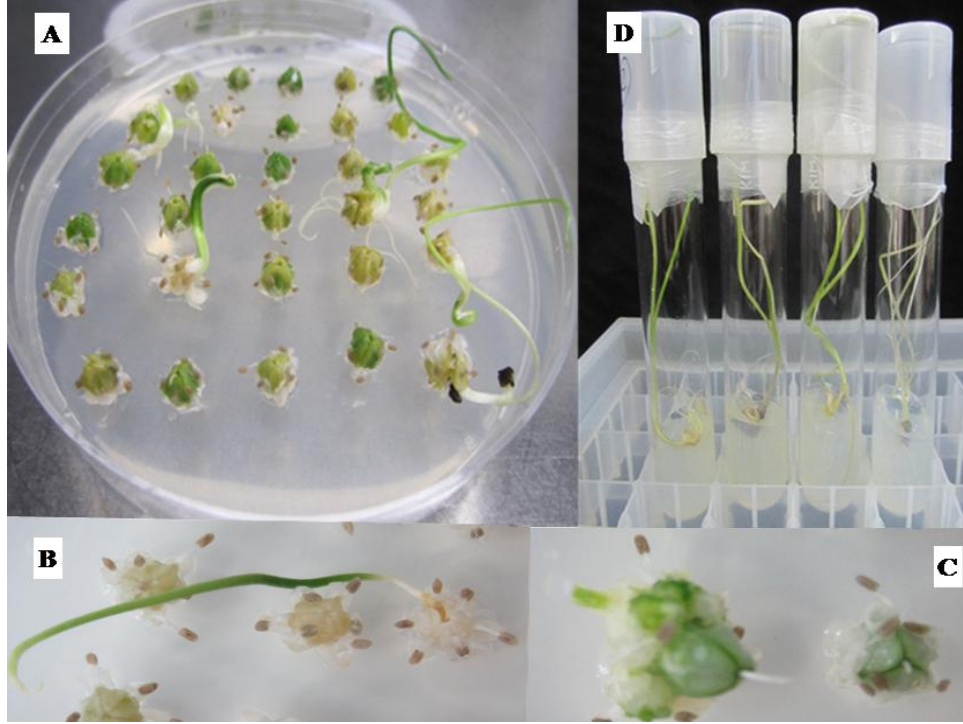
A. *A. ampeloprasum* hattı **B.** Umbellerin antesis seviyesi **C.** Umbellerden tomurcukların alınması **D.** Sterilizasyon aşaması **E.** Kuruyan tomurcuklar **F.** Kuruyan tomurcukların kültüre alınması **G.** Kültürlerin doku kültürü odasına alınması

2.1.4.2 *A.ampeloprasum* Kùltürlerinin Kontrol Edilmesi

Kùltüre alınan Petri tabaklarının her hafta gözlemleri yapıldı. Öncelikle enfekte olan Petri tabakları varsa bunlar belirlenerek bir kenara ayrıldı. Sonra bu tabakların kayıtlarında değişimler yapılarak laboratuvarından çıkarıldı. Daha sonra ise geriye kalan tabaklar incelenerek bunlarda gözlemlenen değişimler kayıtlara geçirildi. Gözlem sırasında tabakların etrafına çekilen parafilmelerin dayanıklılığına bakıldı eskimiş, yıpranmış vs. olanlar değiştirilerek yeniden yerlerine yerleştirildi. Kùltüre alınan *A. ampeloprasum* tomurcuklarından ginogenik bitkicikler kùltüre alındıktan itibaren üç ay sonra tomurcuğun iç kısımlarından çıkmaktadır. Somatik bitkicikler ise tomurcuğun taban kısmından çıkmaktadır. Böylelikle ginogenik ve somatik bitkicikler birbirinden ayırt edilir.

2.1.4.3 *A. ampeloprasum* Tomurcuklarının Gelişimleri

Kontroller sırasında ginogenesis uyarımına cevap veren tomurcuklar belirlendi. Belirlenen ginogenik bitkiciklerin gelişimlerini hızlandırmak için içerisinde hormon bulundurmayan büyüme besiyerlerine aktarıldılar (Şekil 2). Büyümeleri devam eden bitkicikler boyları biraz uzayınca kùltür tüplerine aktarıldı. Bu tüpler içlerinde aynı büyüme medyası bulundururlar. Tüpler uygun koşullardaki laboratuvarlarda yeniden büyüme bırakıldılar.



Şekil 2: Tüpe alınan ginogenik ve somatik bitkicikler

A. Petri tabağında gelişen bitkicikler B. Ginogenik bitkicik C. Somatik bitkicik D. Tüpe alınan bitkiler

2.1.4.4 *A.ampeloprasum* Bitkilerinde Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi

Çalışmalar sonucu oluşan *A.ampeloprasum* bitkileri tüplere aktarıldıktan sonra 2-3 yapraklı hale gelince flow sitometri (Beckman Coulter Cell Lab Quanta SC Flow cytometer) cihazı ile analizleri yapıldı. DNA miktarları ve polidi düzeyleri tespit edildi. Ölçümlerde kontrol bitki olarak arpa (*Hordeum vulgare* L. cv.) kullanıldı. Arumuganathan ve Earle (1991) tarafından *H.vulgare*' nin nükleer DNA miktarı 10,1 pg/2C olarak belirtilmiştir. Bir Petri tabağına ölçülecek olan bitki ve iç referans olarak kullanılacak olan arpanın filizlerinden yaklaşık 7 cm(45-50 gr) konularak üzerine damlalıklarla 1,5 ml NIB (nuclei isolation buffer) ilave edilerek yapıldı. NIB' e çekirdek izalasyon tamponu da denilmektedir(Tablo 4).

Petri kabına solüsyon içine alınan bitki parçaları keskin bir jilet aracılığıyla ezilmeden iyice parçalanılarak küçültüldü ve solüsyonda eşit dağılımı sağlandı. Daha sonra ekstratlar delikli bir filtre yardımıyla süzülerek Eppendorf tüplerinin içine aktarıldı ve tüpler buz içerisine yerleştirildi. Eğer hazırlanan ekstratlar hemen

kullanılmayacaksa buz içerisinde buzdolabına kaldırıldı ve sonra çıkartılıp kullanıldı. İçerisinde ekstrat bulunan tüplere flow analizi yapılacağı zaman 1 mg/ml PI (Propidium iodide) damlatıldı ve yaklaşık beş saniye vorteks yapıldı. Hazırlanan örnekler flow sitometri cihazıyla analiz edildi ve ploidi düzeyleri belirlenmiş oldu. (Şekil 3A-3H).

Tablo 2: NIB (nuclei isolation buffer) solüsyonu içeriği

Kimyasal	Kimyasal Miktarı	Final	Konsantrasyon Miktarı
HEPES	360 mg		15 mM
Na ₂ EDTA	37,22 mg		1mM
KCl	597 mg		80mM
NaCl	116,9 mg		20 mM
Triton X-100	200µl		% 0,2 (v/v)
Sükroz	10,		300 Mm
Spermin	17,4mg		0,5Mm
PVP-40	1 g		% 1

* NIB solüsyonu hazırlandıktan sonrapH değeri7,5olarakayarlanırvekullanım zamanınakadar-20°Cdesaklanalabilir.



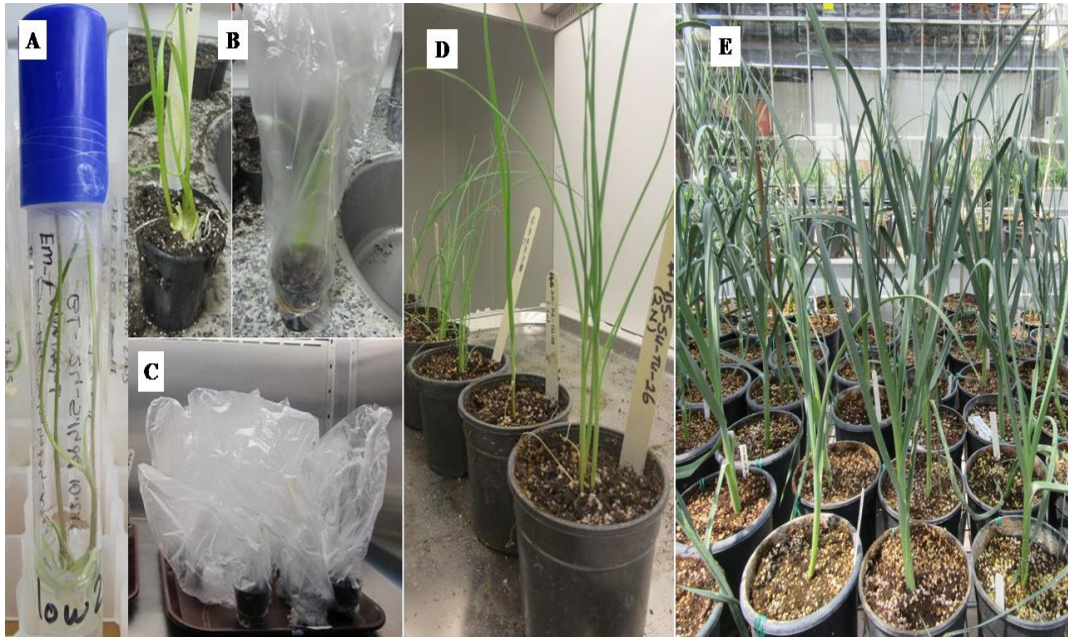
Şekil 3: Flow sitometri cihazı ile *A.ampeloprasum* bitkilerinde DNA miktarı ve ploidi düzeylerinin belirlenmesi

A. *A.ampeloprasum* hattı **B.** NIB (nuclei isolation buffer) solüsyonu **C.** Ölçümü yapılacak taze *A.ampeloprasum* yaprakları ve iç kontrol a rpa (*Hordeum vulgare*) yapraklarının parçalanması **D.** Eppendorf tüpüne alınan özüt **E.**Örneklerin propodium iodide (PI) ile boyanması. **F.**PI eklenen örneklerin vortekslenmesi **G.**Örneğin flow sitometri cihazına yerleştirilmesi **H.**Analiz yapıldıktan sonra elde edilen bulgulara ait bir histogram

2.1.4.5 *A. ampeloprasum* Bitkilerinin Laboratuvar Dışına Transferi

Ginogenesis uyartım çalışması sonucunda elde edilen *A. ampeloprasum* bitkileri laboratuvar dışına transfer edildi. Aktarımda kullanılacak 2:1 oranındaki torf ve perlit karışımı daha önceden otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutularak karışım halinde hazırlandı. Öncelikle bitkiler tüplerin içinden çıkarıldı ve kökleri su ile yıkanarak tamamen besiyeri kalıntılarından temizlendi. Kökleri medyadan arındırılan bitkiler içinde torf ve perlit bulunan küçük saksılara dikildi (Şekil 4B). Sonrasında saksılara bolca su verildi ve saksıların şeffaf poşetlerle üstü kapatıldı

(Şekil 4C). Naylon poşetler gerekli olan nemi dengelemek için kullanıldı. Hazırlanan saksılar 17° C' ye ayarlanmış olan büyütme kabineine konuldu. İki ya da üç gün sonra saksılardaki poşetlere birkaç yerinden delikler açıldı. Bu aşamadan sonra yaklaşık olarak 10 gün sonra poşetler tümüyle çıkartıldı ve bitkiler gereği kadar büyüdüğünde bir büyük boy saksılara aktarılarak serada bulunan büyütme kabineine transfer edildi (Şekil 4D). Seradaki büyütme kabini 17° C' de ayarlıdır, bitkiler burada ise yaklaşık bir ay kadar büyütüldü. Daha sonra yeterince büyüyen bitkiler 4,6 lt saksılara transfer edilerek artık seraya alındı (Şekil 4E). Serada biraz daha gelişip büyüyen bitkiler 7 litrelik saksılara geçirilerek normal sera şartlarında büyümeleri sağlandı ve büyümeleri takip edildi. Seradaki büyümesini tamamlayan bitkiler genelde umbel oluşturmuşlardır. Bitkilerin umbelleri tohum oluşumunu tamamladıktan sonra umbeller toplandı ve kurutuldu. Kuruyan umbellerden tohumlar çıkarıldı, temizlendi ve küçük poşetlere konuldu ve her bitkinin ismi poşetlerin üzerine yazılarak soğuk odada muhafaza edildi.



Şekil 4: *A. ampeloprasmus* bitkilerinin dış ortama aktarılması

A. *In vivo* 'ya aktarılabacak *A.ampeloprasmus* hattı **B.** Medyadan çıkarılıp temizlenen bitkilerin küçük saksılara dikilmesi ve poşetle örtülmesi **C.** Poşetle örtülen bitkilerin *In vivo* 'ya alıştırma süreci **D.** *In vivo* 'ya alıştırılan bitkiler **E.** Dış ortama aktarılan bitkilerin serada büyük saksılardaki gelişimi

2.1.4.6 *A. ampeloprasum* denemeleri sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi

A. ampeloprasum denemelerinde elde edilen veriler istatistiksel program olan Minitab ile analiz edildi. Ginogenesis çalışması sonucunda elde edilen ginogenik ve somatik değerler karşılaştırılırken yeterli örnek sayısı olması durumunda Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve medyaların hangileri arasında fark olduğunu anlamak için ise TUKEY yöntemi kullanıldı.

3. KÜLTÜRLERDE YAPILAN GÖZLEMLER

Ginogenesis uyartımı çalışması için kültür ortamına alınan çiçek tomurcukları kültüre alındıktan birkaç gün sonra açmaya ve büyümeye başladı. Tomurcuk boyutları iki-üç hafta kadar süre geçtiğinde ilk boyutlarının beş-on katına ulaştı. Kültüre alınan *A. ampeloprasm* tomurcuklarından ginogenik bitkicikler kültüre alındıktan takiben üç ay sonra tomurcuğun iç kısımlarından çıkmışlardır.

3.1 *A. ampeloprasm* Genotiplerine Ait Ginogenesis Uyartımı Çalışmaları Bulguları

A. ampeloprasm bitkisine ait ginogenesis uyartım çalışmalarında dört farklı genotip kullanıldı. Besi ortamı olarak MS, BDS ve B5 olmak üzere üç tip ana medya tipleri kullanıldı. Bu üç ana medya kendi içerisinde sukroz oranları (0, 25, 50, 75, 100 g/l), büyüme ve farklılaşma hormonları olan Oksin (2,4-D, NAA) ve Sitokinin (BAP ve 2İP) miktarları değiştirilerek kullanıldı (Tablo 1).

A. ampeloprasm bitkisine ait ginogenesis uyartım çalışmalarında dört farklı genotipten toplamda 96 binden fazla açmamış tomurcuk kullanıldı. Çalışmalarda kültürü yapılan dört farklı genotipten toplam da 157 tane ginogenik bitkicik elde edildi. Bu 157 ginogenik bitkicikğin 54(% 34,39) adedi Tarsus Uzun, 44(% 28,02) adedi Tarsus Kısa, 37 (% 23,56) adedi Kartal Kalem diğer 22(% 14,01) adedi ise İnegöl genotiplerine aittir. Kültüre alınan *A. ampeloprasm* genotiplerinin hepsinden ginogenik cevap farklı oranlarda alındı. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda hatların farklı uyartım medyalarına vermiş oldukları ginogenik cevaplar arasında önemli derece de farklılıklar görülmemiştir.

Tarsus Uzun hattına ait kültüre alınan 22356 adet tomurcuktan bütün medyalarından toplamda 54 (%0,24) tane ginogenik bitkicik elde edildi (Tablo 3). Elde edilen ginogenik bitkiciklerin 30 (%0,44) adedinin 6803 tomurcuk ekilen BDS temelli medya grubundan, 18 (%0,20) adedinin 9142 tomurcuk ekilen MS grubu medyalarından diğer altı (%0,09) adedinin ise 6411 tomurcuk ekilen B5 grubu

medyalarda gelişim gösterdiği gözlemlendi (Tablo 3). BDS medyası ($A_{(0)}$, $A_{(25)}$, $A_{(50)}$, $A_{(75)}$, $A_{(100)}$, $A4_{(0)}$, $A4_{(25)}$, $A4_{(50)}$, $A4_{(75)}$, $A4_{(100)}$) kendi içerisinde sukroz ve hormon oranlarına göre gruplandırıldı (Tablo 3). BDS medyalarının çeşitlerine baktığımızda en yüksek ginogenik bitkicik gelişimi 16 (% 2,54) adet ile $A4_{(100)}$ medyasında, daha sonra sekiz (% 1,05) adedi $A4_{(50)}$, üç (% 0,38) adedi $A4_{(75)}$, iki (% 0,32) adedi $A_{(50)}$ ve bir (% 0,15) adedi $A_{(25)}$ medyasında olmak üzere gelişim gösterdiği gözlemlendi(Tablo 3).

MS medya grubu, içerisinde farklı oranlarda sukroz ve hormon eklenerek F, F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13, F14 olarak gruplara ayrıldı (Tablo 3). MS grubunda gelişim gösteren 18 adet ginogenik bitkicik sayıca en fazla 13 (% 2,17) adet ile F4 medyasında olduğu görüldü, F4 medyasını gelişim sırası olarak üç (% 0,47) adet bitkicik oluşumu ile F8 medyası ve birer (% 0,17) adet ginogenik bitkicik oluşumuyla F3 ile F7 medyaları izlemektedir (Tablo 3). MS grubu medyaların diğer çeşitlerinde (F, F1, F2, F5, F6, F9, F10, F11, F12, F13, F14) ginogenik bitkicik oluşumu görülmedi (Tablo 3).

Tarsus Uzun hattından elde edilen ginogenik bitkicikler en az sayıda B5 temelli medyalardan elde edildi. B5 medya grubu farklı oranlarda sukroz ve hormon bulundurmasına göre; G, G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8 ve G9 şeklinde ayrıldı (Tablo 1). Elde edilen ginogenik bitkiciklerin iki (% 0,28) adedi G8 medyasında aynı zamanda her birinden bir adet olmak üzere % 0,13-%0,17 oran aralığında G1, G2, G4 ve G9 medyalarında meydana geldiği görüldü fakat bu beş medya hariç diğer B5 temelli medya (G, G3, G5, G6, G7) çeşitlerinde ginogenik bitkicik oluşumu gözlemlenmedi (Tablo 3).

Tarsus Uzun genotipine ait en iyi ginogenik bitki oluşumu BDS medyalarında meydana geldi. 100 gr/l sukroz içeren $A4_{(100)}$ medyasında 16 (%2,54) adet ile en fazla sayıda ginogenik bitki oluşumu gözlemlendi (Tablo 3). Daha sonra bunu sayıca sekiz (%1,05), üç (%0,38), iki (%0,32), bir (% 0,15) olarak sırasıyla $A4_{(50)}$, $A4_{(75)}$, $A_{(50)}$ ve $A_{(25)}$ medyaları takip etmektedir (Tablo 3). MS medyasında sayıca en yüksek ginogenik bitki oluşumu 13 (%2,17) adet olarak 100 g/l sukroz içeren F4 medyasında olduğu görülmektedir, bunu takiben üç (%0,47), bir (%0,17), bir(%0,17) ginogenik bitki sayıları ile F8, F3, F7 medyaları izlemektedir (Tablo 3). Ginogenik bitki oluşumu en düşük olan B5 medya grubuna bakacak olursak; en iyi gelişimi

iki(%0,28) adet ginogenik bitki ile G8 medyası sağladı (Tablo 3). B5 medya grubu içerisinde olan G1, G2, G4 ve G9 medyalarında ise birer (% 0,13-% 0,17) adet ginogenik bitki oluşumu gözlemlenmiştir ancak G, G3, G5, G6 ve G9 medyalarında ginogenik bitki oluşumu meydana gelmediği görüldü (Tablo 3).

Tarsus Kısa genotipine ait olan 23060 adet tomurcuk kültüre alınmış olup bunlardan toplamda 44 (%0,19) adet ginogenik bitkicik elde edildi (Tablo 4). En iyi ginogenik bitkicik oluşumu 6481 adet tomurcuk ekilen ve bu tomurcuklardan 24 (%0,37) adet ginogenik bitkicik gözlemlenen B5 medyalarında meydana geldi (Tablo 4). B5 medyası içerisinde en yüksek verim 100 g/l sukroz içeren G4 ve G9 medyalarında sırasıyla 10 (% 1,28) ve yedi (% 0,97) adet aynı zamanda 75 gr sukroz içeren G3 ve G8 medyalarında sırası ile beş (% 0,76) ve iki (% 0,32) adet ginogenik bitkicik gözlemlendi (Tablo 4).G, G1, G2, G5, G6 ve G7 medyalarında ise ginogenik bitkicik oluşumu görülmedi (Tablo 4).

BDS medyasına 6909 adet tomurcuk ekimi yapıldı ve 10 (% 0,14) adet ginogenik bitkicik elde edildi (Tablo 4). BDS grubu medya çeşitlerinde beş (% 0,81) adet A4₍₁₀₀₎, dört (% 0,51) adet A4₍₇₅₎ ve bir (% 0,15) adet A₍₅₀₎ medyasından ginogenik bitkicik oluşumu gözlemlendi (Tablo 4). Bu üç medya haricinde diğer BDS grubu medyalarından ginogenik bitkicik elde edilemedi (Tablo 4).

MS medyasında kültüre alınan tomurcuk sayısı ise 9670 adettir ve bu tomurcuklardan toplamda 10 (% 0,10) adet ginogenik bitkicik oluştuğu belirlendi (Tablo 4). MS medya grubuna daha detaylı baktığımızda F13 medyası üç (% 0,48) adet ginogenik bitkicik oluşturarak en iyi gelişimi gösterdi (Tablo 4). F13 medyasını takiben F3, F9, F4, F8 ve F medyalarında ginogenik bitkicik oluşumu kaydedildi (Tablo 4). MS grubu içerisinde bulunan bunların dışında kalan diğer medyalar da ise ginogenik bitkicik oluşumu gözlemlenemedi (Tablo 4).

Tarsus Kısa genotipinde ginogenik bitki oluşumu açısından medyalarındaki gelişimlerine bakılacak olursa en iyi gelişimin B5 medya grubu içerisinde olduğu görülmektedir. Bu ginogenik bitkilerin 10 (% 1,28) adedi G4 medyasında meydana gelirken, yedi (% 0,97) ginogenik bitki G9 medyasında, beş (% 0,76) ginogenik bitki G3 medyasında ve son olarak iki (% 0,32) ginogenik bitkinin ise G8 medyasında gelişim gösterdiği kaydedildi (Tablo 4). B5 medya grubuna ait olan diğer medyalar da

(G, G1, G2, G5, G6, G7) hiç ginogenik bitki elde edilemedi. Ginogenik bitki eldesi bakımından BDS medya grubundansayınca en iyi verim $A_{4(100)}$ medyasından beş (% 0,81) adet olarak alınırken, $A_{4(75)}$ medyasında dört (% 0,51) ve $A_{(50)}$ medyasında ise bir (% 0,15) adet ginogenik bitki meydana geldi (Tablo 4). $A_{4(0)}$, $A_{4(25)}$, $A_{4(50)}$, $A_{(0)}$, $A_{4(25)}$, $A_{(75)}$, $A_{4(75)}$ medyalarında ginogenik bitki elde edilemedi. MS medyalarında ginogenik bitki eldesi oranları % 0,15–% 0,48 arasında değişim göstermektedir (F13 üç (% 0,48), F3 iki (% 0,33), F9 iki (% 0,29), F bir (% 0,15), F4 bir (% 0,15), F8 bir (% 0,15)) (Tablo 4).

Kartal Kalem genotipine ait toplamda 26599 adet tomurcuk kültüre alındı ve kültüre alınan tomurcuklardan 37 (% 0,14) adet ginogenik bitkicik elde edildi. Elde edilen ginogenik bitkiciklerin gelişim derecesinin MS, BDS ve B5 medyalarında sırasıyla çoktan aza doğru olduğu görülmektedir. Kültürü yapılan tomurcukların 11489 adedi MS medyasına ekilerek 19 (% 0,16) adet ginogenik bitkicik meydana getirildi (Tablo 5). MS medyaları içerisinde en fazla sayı F4 (altı (% 0,80)) ve F2 (beş (% 0,66)) medyalarında gözlemlenirken, daha az sayıda F12 (iki (% 0,26)), F14 (iki (% 0,25)), F3 (bir (% 0,13)), F6 (bir (% 0,13)), F9 (bir (% 0,13)) ve F13 (bir (% 0,10)) medyalarında da ginogenik bitkicik oluşumu kaydedildi (Tablo 5).

BDS medyalarında 7791 adet tomurcuk kültüre alındı ve 14 (% 0,18) ginogenik bitkicik elde edildi. Bu ginogenik bitkiciklerin yedi (% 0,97) adedinin $A_{(75)}$ medyasında, üç (% 0,40) adedinin $A_{4(100)}$, üç (% 0,31) adedinin $A_{(50)}$ ve bir (% 0,12) adedinin ise $A_{4(75)}$ medyasında olduğu görülmektedir (Tablo 5).

Kartal Kalem genotipi için B5 medyalarında kültürü yapılan tomurcuk sayısı 7319 adettir ve elde edilen ginogenik bitkicik sayısı dört (% 0,05) adet olarak kaydedildi. Elde edilen bitkiciklerin % 0,13-% 0,15 oranlarında G2, G3, G4 ve G7 medyalarından geldiği gözlemlendi (Tablo 5).

Kartal Kalem genotipinde üç temel medyadan (BDS, MS ve B5) toplamda 37 (% 0,14) adet ginogenik bitki elde edildiği gözlemlendi. Ginogenik bitkilerin medyalardaki gelişimlerine baktığımızda 19 (% 0,16) adedi MS medya grubundan elde edildi, ginogenik bitki oluşum oranları % 0,10-% 0,80 arasında değişim göstermektedir (Tablo 5). En iyi gelişim oranlarının altı (% 0,80) adet ile F4 ve beş (% 0,66) adet ile F2 medyasında olduğu görülürken, en az gelişim oranının bir (%

0,10) adet ginogenik bitki ile F13 medyasında olduğu görülmektedir (Tablo 5). F, F1, F5, F7, F8, F10 ve F11 medyalarında ise hiç ginogenik bitki oluşumu gözlemlenmedi. BDS medya grubunda en fazla ginogenik bitki yedi (% 0,97) adet olarak A₍₇₅₎medyasında gelişim gösterdi. Daha sonra A₍₇₅₎medyasını üç (% 0,40) adet ile A₄₍₁₀₀₎medyası, üç (% 0,31) adet ile A₍₅₀₎medyası ve bir (% 0,12) adet ile A₄₍₇₅₎medyası takip etmektedir (Tablo 5). A₄₍₀₎, A₄₍₂₅₎, A₄₍₅₀₎, A₍₀₎, A₍₂₅₎ ve A₍₁₀₀₎medyalarında ise ginogenik bitki elde edilemedi. B5 medya grubundan G7 medyasından bir (% 0,15), G2 medyasından bir (% 0,13), G3 medyasından bir (% 0,13) ve G4 medyasından bir (% 0,13) adet olmak üzere toplamda 4 (% 0,05) adet ginogenik bitki elde edildi (Tablo 5). B5 medya grubu içerisindeki G, G1, G5, G6, G8 ve G9 medyalarında ise ginogenik bitki elde edilemedi.

İnegöl hattında 24296 adet tomurcuktan toplamda 22 (% 0,09) adet ginogenik bitkicik oluşumu görüldü (Tablo 6). Bu İnegöl hattına ait olan 22 adet ginogenik bitkicikğin medyalardaki sayısal dağılımına baktığımızda 11 (% 0,10) adedi 10304 tomurcuk ekilen MS temelli medyalardan, dokuz (% 0,13) adedi 6923 tomurcuk ekilen BDS temelli medyalardan diğer iki (% 0,02) adedi 7069 tomurcuk ekilen B5 temelli medyalardan elde edildi (Tablo 6). MS grubu medyalarında ginogenik bitkicik F7 (dört (% 0,63)), F9 (üç (% 0,40)), F4 (iki (% 0,26)), F2 (bir (% 0,14)), ve F11 (bir (% 0,14)) medyalarından elde edildi, diğer (F, F1, F3, F5, F6, F8, F10, F12, F13 ve F14) medyaların ise hiçbirinde ginogenik bitkicik gözlemlenmedi (Tablo 6). BDS temelli olan medya çeşitlerinde ginogenik bitkicik en yüksek üç (% 0,37) adet ile A₄₍₅₀₎medyasında gözlemlenirken, bunu A₍₇₅₎ (iki (% 0,31)), A₄₍₁₀₀₎ (bir (% 0,16)), A₄₍₇₅₎ (bir (% 0,15)), A₄₍₂₅₎ (bir (% 0,14)) ve A₍₅₀₎ (bir (% 0,14)) medyaları takip etmektedir (Tablo 6). B5 medya çeşitlerinde ise ginogenik bitkicik birer adet olmak üzere sadece G3 (% 0,13) ve G4 (% 0,14) medyalarında gözlemlendi, fakat diğer B5 medya çeşitlerinde (G, G1, G2, G5, G6, G7, G8, G9) ginogenik bitkicik gelişimi gözlemlenemedi (Tablo 6).

İnegöl genotipine ait toplamda 19 (% 0,08) adet ginogenik bitki elde edildi. Elde edilen ginogenik bitkilerin medyalara göre dağılımlarında; dokuz (% 0,13) adedinin BDS medyasından, sekiz (% 0,08) adedinin MS medyasından ve diğer iki (% 0,02) adedinin ise B5 medyasından geldiği görülmektedir (Tablo 8). BDS medyasında elde edilen ginogenik bitki oranları % 0,14–% 0,37 aralığında değişim

gösterirken, en yüksek ginogenik bitki eldesinin üç (% 0,37) adet ile A4₍₅₀₎ medyasında olduğu kaydedildi(Tablo 6). MS temelli medyalarda ginogenik bitki gelişim oranları % 0,14-% 0,63 arasında olup, en iyi ginogenik bitki gelişimi dört (% 0,63) adet ile F7 medyasında, en az gelişim ise bir (% 0,14) adet ile F2 ve F11 medyalarında olduğu görülmektedir (Tablo 6). B5 temelli medyalarda sadece G3 ve G4 medyalarında ginogenik bitki oluşumu kaydedildi(Tablo 6).

Tablo 3: Tarsus Uzun genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu

GİNOGENESİS UYARTIM ORTAMI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	GİNOGENİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİ SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	660	0 A	0 A	0
A4(25)	630	0 A	0 A	0
A4(50)	762	8 (1,05) AB	8 (1,05) AB	100
A4(75)	780	3 (0,38) A	3 (0,38) A	100
A4(100)	630	16 (2,54) B	16 (2,54) B	100
A(0)	660	0 A	0 A	0
A(25)	660	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
A(50)	630	2 (0,32) A	2 (0,32) A	100
A(75)	671	0 A	0 A	0
A(100)	720	0 A	0 A	0
ΣBDS	6803	30 (0,44)	30 (0,44)	100
F	660	0 A	0 A	0
F1	540	0 A	0 A	0
F2	645	0 A	0 A	0
F3	594	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
F4	600	13 (2,17) AB	13 (2,17) AB	100
F5	600	0 A	0 A	0
F6	660	0 A	0 A	0
F7	600	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
F8	638	3 (0,47) A	3 (0,47) A	100
F9	690	0 A	0 A	0
F10	540	0 A	0 A	0
F11	575	0 A	0 A	0
F12	600	0 A	0 A	0
F13	600	0 A	0 A	0
F14	600	0 A	0 A	0
ΣMS	9142	18 (0,20)	18 (0,20)	100
G	570	0 A	0 A	0
G1	600	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
G2	660	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
G3	660	0 A	0 A	0
G4	570	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
G5	720	0 A	0 A	0
G6	600	0 A	0 A	0
G7	568	0 A	0 A	0
G8	713	2 (0,28) A	2 (0,28) A	100
G9	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
ΣB5	6411	6 (0,09)	6 (0,09)	100
Σ TOPLAM	22356	54 (0,24)	54 (0,24)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Tablo 4: Tarsus Kısa genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu

GİNOGENESİS UYARTIM ORTAMI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	GİNOGENİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİ SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	584	0 A	0 A	0
A4(25)	660	0 A	0 A	0
A4(50)	720	0 A	0 A	0
A4(75)	780	4 (0,51) A	4 (0,51) A	100
A4(100)	615	5 (0,81) A	5 (0,81) A	100
A(0)	660	0 A	0 A	0
A(25)	660	0 A	0 A	0
A(50)	648	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
A(75)	780	0 A	0 A	0
A(100)	802	0 A	0 A	0
ΣBDS	6909	10 (0,14)	10 (0,14)	100
F	630	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
F1	630	0 A	0 A	0
F2	690	0 A	0 A	0
F3	600	2 (0,33) A	2 (0,33) A	100
F4	630	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
F5	690	0 A	0 A	0
F6	600	0 A	0 A	0
F7	660	0 A	0 A	0
F8	650	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
F9	690	2 (0,29) A	2 (0,29) A	100
F10	720	0 A	0 A	0
F11	570	0 A	0 A	0
F12	630	0 A	0 A	0
F13	620	3 (0,48) A	3 (0,48) A	100
F14	660	0 A	0 A	0
ΣMS	9670	10 (0,10)	10 (0,10)	100
G	660	0 A	0 A	0
G1	573	0 A	0 A	0
G2	720	0 A	0 A	0
G3	660	5 (0,76) A	5 (0,76) A	100
G4	780	10 (1,28) A	10 (1,28) A	100
G5	600	0 A	0 A	0
G6	576	0 A	0 A	0
G7	579	0 A	0 A	0
G8	613	2 (0,32) A	2 (0,32) A	100
G9	720	7 (0,97) A	7 (0,97) A	100
ΣB5	6481	24 (0,37)	24 (0,37)	100
Σ TOPLAM	23060	44 (0,19)	44 (0,19)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Tablo 5: Kartal Kalem genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu

GİNOGENESİS UYARTIM ORTAMI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	GİNOGENİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİ SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	660	0 A	0 A	0
A4(25)	736	0 A	0 A	0
A4(50)	780	0 A	0 A	0
A4(75)	841	1 (0,12) A	1 (0,12) A	100
A4(100)	750	3 (0,40) A	3 (0,40) A	100
A(0)	780	0 A	0 A	0
A(25)	801	0 A	0 A	0
A(50)	973	3 (0,31) A	3 (0,31) A	100
A(75)	720	7 (0,97) A	7 (0,97) A	100
A(100)	750	0 A	0 A	0
ΣBDS	7791	14 (0,18)	14 (0,18)	100
F	750	0 A	0 A	0
F1	765	0 A	0 A	0
F2	757	5 (0,66) A	5 (0,66) A	100
F3	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
F4	750	6 (0,80) A	6 (0,80) A	100
F5	870	0 A	0 A	0
F6	737	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
F7	630	0 A	0 A	0
F8	750	0 A	0 A	0
F9	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
F10	750	0 A	0 A	0
F11	750	0 A	0 A	0
F12	750	2 (0,26) A	2 (0,26) A	100
F13	920	1 (0,10) A	1 (0,10) A	100
F14	810	2 (0,25) A	2 (0,25) A	100
ΣMS	11489	19 (0,16)	19 (0,16)	100
G	780	0 A	0 A	0
G1	702	0 A	0 A	0
G2	740	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
G3	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
G4	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
G5	671	0 A	0 A	0
G6	736	0 A	0 A	0
G7	660	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
G8	810	0 A	0 A	0
G9	720	0 A	0 A	0
ΣB5	7319	4 (0,05)	4 (0,05)	100
Σ TOPLAM	26599	37 (0,14)	37 (0,14)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Tablo 6: İnegöl genotipinin ginogenik bitkicik ve bitki oluşumu

GİNOGENESİS UYARTIM ORTAMI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	GİNOGENİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİ SAYISI - (%)	GİNOGENİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	600	0 A	0 A	0
A4(25)	709	1 (0,14) A	1 (0,14) A	100
A4(50)	810	3 (0,37) A	3 (0,37) A	100
A4(75)	683	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
A4(100)	633	1 (0,16) A	1 (0,16) A	100
A(0)	720	0 A	0 A	0
A(25)	630	0 A	0 A	0
A(50)	735	1 (0,14) A	1 (0,14) A	100
A(75)	653	2 (0,31) A	2 (0,31) A	100
A(100)	750	0 A	0 A	0
ΣBDS	6923	9 (0,13)	9 (0,13)	100
F	690	0 A	0 A	0
F1	613	0 A	0 A	0
F2	720	1 (0,14) A	1 (0,14) A	100
F3	676	0 A	0 A	0
F4	771	2 (0,26) A	2 (0,26) A	100
F5	600	0 A	0 A	0
F6	660	0 A	0 A	0
F7	630	4 (0,63) A	4 (0,63) A	100
F8	750	0 A	0 A	0
F9	750	3 (0,40) A	0 A	0
F10	744	0 A	0 A	0
F11	690	1 (0,14) A	1 (0,14) A	100
F12	630	0 A	0 A	0
F13	630	0 A	0 A	0
F14	750	0 A	0 A	0
ΣMS	10304	11 (0,10)	8 (0,08)	72,72
G	690	0 A	0 A	0
G1	678	0 A	0 A	0
G2	660	0 A	0 A	0
G3	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
G4	690	1 (0,14) A	1 (0,14) A	100
G5	720	0 A	0 A	0
G6	690	0 A	0 A	0
G7	751	0 A	0 A	0
G8	705	0 A	0 A	0
G9	735	0 A	0 A	0
ΣB5	7069	2 (0,02)	2 (0,02)	100
ΣTOPLAM	24296	22 (0,09)	19 (0,08)	86,36

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Çalışmalarda kültüre alınan tomurcuklardan toplam olarak 50 adet somatik bitkicik elde edildi. Elde edilen somatik bitkiciklerin 18 (% 36) adedi Tarsus Uzun genotipine, 13 (% 26) adedi Tarsus Kısa genotipine, 13 (% 26) adedi İnegöl genotipine ve diğer altı (%12) adedi ise Kartal Kalem genotipine aittir. Her hat için medyalardan alınan cevaplar farklı farklı oranlarda oldu. Yapılan istatistiksel analizler neticesinde hatların uyartım medyalarına vermiş oldukları somatik cevaplar karşılaştırıldığında önemli derece de farklılıklar bulunmadığı görülmektedir.

En fazla somatik bitkiciğin elde edildiği Tarsus Uzun hattına ait MS medya grubuna 9142 adet, B5 medya grubuna 6411 ve BDS medya grubuna ise 6803 adet olmak üzere toplamda 22356 adet tomurcuk kültüre alındı (Tablo 7). MS medyasında somatik bitkicik oluşum oranı % 0,16–% 0,78 arasında değişim göstermektedir, en yüksek oran beş (% 0,78) adet ile F8 medyasında görülürken en düşük oran ise bir (% 0,16) adet olarak F7 medyasında gözlemlendi (Tablo 7). B5 medyasında ise sadece G6 (% 0,16) ve G7 (% 0,17) medyalarında birer adet somatik bitkicik oluşumu görüldü (Tablo 7). Bu iki medya haricindeki diğer B5 medyalarında bitkicik oluşumu görülmedi (Tablo 7). BDS medya grubunda ise hiçbir medyada somatik bitkicik gelişimi olmadı (Tablo 7).

Tarsus Uzun hattında somatik bitki gelişimi en iyi 16 (% 0,17) adet olarak MS medya grubunda meydana geldi (Tablo 7). F8, F6 ve F9 medyalarında sırasıyla % 0,78-% 0,75-% 0,72 oranlarında, F7 medyasında da % 0,16 oranında somatik bitki meydana geldiği gözlemlendi (Tablo 7). B5 grubuna ait olarak ise G6 medyasından % 0,16 oranında ve G7 medyasından % 0,17 oranında somatik bitki meydana geldi (Tablo 7). BDS medyasında hiç somatik bitki gelişimi kaydedilemedi (Tablo 7).

Tarsus Kısa hattına ait ekimi yapılan 23060 adet tomurcuğun 9670 adedi MS medyasında kültüre alındı ve % 0,15–% 1,30 oranları arasında somatik bitkicik oluşumu gözlemlendi (Tablo 8). En fazla gelişimi dokuz (% 1,30) adet ile F9 medyası göstermektedir (Tablo 8). 6481 adet tomurcuk ekilen B5 medya grubundan sadece G7 medyasında % 0,17 oranında somatik bitkicik meydana geldi, diğer B5 grubu medyalarında (G, G1, G2, G3, G4, G5, G6, G8, G9) bitkicik oluşumu görülmedi (Tablo 8). BDS medya grubuna 6909 adet tomurcuk ekimi yapıldı fakat hiçbir medyada somatik bitkicik eldesi olmadı (Tablo 8).

Tarsus Kısa genotipine ait, üç temel medyadan (MS, B5, BDS) toplamda 13 (% 0,06) adet somatik bitkimeydana geldi (Tablo 8). En iyi gelişim 12 (% 0,12) adet ile MS medya grubundameydana geldi. MS grubu içerisinde ise 100 g/l sukroz bulunduran F9 medyasından % 1,30 oranında en çok somatik bitki elde edildiği kaydedildi (Tablo 8). F6, F7 ve F8 medyaları ise bitki meydana getiren diğer MS medyalarıdır. B5 medya grubu içerisine baktığımızda ise yalnızca G7 medyasının bir (% 0,17) adet somatik bitki oluşturduğu kaydedildi (Tablo 8).

İnegöl hattına ait 10304 adet tomurcuk ekilen MS medya grubunda sekiz (% 0,07) adet somatik bitkicik elde edildi (Tablo 9). Elde edilen bitkicikler sayıca en fazla iki (% 0,31) adet ile F7 medyasında gözlemlenirken bunu sırasıyla F4, F8, F12 ve F6 medyaları takip etmektedir (Tablo 9). BDS medya grubuna baktığımızda 6923 adet tomurcuktan toplamda 3 (% 0,04) adet somatik bitkiciğin oluştuğu görülmektedir (Tablo 9). Oluşan bitkiciklerin iki (% 0,31) adedi A₄₍₁₀₀₎medyasına bir (% 0,13) adedi de A₍₁₀₀₎medyasına ait olduğu görülmektedir (Tablo 9). A₄₍₁₀₀₎ve A₍₁₀₀₎medyalarının ikisinde 100 g/l sukroz içermektedirler. B5 medya grubunda 7069 tomurcuk kültüre alındı ve iki (% 0,03) adet somatik bitkicik oluşumu kaydedildi (Tablo 9). İnegöl hattı için B5 medyasında meydana gelen bitkiciklerin hepsi G1 medyasında gelişim gösterdi.

İnegöl hattındaki somatik bitki oluşumlarına bakıldığında toplamda 13 (% 0,05) adet somatik bitki elde edildi (Tablo 9). Meydana gelen bitkilerin en iyi gelişim gösterdiği medya MS medya grubundaki medyalar olduğu görüldü. F7 medyasından % 0,31 oranında somatik bitki, F4 ve F8 medyalarından % 0,26 oranında, F12 medyasından % 0,16 oranında son olarak da F6 medyasından % 0,15 oranında somatik bitki elde edildi (Tablo 9). BDS medya grubu içerisinde olan A₄₍₁₀₀₎medyasından % 0,31 oranında ve A₍₁₀₀₎medyasından % 0,13 oranında olmak üzere toplamda iki adet somatik bitki elde edilirken diğer BDS medyalarından hiç somatik bitki elde edilemedi (Tablo 9). B5 medya grubu somatik bitkinin en az elde edildiği gruptur, bu grup içerisinde yalnızca G1 medyası % 0,29 oranında somatik bitki oluşumu sağlandı (Tablo 9).

Kartal Kalem genotipine ait 26599 adet tomurcuk kültüre alındı. Kültürü yapılan tomurcuklardan en yüksek sayıda somatik bitkicik üç (% 0,31) ile BDS medya grubunda bulunan A₍₅₀₎medyasından alındı (Tablo 10). BDS medya grubuna

ait olan başka hiçbir medyadan somatik bitkicik elde edilemedi. MS grubu medyalara baktığımızda ise bir (% 0,17) adet F7 ve bir (%0,13) adet F8 medyasından olmak üzere iki adet somatik bitkicik oluşumu gözlemlenebildi (Tablo 10). B5 medya grubu çeşitlerinden sadece bir (% 0,12) adet G8 medyasında somatik bitkicik meydana gelmiştir, bu grup içerisinde geriye kalan medyalarda somatik bitkicik oluşumu görülmedi (Tablo 10).

Kartal Kalem hattından elde edilen somatik bitkilerin BDS grubu medyalarda % 0,31 oranında A₍₅₀₎medyasında olduğu görülmektedir (Tablo 10). MS medya grubunda iki çeşit medyada somatik bitki oluşumu görülmektedir, bunlar sırasıyla % 0,17 ve % 0,13 oranlarında F7–F8 medyalarıdır (Tablo 10). En düşük somatik bitki oluşum oranının B5 medya çeşitlerinden biri olan G8 medyasında % 0,12 olduğu gözlemlendi (Tablo 10).

Tablo 7 : Tarsus Uzun genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu

MEDYA ADI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	SOMATİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİ SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	660	0 A	0 A	0
A4(25)	630	0 A	0 A	0
A4(50)	762	0 A	0 A	0
A4(75)	780	0 A	0 A	0
A4(100)	630	0 A	0 A	0
A(0)	660	0 A	0 A	0
A(25)	660	0 A	0 A	0
A(50)	630	0 A	0 A	0
A(75)	671	0 A	0 A	0
A(100)	720	0 A	0 A	0
Σ BDS	6803	0	0	0
F	660	0 A	0 A	0
F1	540	0 A	0 A	0
F2	645	0 A	0 A	0
F3	594	0 A	0 A	0
F4	600	0 A	0 A	0
F5	600	0 A	0 A	0
F6	660	5 (0,75) A	5 (0,75) A	100
F7	600	1 (0,16) A	1 (0,16) A	100
F8	638	5 (0,78) A	5 (0,78) A	100
F9	690	5 (0,72) A	5 (0,72) A	100
F10	540	0 A	0 A	0
F11	575	0 A	0 A	0
F12	600	0 A	0 A	0
F13	600	0 A	0 A	0
F14	600	0 A	0 A	0
Σ MS	9142	16 (0,17)	16 (0,17)	100
G	570	0 A	0 A	0
G1	600	0 A	0 A	0
G2	660	0 A	0 A	0
G3	660	0 A	0 A	0
G4	570	0 A	0 A	0
G5	720	0 A	0 A	0
G6	600	1 (0,16) A	1 (0,17) A	100
G7	568	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
G8	713	0 A	0 A	0
G9	750	0 A	0 A	0
Σ B5	6411	2 (0,03)	2 (0,03)	100
Σ TOPLAM	22356	18 (0,08)	18 (0,08)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Tablo 8 : Tarsus Kısa genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu

MEDYA ADI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	SOMATİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİ SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	584	0 A	0 A	0
A4(25)	660	0 A	0 A	0
A4(50)	720	0 A	0 A	0
A4(75)	780	0 A	0 A	0
A4(100)	615	0 A	0 A	0
A(0)	660	0 A	0 A	0
A(25)	660	0 A	0 A	0
A(50)	648	0 A	0 A	0
A(75)	780	0 A	0 A	0
A(100)	802	0 A	0 A	0
Σ BDS	6909	0	0	0
F	630	0 A	0 A	0
F1	630	0 A	0 A	0
F2	690	0 A	0 A	0
F3	600	0 A	0 A	0
F4	630	0 A	0 A	0
F5	690	0 A	0 A	0
F6	600	1 (0,16) A	1 (0,16) A	100
F7	660	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
F8	650	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
F9	690	9 (1,30) B	9 (1,30) B	100
F10	720	0 A	0 A	0
F11	570	0 A	0 A	0
F12	630	0 A	0 A	0
F13	620	0 A	0 A	0
F14	660	0 A	0 A	0
Σ MS	9670	12 (0,12)	12 (0,12)	100
G	660	0 A	0 A	0
G1	573	0 A	0 A	0
G2	720	0 A	0 A	0
G3	660	0 A	0 A	0
G4	780	0 A	0 A	0
G5	600	0 A	0 A	0
G6	576	0 A	0 A	0
G7	579	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
G8	613	0 A	0 A	0
G9	720	0 A	0 A	0
Σ B5	6481	1 (0,01)	1 (0,01)	100
Σ TOPLAM	23060	13 (0,06)	13 (0,06)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Tablo 9: İnegöl genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu

MEDYA ADI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	SOMATİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİ SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	600	0 A	0 A	0
A4(25)	709	0 A	0 A	0
A4(50)	810	0 A	0 A	0
A4(75)	683	0 A	0 A	0
A4(100)	633	2 (0,31) A	2 (0,31) A	100
A(0)	720	0 A	0 A	0
A(25)	630	0 A	0 A	0
A(50)	735	0 A	0 A	0
A(75)	653	0 A	0 A	0
A(100)	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
Σ BDS	6923	3 (0,04)	3 (0,04)	100
F	690	0 A	0 A	0
F1	613	0 A	0 A	0
F2	720	0 A	0 A	0
F3	676	0 A	0 A	0
F4	771	2 (0,26) A	2 (0,26) A	100
F5	600	0 A	0 A	0
F6	660	1 (0,15) A	1 (0,15) A	100
F7	630	2 (0,31) A	2 (0,31) A	100
F8	750	2 (0,26) A	2 (0,26) A	100
F9	750	0 A	0 A	0
F10	744	0 A	0 A	0
F11	690	0 A	0 A	0
F12	630	1 (0,16) A	1 (0,16) A	100
F13	630	0 A	0 A	0
F14	750	0 A	0 A	0
Σ MS	10304	8 (0,07)	8 (0,07)	100
G	690	0 A	0 A	0
G1	678	2 (0,29) A	2 (0,29) A	100
G2	660	0 A	0 A	0
G3	750	0 A	0 A	0
G4	690	0 A	0 A	0
G5	720	0 A	0 A	0
G6	690	0 A	0 A	0
G7	751	0 A	0 A	0
G8	705	0 A	0 A	0
G9	735	0 A	0 A	0
Σ B5	7069	2 (0,03)	2 (0,03)	100
Σ TOPLAM	24296	13 (0,05)	13 (0,05)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

Tablo 10: Kartal Kalem genotipinin somatik bitkicik ve bitki oluşumu

MEDYA ADI	EKİLEN TOMURCUK SAYISI	SOMATİK BİTKİCİK SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİ SAYISI - (%)	SOMATİK BİTKİYE DÖNÜŞÜM - (%)
A4(0)	660	0 A	0 A	0
A4(25)	736	0 A	0 A	0
A4(50)	780	0 A	0 A	0
A4(75)	841	0 A	0 A	0
A4(100)	750	0 A	0 A	0
A(0)	780	0 A	0A	0
A(25)	801	0 A	0 A	0
A(50)	973	3 (0,31) A	3 (0,31) A	100
A(75)	720	0 A	0 A	0
A(100)	750	0 A	0 A	0
Σ BDS	7791	3 (0,03)	3 (0,03)	100
F	750	0 A	0 A	0
F1	765	0 A	0 A	0
F2	757	0 A	0 A	0
F3	750	0 A	0 A	0
F4	750	0 A	0 A	0
F5	870	0 A	0 A	0
F6	737	0 A	0 A	0
F7	630	1 (0,17) A	1 (0,17) A	100
F8	750	1 (0,13) A	1 (0,13) A	100
F9	750	0 A	0 A	0
F10	750	0 A	0 A	0
F11	750	0 A	0 A	0
F12	750	0 A	0 A	0
F13	920	0 A	0 A	0
F14	810	0 A	0 A	0
Σ MS	11489	2 (0,01)	2 (0,01)	100
G	780	0 A	0 A	0
G1	702	0 A	0 A	0
G2	740	0 A	0 A	0
G3	750	0 A	0 A	0
G4	750	0 A	0 A	0
G5	671	0 A	0 A	0
G6	736	0 A	0 A	0
G7	660	0 A	0 A	0
G8	810	1 (0,12) A	1 (0,12) A	100
G9	720	0 A	0 A	0
Σ B5	7319	1 (0,01)	1 (0,01)	100
ΣTOPLAM	26599	6 (0,02)	6 (0,02)	100

* Aynı harfler ile ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli derece de farklar bulunmamaktadır (Tukey, P>0,05).

3.2 *A. ampeloprasum* Hatlarından Elde Edilen Bitkilerin Ploidi Düzeyinin Belirlenmesi

Ginogenesis çalışmalarında kullanılan *A. ampeloprasum*' a ait dört hattın (İnegöl, Kartal Kalem, Tarsus Kısa, Tarsus Uzun) elde edilmiş olan bitkilerin ploidi düzeylerini belirlemek için Alan ve diğ. (2007) tarafından geliştirilmiş olan prosedür kullanıldı.

Petri tabaklarında meydana gelen ginogenik ve somatik bitkicikler büyüme medyası içeren tüplerin içerisine alındılar ve dört-beş adet yaprak oluşumu gözlemlendiğinde ise flow sitometri cihazı ile ploidi düzeyleri tespit edildi. İç kontrol amacı ile arpa bitkisi kullanıldı. Analiz sonuçlarına göre tetraploid bitki hücrelerinde 60 ± 1 pg/2C DNA olduğu tespit edilmiş olup, bunun yarı değeri olan 30 ± 1 pg/2C DNA içeren bitkiler ise diploid bitki olarak kabul edildi. Çalışmalarda kullanılan İnegöl, Kartal Kalem, Tarsus Kısa ve Tarsus Uzun hatlarından toplamda 131 adet ginogenik bitki test edildi, test edilen bitkilerin 84 (% 64,12) adedi diploid (2x) bitki, 46 (% 35,11) adedi tetraploid (4x) ve 1 (% 0,76) adedi ise mixoploid (2x+4x) olarak tespit edildi (Tablo 11).

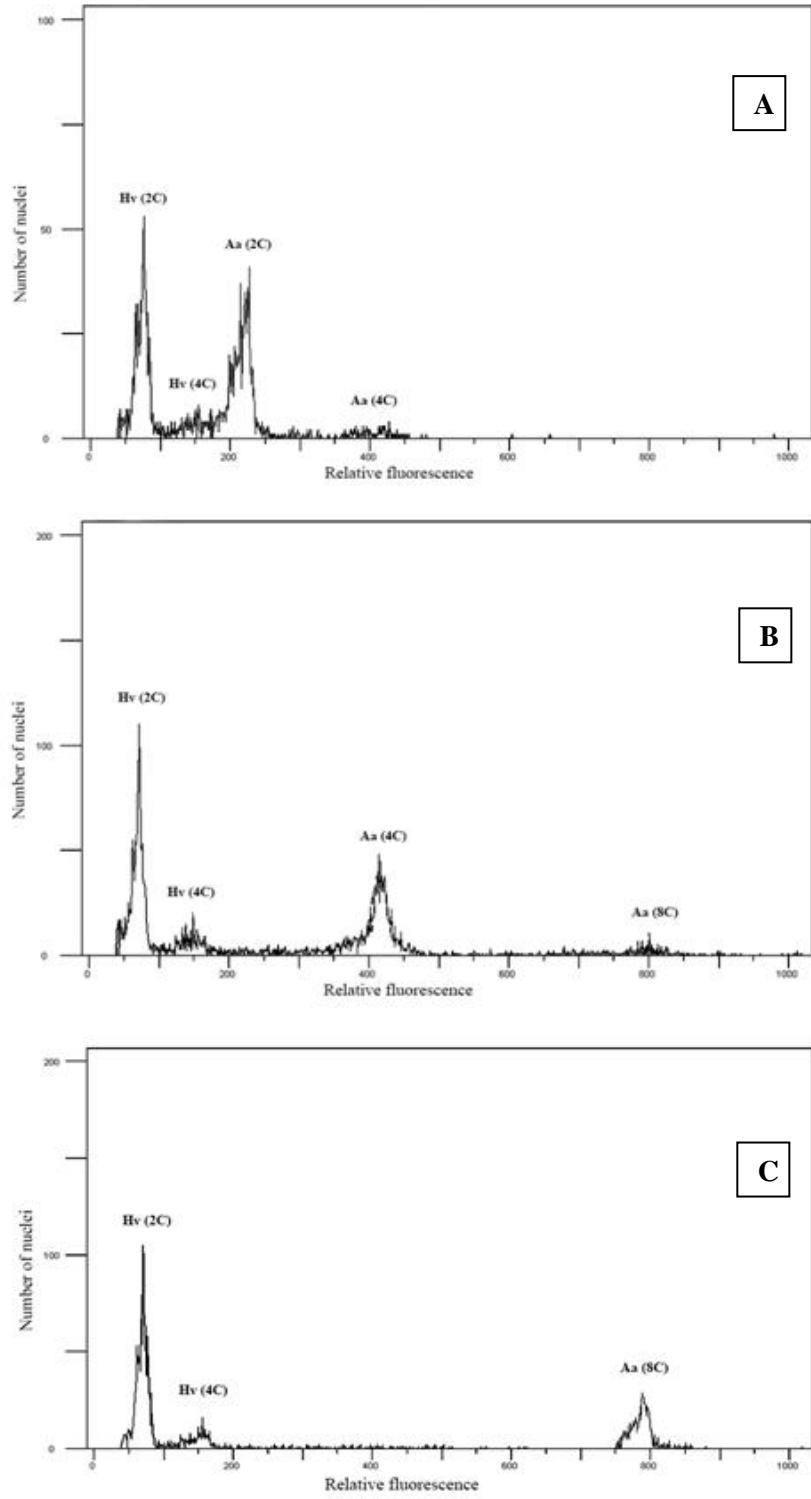
Çalışmalarda elde edilen bitkiciklerin gelişmesi sonucu 43 adet somatik bitki flow sitometri ile test edildi. Tarsus Uzun genotipinden elde edilen bir adet oktoploid (8x) bitki hariç geriye kalan 42 (% 97,67) adet bitkinin tamamının tetraploid (4x) olduğu tespit edildi (Tablo 12).

Tablo 11: *A. ampeloprasum* hatlarında ploidi düzeyleri belirlenen ginogenik bitkiler

Ploidi düzeyi					
Genotip	Test edilen bitki	2x (%)	4x (%)	8x (%)	2x + 4x(%)
Tarsus Kısa	38	22 (% 57,89)	15 (% 39,47)	0	1 (% 2,63)
Tarsus Uzun	39	27 (% 69,23)	12 (% 30,76)	0	0
Kartal Kalem	37	23 (% 62,16)	14 (% 37,83)	0	0
İnegöl	17	12 (% 70,58)	5 (% 29,41)	0	0
Toplam	131	84 (% 64,12)	46 (% 35,11)	0	1 (% 0,76)

Tablo 12: *A. ampeloprasum* hatlarında ploidi düzeyleri belirlenen somatik bitkiler

Ploidi düzeyi				
Genotip	Test edilen bitki	2x (%)	4x (%)	8x (%)
Tarsus Kısa	12	0	12 (% 100)	0
Tarsus Uzun	13	0	12 (% 92,30)	1 (% 7,69)
Kartal Kalem	5	0	5 (% 100)	0
İnegöl	13	0	13 (% 100)	0
Toplam	43	0	42 (% 97,67)	1 (% 2,32)



Şekil 5: *A. ampeloprasum* materyallerinin FCM analizi sonucu elde edilen histogramları

A. Diploid (2x) *A. ampeloprasum* bitkisi **B.** Tetraploid (4x) *A. ampeloprasum* bitkisi **C.** Oktoploid (8x) *A. ampeloprasum* bitkisi

3.1 *A. ampeloprasum* Hatlarında Morfolojik Özellikler

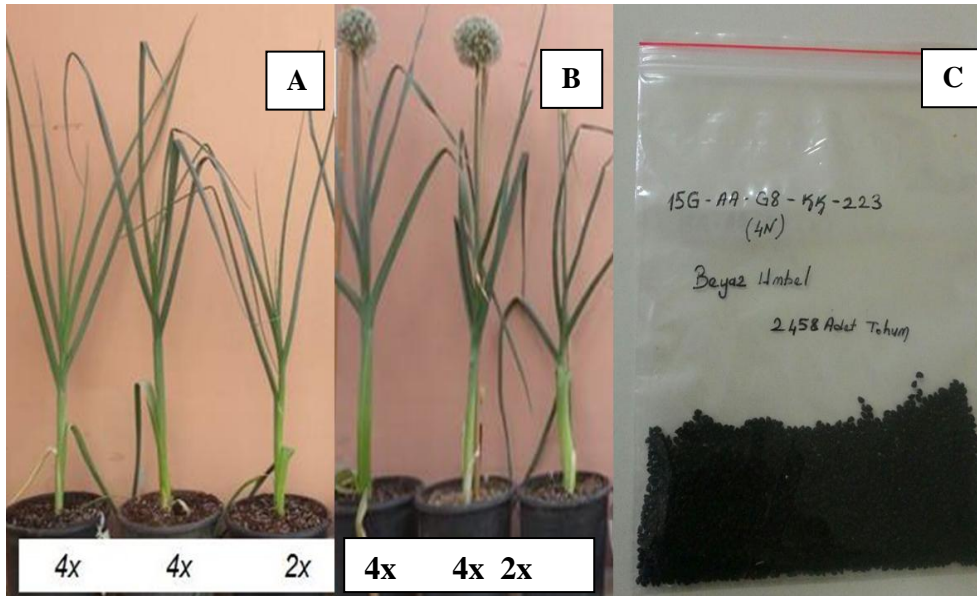
In vitro ortamda üretimi gerçekleştirilen bitkiler ploidi düzeyleri tespit edildikten sonra içerisinde büyüme medyası olan tüplerden çıkarılarak küçük saksılara aktarıldı ve dış ortama adapte olması sağlandı. Dış ortama adapte olma aşamasında hem ginogenik hem de somatik bitkilerde kayıplar meydana geldi. Dış ortama adapte olmayı başaran bitkiler ise sera ortamında büyütüldüler ve Temmuz ayında bu bitkilerin boy, çap ve tohum verimliliği özellikleri açısından ölçümleri yapıldı.

Çalışmalar sonucu elde edilen bitkilerin boy özellikleri karşılaştırılırsa; somatik bitkilerin boyları ginogenik bitkilerin boylarından daha uzun olarak ölçüldü. Somatik bitkiler arasında en uzun boy ölçüsünün 130 cm ile Tarsus Uzun ve 133 cm ile İnegöl hatlarında olduğu kaydedildi. Ginogenik bitkiler kendi içinde karşılaştırıldığında 2x genetiğine sahip bitkiler 4x genetiğine sahip olan bitkilere göre daha kısa boyludurlar. Fakat bitki çapına bakıldığında somatik ve ginogenik bitkiler arasında önemli derece de değer farklılıkları görülmemektedir (Tablo 13).

Bitkilerden çıkarılıp sayılan tohum sayıları ginogenik bitkilerde Kartal Kalem genotipinden 1982 adet tohum, Tarsus Uzun genotipinden 1011 adet, Tarsus Kısa genotipinden 155 adet ve İnegöl genotipinden 135 adet elde edildi. Ginogenik bitkilerde en iyi tohum verimi Kartal Kalem hattından alındı. Somatik bitkilerde 1519 adet Tarsus Uzun hattından, 1327 adet İnegöl hattından, 1218 adet Kartal Kalem hattından ve 820 adet Tarsus Kısa hattından olmak üzere tohum sayısı alındı. Somatik bitkilerde en yüksek tohum verimliliği Tarsus Uzun genotipinde görüldü (Tablo 13).

Tablo 13: *A. ampeloprasum* hatlarında bitkilerin morfolojik özellikleri

Genotip	Kaynak (Ginogenik / Somatik)	Ploidi Düzeyleri	Bitki Tam Boy (cm)	Yalancı Gövde Çapı(mm)	Tohum verimi (adet)
Tarsus Kısa	Ginogenik	4x	93(±15,55)	23,3(± 0,5)	155
Tarsus Kısa	Ginogenik	2x	42,5(± 14,60)	10,15 (± 0,6)	-
Tarsus Kısa	Somatik	4x	115(± 11,80)	22,54 (± 6,71)	820
Tarsus Uzun	Ginogenik	4x	95,5(± 3,41)	22,08 (± 1,32)	1011
Tarsus Uzun	Ginogenik	2x	52,75(± 3,11)	11,01 (± 1,56)	-
Tarsus Uzun	Somatik	4x	130(± 4,25)	22,00 (±2,45)	1519
Kartal Kalem	Ginogenik	4x	109(± 2,88)	21,47 (± 2,96)	1982
Kartal Kalem	Ginogenik	2x	-	-	-
Kartal Kalem	Somatik	4x	112(± 2.88)	24,6 (± 2,82)	1218
İnegöl	Ginogenik	4x	78,18(±5,36)	21,85 (± 3,81)	135
İnegöl	Ginogenik	2x	42,09(±3,32)	21,85 (± 3,81)	-
İnegöl	Somatik	4x	133(± 9,19)	22,26 (±1,92)	1327



Şekil 6: Dış ortama aktarılan *A. ampeloprasum* bitkileri

A.Soldan sağa sırası ile Somatik Tetraploid-Ginogenik Tetraploid- Ginogenik Diploid B. Umbel oluşturan *A. ampeloprasum* bitkileri C.A. *ampeloprasum* umbellerinden çıkarılan tohumlar

4. TARTIŞMA

Ginogenesis uyartımı denemelerinde *A. ampeloprasum* hatlarının (İnegöl, Kartal Kalem, Tarsus Uzun, Tarsus Kısa) hepsinden cevap alınmıştır ancak her hattan alınan cevaplar farklı oranlarda olmuştur. *A. ampeloprasum* bitkisine ait bugüne kadar çok fazla sayıda olmasa da ginogenesis için yapılan çalışmalar mevcuttur (Smith ve diğ.,1991; Keller, 1990). Çalışmalar sonucunda genel olarak ginogenesis cevap oranlarının düşük olduğu kaydedilmiştir.

Bu tez için kullanılan dört adet *A. ampeloprasum* hatları değişik oranlarda sukroz ve büyüme/farklılaşma hormonları içeren farklı 35 adet medyada kültüre alındı. Denemelerde yaklaşık 96 binin üstünde tomurcuk kullanılmış olup bu tomurculardan 157 ginogenik ve 50 adet somatik yeşil bitki elde edildi. Albino bitki gözlemlenmemiştir. Elde edilmiş olan bitkicikler büyük oranlarda bitkiye dönüşüm göstermişlerdir. Soğan ginogenesis çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre ginogenesis verilen cevap çok sayıda resesif genle kontrol edildiği gösterilmiştir (Alan ve diğ., 2016). Pırasada da ginogenesis alınan cevabın genetik temellere dayandığı düşünülebilir. Genel olarak hatlardan alınan ginogenesis cevapları düşük oranlarda olmasının sebebi tam bilinmemekle beraber genotipik etkiden kaynaklı olma ihtimali bulunmaktadır. Smith ve diğ. (1991) tarafından yapılmış olan çalışmada 23 adet ginogenik pırasa bitkisi elde edilmiş ve bu bitkilerin içerisinde sadece bir adet diploid bitki olduğu ifade edilmiştir. Schum ve diğ. (1993) tarafından yapılan başka bir çalışma sonucunda da bir adet donör pırasadan 8 adet diploid ginogenik bitkicik elde edilmiştir, bu bitkiciklerin ise üç adedinin albino olduğu ifade edilmiştir. Albinoluk bitkilerde fotosentez yapmaya engel bir durum olmasından dolayı istenmeyen bir durumdur. Alan ve diğ. (2016) tarafından yapılan çalışmada dört genotipten toplamda 103 adet ginogenik bitki elde edilmiştir ve bu bitkilerin 64 adedinin diploid olduğu ifade edilmiştir. Alan ve diğ. (2016) tarafından yapılan çalışma sonucu elde edilen verilerin benzer olması bizim çalışmamızı desteklemektedir. Geçmiş yıllarda *A. ampeloprasum* 'a ait ginogenesis denemelerinin az sayıda olması sebebiyle sonuçları kıyaslama imkânı fazla bulunmamaktadır.

Kültüre alınan *A. ampeloprasum* hatlarının (İnegöl, Kartal Kalem, Tarsus Kısa, Tarsus Uzun) medya çeşitlerine ginogenik olarak verdikleri cevaplara bakıldığında bazılarında genel iken bazılarının da ise özgül olduğu görülmektedir. 35 adet medyanın 28 tanesinden % 0,10 ile % 2,54 aralığında cevap alınırken, yedi adet medyadan ($A_{4(0)}$, $A_{(0)}$, F1, F5, F10, G, G5) cevap alınamadı. Ginogenik cevap alınamayan medyaların bir tanesi (F1) hariç diğer medyaların içerisinde hiç sukroz bulunmamaktadır. Cevap veren medyalara genel olarak bakıldığında 25 g/l ve üzeri sukroz içeren medyalar oldukları görülmektedir. Dört genotipin medyalara göre ayrı ayrı cevap verme oranlarına bakacak olursak; Tarsus Uzun hattı ginogenik bitkicik oluşumunun en fazla meydana geldiği hattır ve en yüksek oranda (% 2,54) $A_{4(100)}$ medyasında gelişim gösterdi. Tarsus Kısa genotipinden en yüksek ginogenik bitkicik oranı (% 1,28) G4 medyasında gözlemlendi. Kartal Kalem genotipi ise $A_{(75)}$ kodlu medyada en yüksek (% 0,97) ginogenik bitkicik gelişim oranı göstermektedir. Son olarak ginogenik bitkicikğin en az gelişim gösterdiği genotip olan İnegöl hattında en iyi cevap veren medya % 0,63 oranı ile F7 medyasıdır. Gelişimin en yüksek oranlarda görüldüğü bu medyaların ($A_{4(100)}$, G4, $A_{(75)}$, F7) biri hariç (F7) ortak özellikleri 100 g/l sukroz bulundurmalarıdır. Ginogenik bitkicik oluşumunda cevap veren 28 adet medyanın beş adedinin ($A_{4(75)}$, $A_{4(100)}$, $A_{(50)}$, F4, G4) istisnasız bütün genotiplerde gelişim gösterdiği kaydedildi.

Kültürü yapılan *A. ampeloprasum* hatlarından somatik bitkiciklerin medyalara göre gelişim oranlarına bakıldığında ise bütün genotipler MS ve B5 medya gruplarında farklı sayılarda gelişim göstermiştir. BDS medya grubunda ise sadece İnegöl ve Kartal Kalem hatlarından somatik cevap alınırken Tarsus Kısa ve Tarsus Uzun hatlarından cevap alınamamıştır. Kullanılmış olan dört genotipten alınan somatik bitkicik oranları % 0,12-% 1,30 arasında değişmektedir. Medyalardaki en yüksek cevabı MS medya grubuna ait olan F9 (% 1,30) medyası verirken, en düşük oranın B5 medya grubu içerisindeki G8 medyasından geldiği gözlemlenmiştir. Çalışmada kullanılan dört genotip içeriğinde sıfır sukroz olan medyaların ($A_{4(0)}$, $A_{(0)}$, F, F5, F10, G ve G5) hiçbirisinde somatik cevap oluşturamamıştır, somatik olarak cevap oluşturan medyalar 25 g/l ve üzerinde sukroz içeren medyalar olmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre *A. ampeloprasum* hattının BDS, MS ve B5 medya gruplarının hepsinde ginogenesis uyartımına farklı oranlarda cevap verdiği ve aynı zamanda da ginogenesis uyartımı için sukroz konsantrasyonunun önemli olduğu gözlemlenmiştir. *A. ampeloprasum* için yapılan ginogenesis çalışmalarından biri olan Schum ve diğ. (1993) tarafından yapılan deney sonucu araştırmacılar MS medya grubunda 100 g/l sukroz içeren medyanın ginogenik bitki oluşumunu desteklediğini kaydetmişlerdir. Bohanec (2002) tarafından yapılan *Allium* çalışmasında da MS ve BDS medyalarından ginogenesis için benzer nitelikte gelişimler meydana geldiği kaydetmişlerdir. Celebi-Toprak ve Alan (2016) tarafından yapılan pırasada ginogenesis çalışmasında en yüksek ginogenik bitkicik oluşumunun 100 g/l sukroz içeren BDS temelli medyada olduğu kaydedilmiştir. Celebi-Toprak ve diğ. (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise ginogenesis yöntemi ile ginogenik bitki elde edilmesinde en iyi gelişimin bitki büyüme düzenleyici hormon içermeyen, 100 g/l sukroz içeren MS temelli medyada gözlemlendiği ifade edilmiştir. *A. ampeloprasum* adına bir başka çalışma Alan ve diğ. (2016) tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar elde ettikleri verilere göre alınan ginogenesis cevaplarının 50 g/l ve üzerinde sukroz içeren medyalardan olduğunu belirtmişlerdir.

Üretimi gerçekleştirilen bitkilerin ploidi seviyelerinin tespit edilmesinde güvenilir olan morfolojik bir değerlendirme tekniği bulunmamaktadır. Ploidi seviyesinin tespitinde en güvenilir tekniklerden birisi bitki kök uçları kullanılarak metafaz aşamasında iken kromozom sayımı yapılmasıdır (Schum ve diğ., 1993). Fakat farklılaşmış dokularda kromozom sayımı yapılamamaktadır (Keller ve Korzun, 1996). Bir başka teknik olan FCM analizi ise DNA miktarı değerlerine göre bitkilerin ploidi seviyelerine göre ayrılmasına imkan sağlamaktadır (Alan ve diğ., 2003). Bu tez çalışmasında elde edilen ginogenik bitkilerin 131 adedi flow sitometri cihazı ile test edilmiş ve ~% 65 i diploid, ~% 35 i tetraploid ve bir adedi de miksoploid ($2x+4x$) olarak belirlenmiştir. Ginogenik pırasa bitkileri içerisinde test edilen bir adet miksoploid ($2x+4x$) bitki olması diploid embriyoların gelişimi sırasında kendiliğinden gelişen kromozom katlaması olabileceğini göstermektedir. Diploid oranı kromozom sayısı yarılanmış bitki üretiminde başarılı olduğunu göstermektedir. Elde edilen somatik bitkilerde ise 43 adet bitkinin ploidi analizi yapılmıştır ve hemen hemen tamamı (% 98) tetraploid olarak tespit edilmiştir. Yalnızca bir (% 1) adet bitkinin oktoploid olduğu kaydedilmiştir.

Ploidi düzeyleri tespit edilen bitkiler *in vitro* ortamdan *in vivo*'ya adaptasyonu sağlanarak alınmıştır. Fakat bu aşamada ve sera da gelişim sırasında bitki kayıpları yaşanmıştır ve bu kayıpların çoğu diploid bitkilerde meydana gelmiştir. Sera da gelişimini tamamlayan bitkilerde boy ve çap ölçümleri alınmıştır ve karşılaştırma yapılmıştır. Ginogenik bitkiler somatik bitkilerle, ginogenik tetraploid bitkilerle ginogenik diploid bitkiler karşılaştırılmıştır. Genel olarak ginogenik bitki boylarının somatik bitki boylarından daha kısa olduğu kaydedilmiştir. Ploidi düzeyi tetraploid olarak belirlenen ginogenik bitkiler ginogenik diploid olan bitkilere göre daha uzun boyludurlar ve iyi gelişme gösterdikleri görülmüştür. Alan ve Celebi-Toprak (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonucunda tetraploid bitkilerin ploidi seviyeleri azaltıldığında bitkilerin boylarının büyümesinde ve gelişimlerinde önemli derecede azalma gözlemlendiğinin kaydedilmesi bizim çalışmamızı desteklemektedir. Serada adaptasyon sağlayarak büyüyen bitkiler yaz döneminde beyaz, açık pembe ve mor renklerde umbeller oluşturarak çiçeklenmişlerdir. Tetraploid olan ginogenik bitkilerin oluşturduğu umbellerdeki çiçek tomurcukları diploid bitkilerin çiçek tomurcuklarına göre daha iri yapıya sahip oldukları gözlemlenmiştir. Umbeller kurutulmuştur ve oluşan tohumlar çıkarılarak tohum verimliliğine bakılmıştır.

A. ampelprasum'un iki yıllık bir bitki olması, yüksek derece de heterozigot özellik ve kendilenme depresyonu göstermesi gibi sebeplerden dolayı ıslahı zor yapılan bitkidir. Bu yüzden ginogenesis yöntemi ile ıslahının yapılması bize zaman tasarrufu sağlaması açısından önemlidir. Medya içeriği ginogenesisi etkileyen önemli sebeplerden biridir. Bu çalışmadaki başarı oranının yapılan başka çalışmalara göre daha yüksek olmasının sebebi farklı kombinasyonlarda medya ve farklı konsantrasyonlarda sukroz kullanımına bağlı olduğu düşünülmektedir. Sukroz bulundurmeyen medyaların bazılarında çok düşük seviyelerde cevap alınırken bazılarında ise hiç cevap alınamamıştır. Bitki büyüme hormonları bulundurmeyen fakat sukroz içeren medyalar da gelişim meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca en iyi cevap alınan medyaların 25 mg/l ile 100 mg/l arasında sukroz bulundurduğu görülmekte olup ginogenesis cevap oranlarında sukroz konsantrasyonu'nun önemli olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma sonucunda antesis aşamasındaki çiçek tomurcukları kullanılarak ginogenesis yöntemi ile ginogenik bitki üretilebileceği ve tetraploid bitkilerden diploid bitki elde edilebileceği kanıtlanmıştır. Çalışmamızdan

elde edilen sonuçlara göre biyoteknolojik yöntemler kullanılarak yeni Türk pırasa çeşidi ve hibrit pırasa üretim potansiyeli olabileceği gösterilmiştir.

5. KAYNAKLAR

Alan A.R., Mutschler M.A., Brants A., Cobb E., Earle E.D., “Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* Stearn”, *Plant Science*, 165, 1201-1211, (2003).

Alan A.R., Celebi-Toprak F., Kaska A., “Production and evaluation of gynogenic leek (*Allium ampeloprasum*) plant”, *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 125, 249–259, (2016).

Alan, A R., Lim, W., Mutschler, M.A., Earle, E.D. “Complementary strategies for ploid manipulations in gynogenic onion (*Allium cepa* L.)”, *Plant Science* 173 25–31, (2007).

Alan, A. R., Mutschler M. A., Brants, A., Cobb, E., Earle, E. D. ‘‘Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* Stearn’’, *Plant Science*, 165, 1201-1211, (2003).

Alan, AR.,Celebi-Toprak, F., “Ploidy manipulation strategies for economically important *Allium* crops”. *European Biotechnology Conference*, Riga, Latvia. *Journal of Biotechnology*, 231:S31 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.05.127,(2016).

Arumuganathan, K. And Earle, E.D.,“Nuclear DNA content of some important plant species”. *Plant Molecular Biology Reporter* 9, 208-218, (1991).

Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. (eds.) , *Bitki Biyoteknolojisi*, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Selçuk Üniversitesi Basımevi , (2002).

Bohanec, B. “Doubled-haploid onions”, p. 145-157, In:H.D. Rabinowitch and L. Currah (eds). *Allium Crop Science: Recent advances*. CABI. Wallingford. UK, (2002).

Boissier E.,*Flora Orientalis* , Cilt 5. Geneve & Basel, (1882).

Bowley, S.R. and N.L. Taylor.,E.R. Christie (ed.) “Introgressive hybridization”. *In Handbook of Plant Science*. 1:23-59, CRC Press, (1987).

Buiteveld, J., Suo, Y., van Lookeren Campagne, M.M., Creemers-Molenaar,J.,“Production and characterization of somatic hybrid plants

between leek (*Allium ampeloprasum* L.) and onion (*Allium cepa* L)”. *Theor Appl Genet.* 96:765-775,(1998).

Buiteveld,J., van der Valk,P., Jansen,J., Creemers-Molenaar;j., and Colijn-Hooymans., “Callus induction and plant regeneration from explants of commercial cultivars of leek (*Allium ampeloprasum* var. porrum L.)” *Plant Cell Reporys.* 12: 431-434, (1993).

Carlson, P.S., Smith, H.H. and Dearing, R.D., “Parasexual interspecific plant hybridization”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69: 2292–2294, (1972).

Celebi-Toprak, F., Akgun, S. and Alan, AR., “Importance of Sucrose in Gynogenesis Induction in Two Turkish leek (*Allium ampeloprasum* var. porrum) lines”. *The 3rd International Symposium on Euro Asian Biodiversity Minsk - BELARUS* Page.98, (2017).

Celebi-Toprak, F., Alan, AR., “Optimization of gynogenesis induction in leek (*Allium ampeloprasum* var. Porrum”. *European Biotechnology Conference, Riga, Latvia. Journal of Biotechnology,* 230:S30 DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.05.126. (2016).

Cocking, E. C.,*Nature*, Lond., 187, 927, (1960).

D'Amato,F.,“Cytogenetics of plant cell and tissue culture and their regenerates”. *CRC Crit.Rev. Plant Sci.* 3:73-112,(1985).

Davey MR, Anthony P, Power JB, Lowe KC.,“Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives”. *Biotechnol Adv*23:131–171, (2005).

Dore,C. and Marie,F., “Production of Gynogenetic Plants of onion (*Allium cepa* L.) after crossing with irradiated pollen”. *Planr Breeding.* 111:142-147, (1993).

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

Feher, A. and Dudits, D.,“Plant protoplasts for cell fusion and direct DNAuptake: Culture and regeneration system. *Plant Cell and Tissue Culture*”. pp. 71-118, (1994).

Flier, W., "Onderzoek naar de ontwikkeling van in vitro haploidisatietechnieken in prei *Allium porrum* L. Internat". Agrar Highschool Larenstein. Report of a working stay in CPRO, Wageningen, (1990).

Fritsch RM, Blattner FR, Gurushidze M., "New classification of *Allium* L. subg. *Melanocrommyum* (Webb & Berthel) Rouy (Alliaceae) based on molecular and morphological characters". *Phyton*;49:145–220, (2010).

Fritsch, R.M. and Frisen, N., "Evolution, domestication and taxonomy". In: Rabinowitch, H.D., Currah, L. (Eds). *Allium Crop Science: Recent Advances*. CABI Publishing, New York. pp. 5-30, (2002).

<http://www.fao.org/statistics/tr/>

Jakse M, Bohanec B, Ihan A., "Effect of media components on the gynogenic regeneration of onion (*Allium cepa* L.) cultivars and analysis of regenerants". *Plant Cell Rep.* 15:934–938, (1996).

Kanne, J., "Onderzoek naar de ontwikkeling van in vitro haploidisatietechnieken in prei *Allium porrum* L. Internat". Agrar Highschool Larenstein. Report of a working stay in CPRO, Wageningen, (1991).

Kaska, A., "Bazı yenilebilir *Allium* Türlerinde Ginogenesis Uyartımı Ve Klonal Çoğaltma Olanaklarının Araştırılması" , Doktora, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, (2013)

Keller, J., "Culture of unpollinated ovules, ovaries, and flower buds in some species of the genus *Allium* and haploid induction via gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.)", *Euphytica*, 47, 241–247, (1990).

Kik, C., "Exploitation of wild relatives for the breeding of cultivated *Allium* species". In: Rabinowitch HD, and Currah L (eds). *Allium Crop Science: Recent Advances*. 81-100, CABI Publishing Oxon UK, (2002).

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

Mukhopadhyay, M.J., Ray, T., Mukhopadhyay, S ., "Ploidy level variation in callus culture of *Pisum sativum* L. Nucleus". 43: 24-26, (2000).

Mukhopadhyay, S., Desjardins, Y., "A comparative study on mode of culture and plant regeneration from protoplast-derived somatic embryos of two genotypes of *Asparagus officinalis* L." *Plant Sci.* 100:97-104, (1994).

- Mukhopadhyay, S., Sharma, A.K. "Chromosome number and DNA content in callus culture of *Costus speciosus* (Koen.) Sm. *Genetica*". 80: 109-114, (1990).
- Muren, P. "Haploid plant induction from unpollinated ovaries in onion", *Hort science* 24: 833-834, (1989).
- Murovec, J. and Bohanec, B., "Haploids and Doubled haploids in plant breeding". *Plant Breeding*. Dr. Ibromkhim Abdurakhmonov (Ed.) (2012).
- Ochatt SJ & Power JB., "Plant regeneration from cultured protoplasts of higher plants". In: Moo-Young M, Warren GS & Fowler MW (eds) *Comprehensive Biotechnology*, Supplement 2 (pp 99-127). Pergamon Press, New York, (1992).
- Özzambak, E., "Pirasada ovaryum ve polen kültürü". *Türkiye 1, Ulusal Bahçe Bitk. Kong., Bild.*, 13-16 Ekim 1992, İzmir. Cilt 11: 223-236, (1992).
- Pierik, R.L.M. "In vitro culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers". Dordrecht, (1989).
- Schum, A., H. Junge & L. Mattiesch, "Plant regeneration from protoplasts of *Allium porrum* L. Horticulture". Volume 59, Issue 1, Pages. 26-30, (1994).
- Schum, A., Mattiesch, I., Timmann, E., Hofmann, M., "Regeneration of diploids via gynogenesis in *Allium porrum* L.", *Gartenbauwissenschaft*. 58, 227-232, (1993).
- Sigurbjörnsson, B., "Induced mutations". In: D.R. Wood (Ed.), *Crop Breeding*, pp. 153-176, *American Society of Agronomy and Crop Science Society of America*, Madison, Wisconsin (1983).
- Smith, B., Godwin, R.M., Harvey, E., Werner, C.P., "Gynogenesis from whole flower buds in bulb onion (*Allium cepa* L.) and leek (*Allium porrum* L.)". *J. Genet Breed.* 45:353-358, (1991).
- Takebe, I., Labib, G., Melchers, G., "Regeneration of whole plants from isolated mesophyll protoplasts of tobacco". *Naturwissenschaften* 58, 318-320, (1971).
- Van der Meer Q P and Hanelt P., "Leek *Allium ampeloprasum* L." In: Brewster, J.L. and Rabinowitch, H.D. (eds) *Onions and Allied Crops*, Vol. III. Biochemistry, *Food Science*, and Minor Crops. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 179-196, (1990).

Vinterhalter, D.V. and Vinterhalter, B.S., “Hormone like effects of sucrose in plant in vitro cultures”. *Phyton (Austria) Special Issue 'Plant Physiology'*. 39:57-50, (1999).

Voorrips, R.E., “Unpollinated ovule and ovary culture in leek (*Allium porrum* L.)”, *Allium improvement Newsletter*. 1:75-76, (1991).

Yanagino, T., Sugawara, E., Watanabe, M., and Takahata, Y., “Production and characterization of an interspecific hybrid between leek and garlic”. *Theoretical and Applied Genetics*. 107:1-5, (2003).

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selda AKGÜN
Doğum Yeri ve Tarihi : 23.06.1990
Lisans Üniversite : Rize Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Y. Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi
Elektronik posta : selda2662@gmail.com

Uluslararası Kongre–Sempozyum Sunulan Sözlü Bildiri:

• Celebi Toprak, F.,Akgün, S. ve Alan, A.R., ‘‘Importance of Sucrose in Gynogenesis Induction in Two Turkish Leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*) Lines’’, International Symposium On Euroasian Biodiversity. Minsk/ Belarus (2017).

Sunduğu Seminer:

•Akgün, S., ‘‘ Üzümde Kriyoprezervasyon Tekniğı ’’ , Yüksek Lisans Semineri, Pamukkale Üniversitesi / Denizli (2014).