

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

**BAZI SOĞAN (*ALLIUM CEPA* L.) VE ŞALOT (*A. CEPA* VAR.  
*AGGREGATUM*) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD BİTKİ  
ÜRETİM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FATMA DÜZGÜN**

**DENİZLİ, OCAK - 2019**

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



BAZI SOĞAN (*ALLIUM CEPA* L.) VE ŞALOT (*A. CEPA* VAR.  
*AGGREGATUM*) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD BİTKİ  
ÜRETİM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FATMA DÜZGÜN

DENİZLİ, OCAK - 2019

## KABUL VE ONAY SAYFASI

FATMA DÜZGÜN tarafından hazırlanan “BAZI SOĞAN (*ALLIUM CEPA* L.) VE ŞALOT (*A. CEPA* VAR. *AGGREGATUM*) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD BİTKİ ÜRETİM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 05.12.2019 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. Ali Ramazan ALAN

Pamukkale Üniversitesi

Üye

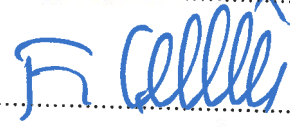
Prof. Dr. Fevziye Çelebi Toprak

Pamukkale Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Mehtap Şahin Çevik

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08.01.2020 tarih ve ...02/10... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez alışması Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2018FEBE057 no.lu proje ile desteklenmiştir.**

**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.**

**FATMA DÜZGÜN**



## ÖZET

**BAZI SOĞAN (*ALLIUM CEPA* L.) VE ŞALOT (*A. CEPA* VAR. *AGGREGATUM*) GENOTİPLERİNDE HAPLOİD BİTKİ ÜRETİM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**FATMA DÜZGÜN**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ALİ RAMAZAN ALAN)**

**DENİZLİ, OCAK - 2019**

Soğan (*A. cepa* L.) ve şalot (*A. cepa* var. *aggregatum*) ekonomik olarak önemli sebzelerdir. Yakın akraba olan soğan ve şalot diploid ( $2n=2x=16$ ) sayıda kromozomlara ve büyük genoma (~32 pg DNA/hücre) sahiptir. Yeni soğan ve şalot çeşitlerinin ıslahı uzun ve zordur. Soğan ve şalotta ginogenesis temelli haploidizasyon tekniği ile haploidlerin üretilmesi mümkündür. Haploidlerden kendiliğinden veya uyartılmış kromozom katlaması ile katlanmış haploidlerin elde edilmesi ile tamamen homozigot bitkiler elde edilebilir. Bu tez projesinde Türkiye'ye adapte olmuş dokuz soğan ve üç şalot genotipinin ginogenesis uyartımına gösterdikleri cevaplar araştırılmıştır. Çalışmada bir soğan genotipi dışında tüm soğan ve şalot genotiplerinden ginogenesis cevabı elde edilmiştir. Soğan genotiplerinin uyartım kültürlerinde gösterdikleri cevaplar % 0 ile % 2 arasında değişmiştir. Şalot genotiplerinin cevapları ise % 0,07 ile % 1,1 arasında gerçekleşmiştir. Elde edilen ginogenik soğan ve şalot bitkilerinin yaklaşık yarısının haploid sayıda kromozoma sahip oldukları bulunmuştur. Bitkilerin % 25'inin diploid olduğu tespit edilmiştir. Bir ginogenik soğan bitkisinin tetraploid olduğu bulunmuştur. Geri kalan bitkilerin ise miksoyploid oldukları bulunmuştur. Dış ortama aktarılan ginogenik bitkilerin bir kısmı hayatta kalarak büyümüşlerdir. Ginogenik bitkiler genellikle donör bitkilere benzerlik göstermişlerdir. Elde edilen bulgular Türkiyede yetiştirilen soğan ve şalot genotiplerinin ginogenesis uyartımına düşük ve orta seviyede cevap verdiklerini göstermiştir. Bu bulgular haploidizasyon tekniğinin yeni Türk soğan ve şalot çeşitlerinin ıslahında kullanılabileceğini göstermektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** ginogenesis, haploid, katlanmış haploid, soğan, şalot

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF HAPLOID PLANT PRODUCTION POTENTIAL IN SOME ONION (*ALLIUM CEPA* L.) AND SHALLOT (*A. CEPA* VAR. *AGGREGATUM*) GENOTYPES

MSC THESIS

FATMA DÜZGÜN

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR ALİ RAMAZAN ALAN)

DENİZLİ, JANUARY 2019

Onion (*A. cepa* L.) ve shallot (*A. cepa* var. *aggregatum*) are economically important vegetables. These close relatives have diploid ( $2n=2x=16$ ) number of chromosomes and a large genom (~32 pg DNA/cell). Development of new onion and shallot cultivars is a long and difficult process. It is possible to produce haploid plants from onion and shallot via gynogenesis-based haploidization technique. Conversion of haploids to doubled haploids via spontaneous or induced chromosom doubling allows production of completely homozygous plants. In this thesis project, responses of nine onion and three shallot genotypes to gynogenesis induction were studied. In this study, except for one onion genotype, gynogenesis response was obtained from all onion and shallot genotypes. Responses of onion genotypes to gynogenesis induction varied between 0% and 2%. In shallot, responses of genotypes varied between 0,07 % and 1,1 %. It was found that about half of the gynogenic onion and shallot plants had haploid number of chromosomes. Twenty-five percent of the plants were determined to be diploids. One gynogenic onion plant was a tetraploid. The remaining plants were mixoploids. Some of the gynogenic plants transferred to *in vivo* survived and grew up. In general, gynogenic plants showed similarity to their donor plants. The findings obtained showed that onion and shallot genotypes grown in Turkey show low to medium responses to gynogenesis induction. These findings confirm that haploidization technique can be used in the improvement of new Turkish onion and shallot varieties.

**KEYWORDS:** gynogenesis, haploid, doubled haploid, onion, shallot

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1    Baş Soğan ( <i>Allium cepa</i> L. ) ve Şalot ( <i>A. cepa</i> L. var. <i>aggregatum</i> ) .	1
1.2    Soğan ve Şalot'un Ekonomik Önemi .....	2
1.3    Soğan ve Şalot'un İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi .....	3
1.4    Soğan ve Şalotlarda Biyoteknolojik Uygulamalar .....	4
1.5    Soğan ve Şalot Islahı .....	7
1.6    Yapılan Tezin Amacı.....	8
<b>2. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>9</b>
2.1    Çalışmada Kullanılan Bitki Materyali.....	9
2.2    Soğan ve Şalot Genotiplerine Ait Tomurcukların Uyartım Kültürüne Alınması .....	10
2.3    Soğan ve Şalot Genotiplerinde Ginogenesis Uyartımı ve Ginogenik Bitkilerin Elde Edilmesi .....	11
2.4    Soğan ve Şalot Bitkilerinin Ploidi Seviyelerinin Analizi .....	14
2.5    Bitkilerin in vivo'ya Transfer Edilmesi.....	14
2.6    Çalışmalar Sonucu Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Analizi.....	15
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>16</b>
3.1    Soğan Tomurcuklarından Ginogenesis Uyartımına Gelen Cevaplar .	16
3.2    Şalot Tomurcuklarından Ginogenesis Uyartımına Gelen Cevaplar ...	18
3.3    Ginogenik Soğan Bitkilerinin Ploidi Seviyeleri .....	19
3.4    Ginogenik Şalot Bitkilerinin Ploidi Seviyeleri.....	21
3.5    Soğan ve Şalot Genotiplerinde Somatik Rejenerasyon Gösterenler ..	22
3.6    Ginogenik ve Somatik Bitkilerin Yaş ve Kuru Hallerinin Karakteristik Özellikleri .....	22
<b>4. TARTIŞMA</b> .....	<b>27</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b> .....	<b>32</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>38</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1: Soğan ve şalot başları. ....	2
Şekil 2: Açmamış soğan ve şalot çiçek tomurcuklarının kültüre hazırlanmaları	11
Şekil 3: Soğan ve şalot genotiplerinde ginogenesis uyartım kültürlerinin başlatılması.....	12
Şekil 4: Soğanda ginogenik uyartım, ginogenik bitkicik ve bitki eldesi .....	13
Şekil 5: Şalotta ginogenik uyartım, ginogenik bitkicik ve bitki eldesi .....	13
Şekil 6: Ginogenik soğan bitkilerinin dış ortama aktarılması.....	15
Şekil 7: Serada büyütülmüş olan ginogenik soğan bitkileri.....	26

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Donör soğan genotiplerinin genel özellikleri .....	10
Tablo 2: Donör şalot genotiplerinin genel özellikleri .....	10
Tablo 3: Soğan genotiplerinin BDS medyasında ginogenesis uyartımına gösterdiği cevaplar. ....	18
Tablo 4: Şalot genotiplerinin BDS medyasında ginogenesis uyartımına gösterdiği cevaplar .....	19
Tablo 5: Ginogenik soğan bitkilerinde ploidi analizi sonuçları .....	20
Tablo 6: Anormal gelişim gösteren ginogenik soğan bitkilerinde ploidi analizi sonuçları .....	21
Tablo 7: Ginogenik şalot bitkilerinde ploidi analizi sonuçları.....	22
Tablo 8: Serada büyütülen ginogenik soğan bitkilerinin yaş hallerinin karakteristik özellikleri .....	24
Tablo 9: Serada büyütülen somatik soğan bitkilerinin yaş hallerinin karakteristik özellikleri .....	24
Tablo 10: Serada gelişim gösteren ginogenik ve somatik bitkilerin kuru hallerinin karakteristik özellikleri.....	26

## SEMBOL LİSTESİ

<b>g/l</b>	: Gram/litre
<b>mg/l</b>	: Miligram/litre
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikro litre
<b>mM</b>	: Mili-mol
<b><math>^{\circ}</math>C</b>	: Santigrad derece
<b>CMS</b>	: Cytoplasmic male sterility (sitoplazmik erkek kısırlığı)
<b>DH</b>	: Doubled-haploid (katlanmış haploid)
<b>NIB</b>	: Nuclei isolation buffer (çekirdek izolasyon tamponu)
<b>OP</b>	: Open pollinated (açık tozlanan)
<b>PI</b>	: Propodium iodide
<b>FCM</b>	: Flow cytometry (flow sitometri)

## ÖNSÖZ

Ülkemize ıslah anlamında birçok şey katacağına inandığım bazı soğan ve şalot genotiplerinde haploid bitki üretim potansiyelinin araştırılması ile ilgili tez konusunu öneren danışman hocam Prof. Dr. Ali Ramazan ALAN'a yaptığı yardımlardan dolayı teşekkür ediyor, saygı ve sevgilerimi sunuyorum. Tezimin jüri üyesi olan Prof. Dr. Fevziye ÇELEBİ TOPRAK'a gösterdiği ilgiden ve yardımlarından dolayı teşekkür ediyorum.

Beni akademik alana yönlendiren ve başarabileceğime inandıran Doç. Dr. Emre İLHAN hocama çok teşekkür ediyorum. Tez çalışmam boyunca bana verdikleri destek ve yardımlardan dolayı başta Vesile KOCAKAYA olmak üzere tüm PAU BİYOM ekibine teşekkür ediyorum. Ayrıca tezimi destekleyen Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (PAU BAP) Araştırma Fonu'na da teşekkür ederim.

Okul hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan başta babam Mikail DÜZGÜN'e, annem Herdem DÜZGÜN'e, abilerim Mahmut DÜZGÜN ve Metin DÜZGÜN'e, her zaman sesini duyarak mutlu olduğum küçük kardeşim Ahmet Arif DÜZGÜN'e ve çocukluğumdan beri her daim bana motivasyon kaynağı olan arkadaşım Tuba SEVİNDİK'e sonsuz teşekkür ediyorum.

# 1. GİRİŞ

## 1.1 Baş Soğan (*Allium cepa* L.) ve Şalot (*A. cepa* L. var. *aggregatum*)

*Allium* cinsi içerisinde 800'ün üzerinde tür yer alır (Fenwick ve diğ. 1985). Bu cins içerisinde baş soğan (*A. cepa* L.), şalot (*A. cepa* L. var. *aggregatum*), pırasa (*A. ampeloprasum*), sarımsak (*A. sativum*), çiv (*A. schoenoprasum*), Çin çivi (*A. tuberosum*), Japon pırasası (*A. fistulosum*) gibi ekonomik olarak önemli türlerde yer alır. Soğan, pırasa ve sarımsak gibi türlerin üretiminin yaklaşık 5000 yıldır yapılmakta olduğu tahmin edilmektedir (Brewster 2008). Soğanın ilk olarak Türkmenistan ve Kuzey İran arasındaki dağlık alanlarda kültüre alındığı düşünülmektedir. Güney Batı Asya birincil domestikasyon ve çeşitlilik alanı olarak kabul edilirken Akdeniz gibi büyük çeşitliliğin mevcut olduğu bölgelerin ikincil merkezler olduğu düşünülmektedir (Hanelt 1990, Fritsch ve Friesen 2002). Hanelt (1990)'e göre soğanın domestikasyonu sırasında daha uzun yaşam döngüsü yerine iki yıllık büyüme özelliği sağlayan hızlı büyüme ve daha iri baş için seçim yapılmıştır.

*A. cepa*'nın kültür tipleri baş soğan ve *aggregatum* grupları içinde yer alırlar (Hanelt 1990). Baş soğan grubu çok sayıda ekonomik olarak önemli çeşitten oluşur. Bunlar çoğunlukla tohumla çoğaltılan, tek ve büyük başlar oluşturan çeşitlerdir (Şekil 1A). Fotoperiyod ve sıcaklığa adaptasyon, baş depolama ömrü, kuru madde içeriği, tat ve kabuk rengi açısından büyük çeşitlilik gösterirler. *Aggregatum* grubu çeşitlerinde başlar baş soğanlarınkilere göre daha küçüktürler. Bunun nedeni çok hızlı bölünmeleri ve yan sürgünler üreterek baş kümeleri oluşturmalarıdır. Jones ve Mann (1963) baş oluşturan iki grubu multiplier veya patates, soğanlar ve şalotlar olarak tanımlamışlardır. Multiplier soğanlar üç ve 20 arasında başa bölünür ve uzun değil geniş olup kuru dış baş derisi ile çevrilidirler. Şalotlar dar ve ayırık başlardan oluşan kümeler üretirler (Şekil 1B). Bunların yaprak ve çiçekleri baş soğanlardan genellikle daha küçüktür. *Aggregatum* grubu çeşitler genellikle vejetatif olarak çoğaltılırlar fakat yakın zamanda tohumdan üretilen şalot çeşitleri geliştirilerek Avrupa ve Kuzey Amerika'da yetiştirilmeye başlanmıştır (Rabinowitch ve Kamenetsky 2002).



**Şekil 1.** Soğan ve şalot başları. **A.** Delfos çeşidine ait kurutulmuş soğan başları. **B.** PAU BİYOM’da geliştirilmekte olan bir seleksiyon hattına ait kurutulmuş şalot başları.

Baş soğan ve şalotlar birbirleriyle çaprazlanarak melez bireyler oluşturabildikleri için aynı türdürler (Brewster 2008). Bu nedenle geçmişte şalot için verilmiş olan *A. ascalonicum* ismi günümüzde geçerli değildir. Soğan ve şalotlar yabancı tozlanma eğilimleri göstermeleri nedeniyle aşırı derecede heterozigotturlar. Yüksek derecede kendileme depresyonu gösterdikleri için klasik kendileme ıslahı ile genetik olarak tamamen saf hale getirilemezler. Her ikisi de diploid ( $2n=2x=16$ ) olan soğan ve şalot büyük genomlara sahiptirler (~32 pg DNA/çekirdek; bu çalışma). Genellikle iki yıllık hayat döngüsüne sahiptirler. Birinci yıl baş, ikinci yılda çiçeklenerek tohum oluşturmaktadırlar.

## 1.2 Soğan ve Şalot’un Ekonomik Önemi

Yüzyıllardır yetiştiriciliği yapılan soğanın dünyanın farklı iklimlerine ve insanların gıda tercihlerine uygun çok sayıda çeşitleri mevcuttur. Soğanlar dünyada Antarktika hariç diğer kıtalarda yetiştirilebilmektedir. Baş üretimi amacıyla üretimi yapılan soğanlar genellikle kırmızı, sarı veya beyaz renkte tek baş oluşturarak acı veya tatlı tada sahiptirler. Bunlar yetiştiriciliğin yapıldığı iklim şartlarına göre kısa, orta veya uzun gün soğanları olarak sınıflandırılabilirler. Dünya genelinde açık tozlanan (OP) standart çeşitlerle soğan yetiştiriciliği yapılırken, Batı Avrupa ve Kuzey Amerika’da hibrit çeşitler ile üretim daha yaygındır. Baş soğan çeşitlerinin yetiştirilmesinin zor olduğu nemli tropik kıyı bölgelerinde şalot ve multiplier soğan çeşitleri ile üretim yapılabilmektedir (Currah 2002). Şalot çeşitleri genellikle küçük ölçekli alanlarda

üretilmelerine rağmen böceklere ve hastalıklara dirençli olmalarından dolayı özellikle nemli tropik bölgelerde daha fazla tercih edilirler (Currah ve Proctor 1990). Ticari olarak baş soğan grubu *aggregatum* grubundan daha önemlidir. *Aggregatum* grubu çeşitlerin Avrupa, Kuzey Amerika, Arjantin ve bazı tropik bölgelerde büyük miktarlarda üretimi mevcuttur ancak birçok çeşidin yetiştiriciliği sadece ev bahçelerinde yapılmaktadır (Brewster 2008). Şalotlar hem bölünebilen başların yeniden dikimi (vejetatif) hem de tohumla (generatif) çoğaltılabilirler. Küçük ölçekli yetiştiricilikte vejetatif çoğaltma pratik olarak uygulanabilirken, büyük ölçekli yetiştiricilikte tohum ile üretim daha avantajlıdır. Yeni şalot çeşitleri soğanda olduğu gibi F1 hibritler olarak geliştirilmektedirler. Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da F1 hibrit çeşitler ile şalot üretimi artış göstermektedir (Brewster 2008).

FAO tarafından yayımlanan 2017 yılı verilerine göre dünya da yıllık soğan üretimi 98 milyon ton civarındadır (Faostat 2017). En büyük soğan üreticisi ülke 24,3 milyon tonluk üretimi ile birinci sırada olan Çin'dir. Hindistan 22 milyon ton ile ikinci, A.B.D. üç milyon ton ile üçüncü sırada yer alır. Türkiye 2,1 milyon tonluk baş soğan üretimi ile altıncı sırada yer alır. Dünya da yıllık şalot üretimi ise beş milyon ton civarındadır. (Faostat 2017). Çin bir milyon ton civarındaki şalot üretimi ile ilk sırada yer almaktadır. Nijer 670 bin ton üretim ile ikinci, Japonya 525 bin ton üretim ile üçüncü sırada yer alır. Yıllık yaklaşık 138 bin ton şalot üretimi ile Türkiye dokuzuncu sırada yer almaktadır.

### **1.3 Soğan ve Şalot'un İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi**

Soğanlar dünyada en fazla yetiştirilen ve tüketilen sebzelerdir. Soğan başları gıda sektöründe sebze ve baharat olarak kullanılmakta olup ekonomik açıdan da önemli bir yere sahiptirler. Yemeklere tat vermeleri nedeniyle dünyanın her tarafında tüketilirler. Baş soğan ve şalot tıbbi etkileri olan kimyasallar içermeleri nedeni ile de önemlidirler (Bijl 1994, Kamenetsky ve Fritsch 2002). Soğan başları yüksek seviyede flavonoid içerirler. Ayrıca fenolik bileşikler, malik, sitrik, süksinik, fumarik ve kinik asitlerin yanı sıra B1, B2, B6, biyotininik, nikotininik, folik, pantotenik ve askorbik asitler gibi vitaminleri de bulundurlar (Breu 1996).

#### 1.4 Soğan ve Şalotlarda Biyoteknolojik Uygulamalar

Hansen ve diğ. (1995) yaptığı çalışma da soğan hücre süspansiyonlarından protoplast sürgün rejenerasyonu sağlamak amacıyla soğan ve Japon pırasasından rejeneren olan kalluslarını kullanmışlardır. En iyi sonucun ise üç-dört aylık hücre süspansiyonlarından elde edildiği bulunmuştur. Başka bir çalışma da soğan ve pırasa arasında yapılan melezlemeler ile hibrit bitki üretimi için protoplast füzyonu kullanılmıştır (Buiteveld ve diğ. 1998). Soğan da kallus kültürleri yapılarak somatik embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu uygulamaları yapılmıştır (Dunstan ve Short 1977-1978, Phillips ve Luteyn 1983, Shahin ve Kaneko 1986, Phillips ve Hubstenberger 1987, Van der Valk ve diğ. 1992). Organ kültürlerinin kullanımı soğan başlarının kabukları sürgün parçaları farklı eksplant ve medya içerikleri kullanılarak *in vitro* çoğaltım çalışmaları yapılmıştır (Dunstan ve Short 1978-1979, Hussey 1978). *Allium*'lardaki ıslah çalışmalarına katkı sağlamak amacıyla gerçekleştirilen kallus ve mikroçoğaltım yöntemlerinden başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Dunstan ve Short 1977-1979, Novak ve diğ. 1986, Luthar ve Bohanec 1999). Erkek steril bitkilerin *in vitro* çoğaltımıyla hibrit tohumların üretimi ile ilgili bir çok örnek vardır (Fujieda ve diğ. 1979, Pike ve Yoo 1990). Erkek steril bitkilerin kullanımı hibrit tohum üretimini artırırken bu tür bitkilerin üretiminde artmasını sağlamaktadır. *Allium*lar monokotiledon olmalarına rağmen olgunlaşmamış zigotik embriyoları kullanılarak *Agrobacterium* aracılı transformasyon çalışmaları yapılmıştır (Dommissse ve diğ. 1990, Eady ve diğ. 2000). Baş soğan ve şalot *Agrobacterium* aracılı transformasyon çalışmaları yapılmış ve başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Zheng ve diğ. 2001). Bu çalışmaların birinde baş soğan ve şalot genotipleri karşılaştırılmış ve şalot'ların soğan'lardan daha iyi sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir (Aswath ve diğ. 2006).

Küresel olarak önemli bir bitki olan soğan büyük genoma sahip olması ve yüksek heterozigot özellik taşımasından dolayı çok az sayıda moleküler markırlara sahiptir. 1990'lardan beri soğanda moleküler markırlar sınırlı sayıdaydı. Ancak genom sekanslama ile tek nükleotit polimorfizmleri (SNP'lerin) keşfi sayesinde moleküler markırların sayısı sürekli olarak artmaktadır (Jo ve diğ. 2017). Bu belirteçlerin kullanılması gelişimin erken aşamasında arzu edilen genetik özelliğe sahip bitkilerin kesin bir biçimde tanımlanmasına ve bu genotip ile devam edebilmesine olanak sağlayacaktır. Moleküler markırlar genotipler arasında oluşturulacak olan hibrit



kombinasyonlarında yüksek melez gücü gösterebilecek hatların seçimini kolaylaştırabilir. Bu teknoloji sayesinde sekansı bilinen gen allellerinin takibi işlemi fide döneminde gerçekleştirilebilir.

Haploidizasyon uygulaması dişi veya erkek gamet hücrelerinden gametik kromozom sayısına sahip embriyo ve bireylerin üretilmesidir. Haploid bitkilerin üretimi genellikle olgunlaşmamış polen (androgenesis) ve yumurta (ginogenesis) hücrelerinden embriyo gelişimin uyartılması yolu ile gerçekleştirilir. Birçok bitkide de haploid bitki üretimi çalışmaları yapılmıştır (Dunwell 2010). Soğangillerde yapılan çalışmalarda androgenesis yöntemiyle haploidlerin elde edilemediği belirtilmiştir (Keller ve Korzun 1996). Ancak ginogenesis yöntemi ile döllenmemiş yumurta hücrelerinden haploid bitki üretimi mümkündür. (Alan ve diğ. 2003-2004- 2016).

Ginogenesis yoluyla soğan bitkisinden haploidlerin elde edilmesi 30 yıl öncesinde üç araştırmacı tarafından yapılmıştır (Muren 1989, Campion ve Alloni 1990, Keller 1990). Ginogenesis ile ilgili ilk çalışmalarda ovul, ovarı ve tüm tomurcuk kültürü için farklı uyartım ortamları kullanılmıştır. Elde edilmesi zor ve zaman alıcı olduğundan ovul ve ovarı yerine açmamış tüm çiçek tomurcukları uyartım ortamına almak daha çok tercih edilmektedir. Ginogenesis yolu ile haploid soğan bitkilerinin üretilmesine yönelik çalışmalarda açmamış tüm çiçek tomurcuklarının eksplant olarak kullanılmasının başarılı sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Bohanec ve Jakse 1999, Alan ve diğ. 2003, Kaska 2013, Anandhan ve diğ. 2014). Oldukça heterozigot olan soğan ve şalot ıslah materyallerinde haploid ve katlanmış haploid bitkilerin (DH) üretilmesi genetik ve ıslah çalışmaları için çok büyük avantajlar sağlar.

Soğan ve şalotta haploid bitki eldesinde kullanılacak olan çiçek tomurcuklarının ginogenesis uyartımına uygun gelişme safhalarında olması gerekir. Kuzey Amerikan acı ve tatlı soğan genotiplerinde çapları üç mm'den büyük olan çiçek tomurcuklarının ginogenik uyartım için uygun oldukları bulunmuştur (Alan ve diğ. 2004). Ginogenesis uyartımı için en uygun çiçek tomurcuğu gelişme döneminin, embriyo keseciğinin olgunlaşmış olduğu, antesisten 3-5 gün önceki dönem olduğu düşünülmektedir (Musial ve diğ. 2001). Eksplantlarda bulunan döllenmemiş yumurta hücrelerinin embriyoya dönüşümü için yaklaşık olarak iki-üç haftalık bir süre uyartım ortamında kalmaları gerektiği tespit edilmiştir (Alan ve diğ. 2004). Ginogenik bitkiciklerin eksplant dışına çıkması kültür başlangıcından iki-üç ay sonra başlar. Bu

işlem bir yıl kadar devam edebilir. Soğan ve şalotlarda elde edilen ginogenik bitkilerin çoğunlukla haploid seviyede olduğu tespit edilmiştir (referanslar). Haploid bitkilerin gamet üretememeleri nedeniyle tohum üretmeleri mümkün olmadığından bu bitkilerin kromozom katlaması ile katlanmış haploid (DH) hale dönüştürülmesi gerekmektedir. DH bitkilerden kendileme yolu elde edilen tohumlar genetik açılım göstermezler ve birbirlerine klon kadar benzerler.

DH teknolojisi kendine döllenmiş türlerde yeni çeşit geliştirmek ya da yabancı tozlanan türlerde hibrit üretmek için kullanılabilir saf hat geliştirmek amacıyla da kullanılmaktadır. DH hatların üretimi, birçok ürün için tamamen homozigot hatların elde edilmesini hızlandıran bir yöntemdir. Üstün soğan hibritlerin oluşturulması ebeveyn olarak kullanılacak hatların doğuştan verimli ve yüksek kalitede olmasına bağlıdır. DH hatlar, yerli hatlara kıyasla hızlı üretim süresine ve üstün homojenlik özellik göstermesi sonucu pirinç, mısır, kolza, tütün ve arpa gibi çeşitli ekinlerin ticari ıslah programlarında doğal hat gelişimini hızlandırmak için kullanılmıştır (Bong ve Swaminathan 1995, Maluszynski ve diğ. 2003, Roeber ve diğ. 2005). Haploid bitkiler ya kendiliğinden kromozomlarını iki katına çıkararak ya da tamamen homozigot DH bitkiler oluşturmak için metafaz evresinde iğ ipliklerinin oluşumunu engelleyecek kimyasallar kullanılarak DH bitkiler oluşmaktadır. DH hatlar tamamen homozigot olduğundan; şekil, yaprak mumsuluğu, hastalık direnci ve çözülebilir katkı madde gibi genetik olarak kontrol edilen özellikler DH ebeveynlerle oluşturulan hibritler çok güzel sonuçlar verecektir (Hyde ve diğ. 2012).

DH bitkiler ıslah programlarında oluşturulması çok uzun zaman alan saf hatların yerini de alabilirler. DH bitkilerin kısa sürede üretilmeleri ve genetik olarak saf olmaları klasik yöntemlerle üretilen standart hatlardan çok daha değerli kılar. Soğangillerde uygulanabilen döllenmemiş yumurta hücrelerinden bitki üretme (ginogenesis) tekniğinin başarısı uygulamanın yapıldığı tür ve genotiplere göre farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle ülkemizde gerçekleştirilen soğan ve şalot ıslah programlarında kullanılacak olan genotiplerde haploid bitki üretme potansiyelinin araştırılması son derece önemlidir. DH hatların ıslah çalışmalarında kullanılabilmesi için, uygulanacak protokollerin genotipten etkilenmemesi, çok sayıda haploid bitki eldesine olanak sağlaması, bitkilerin diploidizasyonunun ve yeniden bol miktarda tohum üretebilmelerinin sağlanması gereklidir. Ticari potansiyele sahip DH soğan ve

şalot hatları tescillenerek tohum üretimi amacıyla kullanılabilir. DH soğan ve şalot hatları direkt çeşit olarak kullanılacakları gibi F1 hibrit soğan ve şalot çeşitlerinin üretiminde ebeveyn olarak da kullanılabilirler.

Tohum verimini artırmak, maliyeti düşürmek ve uzun yaşam döngüsüne sahip olan soğanların biyoteknolojik uygulamalar için kullanışlı ve zorunlu hale gelmeye başlamıştır. Bu uygulamalar sonucunda istenilen özellikteki materyallerin pazara sunumlarına olanak sağlayacaktır ve tüketicilerin talebini karşılayacaktır.

### **1.5 Soğan ve Şalot Islahı**

Yeni soğan çeşitlerinin geliştirilmesi uzun zaman alan ve zahmetli bir işlemdir. Gelişmekte olan ülkelerde halen açık tozlanan (OP) standart çeşitlerle soğan üretimi yapılmaktadır. Bu çeşitlerin üretilmesi sırasında iki ebeveyn arasında bir melezleme uygulamasından sonra F1 bireyler arasında seleksiyon uygulaması yapılarak istenilen özelliği taşıyan bireylerin seçimi gerçekleştirilir. Bu bireylerin istenilen özellikleri kalıtsal olarak taşımaya devam etmeleri ve genetik açılım yolu ile birbirine benzemeyen bireylerin ortaya çıkmasının önüne geçilmesi için kendileme adı verilen yöntemle çoğaltımı yapılır. Kendileme işleminde polen üreten bitkiler kendi polenleri ile tozlanıp döllenirler. Kendileme işlemi ile elde edilen bitkilerde de aynı işlem yapılarak birbirine benzeyen bitkiler üretilmeye çalışılır. İstenen özelliğin kalıtım moduna göre standart bir soğan çeşidinin elde edilmesi çok uzun yıllar alabilir. Bu uygulama sırasında kendileme depresyonu nedeniyle birçok ıslah materyalinin kaybedilmesi söz konusudur. Ayrıca kendileme yöntemiyle üretilen çeşitlere ait bitkiler arasında farklılıklar görülür bunun nedeni kendileme depresyonunun genetik olarak tamamen saflaştırılmış çeşitlerin üretilmesinin önünde bir engel teşkil ediyor olmasıdır. Gelişmiş ülkelerde soğan üretimi daha çok hibrit çeşitlerle yapılmaktadır. Bunun nedeni sitoplazmik erkek kısır (CMS) özelliğine sahip olan ve CMS özelliğinin idame ettiricisi hatların bulunmasıdır. CMS özelliği olan bitkilerde polen üretimi gerçekleşmediği için bu bitkilerin umbellerinde emaskülasyon yapılmasına gerek yoktur. Ana olarak kullanılan CMS bitkilerinin polen üreten baba bitkiler tarafında tozlanması ile tamamen hibrit tohumların üretimi gerçekleştirilir. Hibrit çeşitler OP standart çeşitlere göre daha yüksek hasat verimi ve uniform başlar ürettikleri için daha

fazla tercih edilirler. Şalot çeşitlerinin bir bölümü başlarının yeniden dikilmesiyle üretildikleri için genetik olarak heterozigot olmaları büyük bir sorun teşkil etmez. Tohum ile üretimi yapılan şalotların ıslahı soğan çeşitlerinin ıslahında kullanılan yöntemleriyle benzerlik gösterir. Soğanda olduğu gibi OP standart ve hibrit şalot çeşitleri ıslah edilmiştir.

Günümüzde soğan ve şalot ıslahı programlarının hedefi yeni hibrit çeşitlerinin geliştirilmesidir. Hibrit çeşitlerin üretimi için genetik olarak üniform CMS, idame ettici ve polen donörü baba hatların elde edilmesi gerekmektedir. Islah programlarında baba olarak kullanılacak olan hattın yüksek melez gücü, hasat verimi ve baş üniformitesi sağlanması istenir. Bu nedenle baba hatların üretilmesi büyük öneme sahiptir.

### **1.6 Yapılan Tezin Amacı**

Yayınlanmış birçok çalışmada ginogenesis temelli haploidizasyon uygulamasının özellikle soğan da başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu çalışmanın amacı ülkemiz koşullarında yetişen soğan ve şalot hatlarının haploidizasyon uygulamasına gösterecekleri cevabın belirlenmesi ve haploid bitkilerin üretilmesidir. Bu çalışmada PAU BİYOM koleksiyonunda bulunan dokuz soğan ve üç şalot hattına ait donör bitkilerden haploid bitki üretim potansiyelleri araştırılmıştır. Bitkilerin tomurcukları ginogenesis'e cevap verip büyümesine rağmen gelişmeyen bitkiciklerinde analizleri yapılarak neden büyümedikleri araştırılacaktır.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Materyali

Bu çalışmada ginogenik bitki üretimi amacıyla kullanılan soğan ve şalot genotipleri Pamukkale Üniversitesi, Bitki Genetiği ve Tarımsal Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (PAÜ BİYOM) gen havuzundan alınmıştır. Kullanılan soğan materyalleri beş açık tozlanan (OP) standart ticari çeşit ve dört ıslah hattından (Tablo 1) ve şalot materyalleri ise üç ıslah hattından oluşturulmuştur (Tablo 2). Kullanılan materyallerden; Pompei, White Lisbon, Southport 404, Alan beyazı, İstanbul Silivri Beyaz, PAU5 Beyaz çeşitleri beyaz baş oluşturan genotiplerdir. Yalova-12, Delfos, Denizli Populasyonu çeşitleri de sarı baş oluşturan genotiplerdir. Projede kullanılan soğan ve şalot materyallerine ait bitkilerin başları bir yıl önce PAU BİYOM uygulama arazisinde büyütülerek elde edilmiştir. Başlar soğuklama ihtiyacının giderilmesi ve muhafaza amacıyla yaklaşık üç ay kadar +8° C'ye ayarlanmış olan soğuk depoda karanlıkta tutulmuşlardır. Soğan ve şalot materyallerine ait başlar Aralık ayında torf ve perlit (2:1) karışımı ile doldurulmuş olan 24'lük plastik viyollere dikilerek 18 saat ışık/18° C'ye ayarlanmış büyütme kabineye yerleştirilmişlerdir. Başlar yaprak ve kökler oluşturmaya başladıktan sonra 7 L'lik torf ve perlit (2:1) karışımı içeren plastik saksılara aktarılmış ve ısıtmasız seraya transfer edilmişlerdir. Serada gelişimlerine devam eden soğan ve şalot bitkileri Nisan ayı başlarında çiçek sapları oluşturmaya başlamışlardır. Mayıs ayı başında itibaren ginogenesis uyarımı için yeterli büyüklüğe ulaşmış olan çiçek tomurcuklarını bulandıran soğan ve şalot genotiplerine ait umbeller 30 cm'lik sap ile kesilerek laboratuvar getirilmiştir (Şekil 2A, D). Laboratuvara getirilen umbellerdeki çiçeklerin yaklaşık %15'i antesis aşamasına ulaşmış oldukları için kesilerek uzaklaştırılmışlardır.

**Tablo 1.** Donör soğan genotiplerinin genel özellikleri

Genotip <sup>a</sup>	Tat	Baş Kabuğu Rengi	Baş Şekli
Pompei <sup>b</sup>	Acı	Beyaz	Basık yuvarlak
White Lisbon <sup>b</sup>	Acı	Beyaz	Basık yuvarlak
Southport 404 <sup>b</sup>	Acı	Beyaz	Basık yuvarlak
Alan beyazı <sup>c</sup>	Tatlı	Beyaz	Basık yuvarlak
İstanbul Silivri Beyaz <sup>c</sup>	Acı	Beyaz	Basık yuvarlak
PAU5 Beyaz <sup>c</sup>	Tatlı	Beyaz	Basık yuvarlak
Yalova-12 <sup>b</sup>	Acı	Sarı	Basık yuvarlak
Delfos <sup>b</sup>	Acı	Sarı	Basık yuvarlak
Denizli Populasyonu <sup>c</sup>	Acı	Sarı	Basık yuvarlak

<sup>a</sup>Çalışmada kullanılan çiçek tomurcuğu donörleri açık tozlanan genotiplerdir

<sup>b</sup>Standart çeşit

<sup>c</sup>Seleksiyon materyali

**Tablo 2.** Donör şalot genotiplerinin genel özellikleri

Genotip <sup>a</sup>	Tat	Baş Kabuğu Rengi	Baş Şekli
Şalot 1 <sup>b</sup>	Acı	Kırmızı	Çoklu ve basık yuvarlak
Şalot 2 <sup>b</sup>	Acı	Kırmızı	Çoklu ve basık yuvarlak
Şalot 3 <sup>b</sup>	Acı	Sarı	Tek ve basık yuvarlak

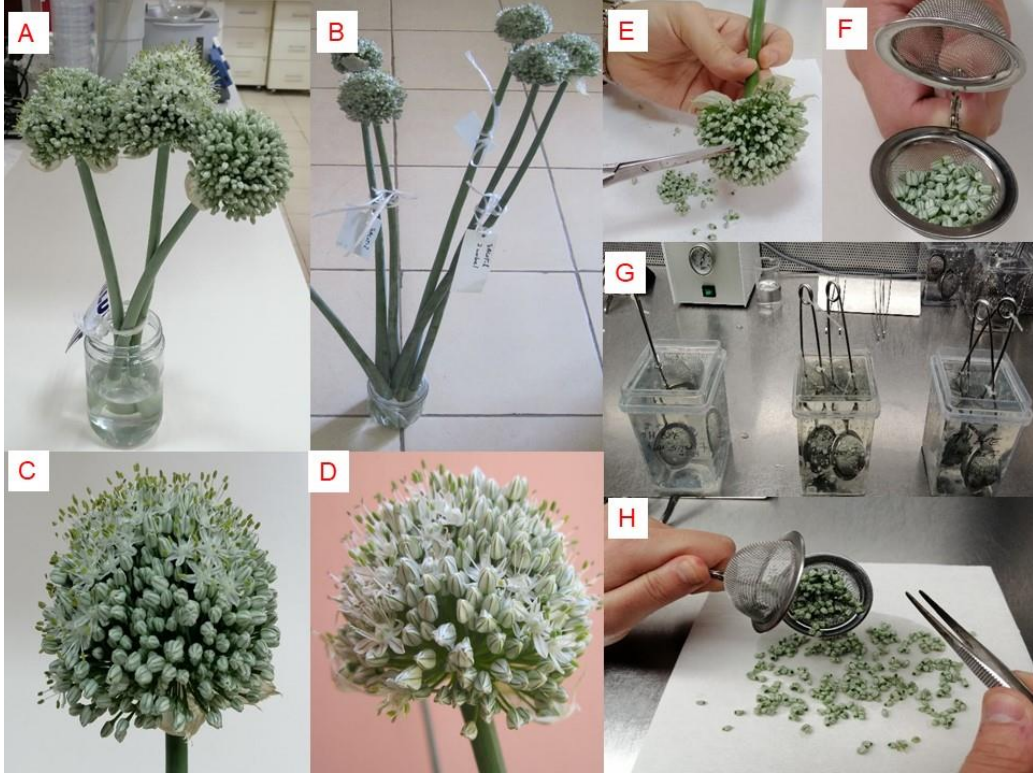
<sup>a</sup>Çalışmada kullanılan çiçek tomurcuğu donörleri OP genotiplerdir

<sup>b</sup>Seleksiyon materyali

## 2.2 Soğan ve Şalot Genotiplerine Ait Tomurcukların Uyartım Kültürüne Alınması

Soğan ve şalot genotiplerine ait çiçek tomurcuklarının ginogenesis uyartım ortamlarında kültür için hazırlanmaları ve uyartım ortamı içeren Petri tabaklarında kültürü alınmaları benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Laboratuvara getirilmiş olan umbellerde açmış olan tomurcuklar uzaklaştırılmış ve antesisten yaklaşık üç gün önceki aşamada olan açmamış tomurcuklar (>3 mm) steril makas yardımıyla kesilerek bir Magenta kutusunda toplanmışlardır (Şekil 2E). Tomurcuklar yüzey sterilizasyonu için çay süzüklerine aktarılmışlardır (Şekil 2F). Sterilizasyon işlemi için önce 30 saniye %70'lik etanolde tutulan tomurcuklar daha sonra 30 dakika sterilizasyon solusyonu

(% 15 clorax+ % 0,1 Tween- 20) ile doldurulmuş bir Magenta kutusu içerisine konulmuştur. Bir sonraki aşamada tomurcuklar steril saf su ile üç defa yıkayıp durulanmıştır (Şekil 2G). Steril tomurcuklar steril kurutma kağıtları üzerine serilerek 10 dakika kadar kurumaları sağlanmıştır (Şekil 2H). Tüm sterilizasyon işlemleri steril kabinde, steril ekipman ile yapılmıştır. Sterilizasyon sırasında açmış ya da deforme olmuş tomurcuklar ayrılarak uzaklaştırılmıştır.

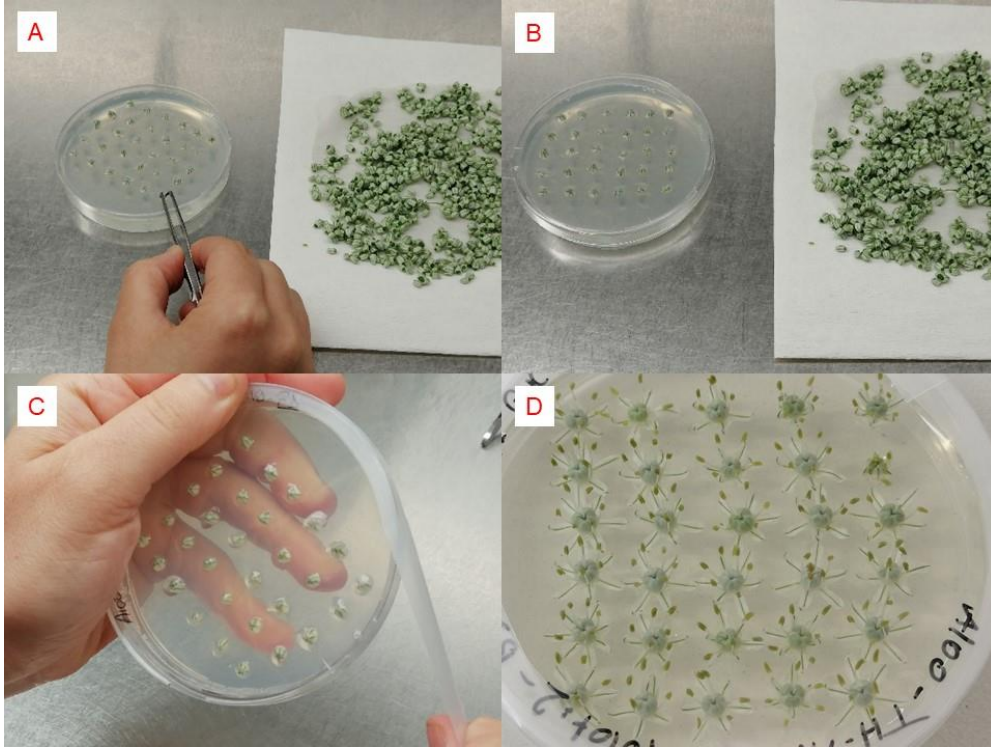


**Şekil 2.** Açmamış soğan ve şalot çiçek tomurcuklarının kültüre hazırlanmaları. **A.** Delfos genotipine ait soğan umbelleri. **B.** Şalot 1 genotipine ait şalot umbelleri. **C.** Soğan umbelinin yakından görünümü. **D.** Şalot umbelinin yakından görünümü. **E.** Tomurcukların kesilerek toplanmaları. **F.** Tomurcukların çay süzeğine doldurulmaları. **G.** Tomurcukların sterilizasyon işlemine tabi tutulmaları. **H.** Sterilizasyon sonrasında tomurcukların steril kağıt üzerinde kurutulmaları.

### 2.3 Soğan ve Şalot Genotiplerinde Ginogenesis Uyarımı ve Ginogenik Bitkilerin Elde Edilmesi

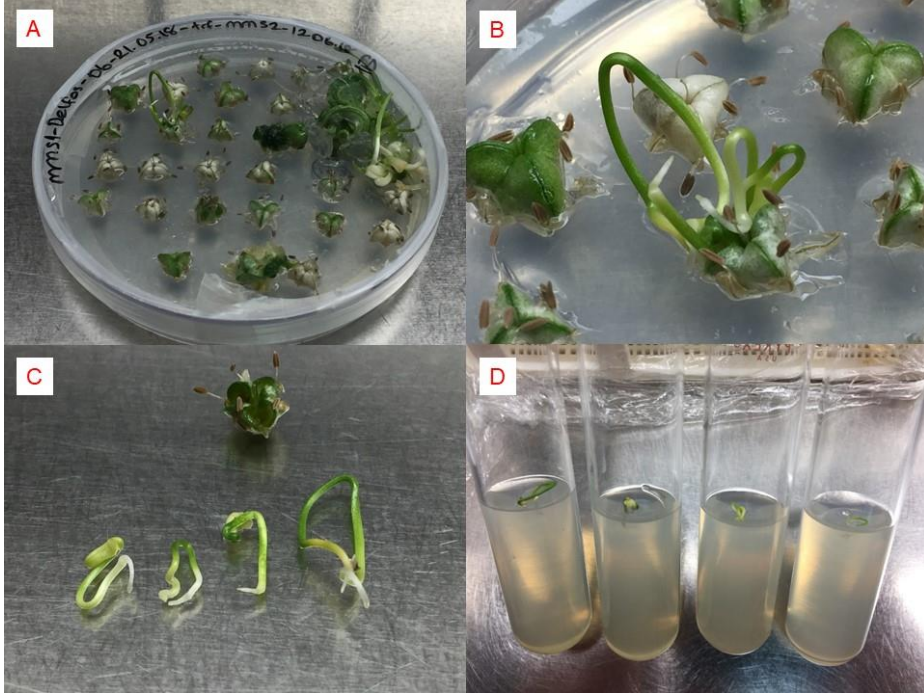
Tomurcuk kültürleri 20 ml BDS (Dunstan ve Short 1977) uyarım medyası içeren 15x90 mm'lik Petri kaplarına 30'ar adet açmamış çiçek tomurcuğu konarak oluşturulmuştur (Şekil 3A,B). Bu çalışmada dokuz donör soğan genotipinden elde edilen toplam 41010 adet tomurcuk ginogenesis uyarım ortamına ekilmiştir (Tablo 3).

Üç şalot genotipinden alınan toplam 2280 adet tomurcuk uyarım kültürüne ekilmiştir (Tablo 4). Oluşturulan tüm kültür tabakları sterilizasyonun korunması amacıyla iki sıra parafilm ile kapatılmıştır (Şekil 3C). Ginogenesis uyarım kültürleri Alan ve diğ. (2004) tarafından yayınlanmış olan kültür koşullarında büyütülmüştür ve kültürler haftalık olarak gözlenmiştir (Şekil 3D). Ginogenik soğan ve şalot bitkiciklerin çıkış tarihleri kayıt edilmiştir. Uyarıma cevap veren soğan ve şalot tomurcukları tespit edildiklerinde 20 ml EM besi ortamı (Jakse ve diğ. 2003) içeren Petri kaplarına transfer edilmiştir (Şekil 4A, B; Şekil 5A, B). Tomurcuklardan çıkmakta olan ginogenik bitkiciklerin boyuna uzayabilmesi ve büyüebilmesi için 15 ml EM içeren 50 ml'lik cam tüplere transfer edilmiştir (Şekil 4C, D; Şekil 5C, D). Ginogenesis uyarım kültürleri uygun büyütme şartlarına (18 saat ışık/25° C ve 6 saat karanlık/17° C) ayarlanmış büyütme odasına yerleştirilmiştir. Büyümeye devam eden ginogenik bitkilerde ploidi seviyesi tespiti yapılmıştır. Haploid oldukları tespit edilen bitkiler daha sonra gerçekleştirilecek bir kromozom katlaması deneyinde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

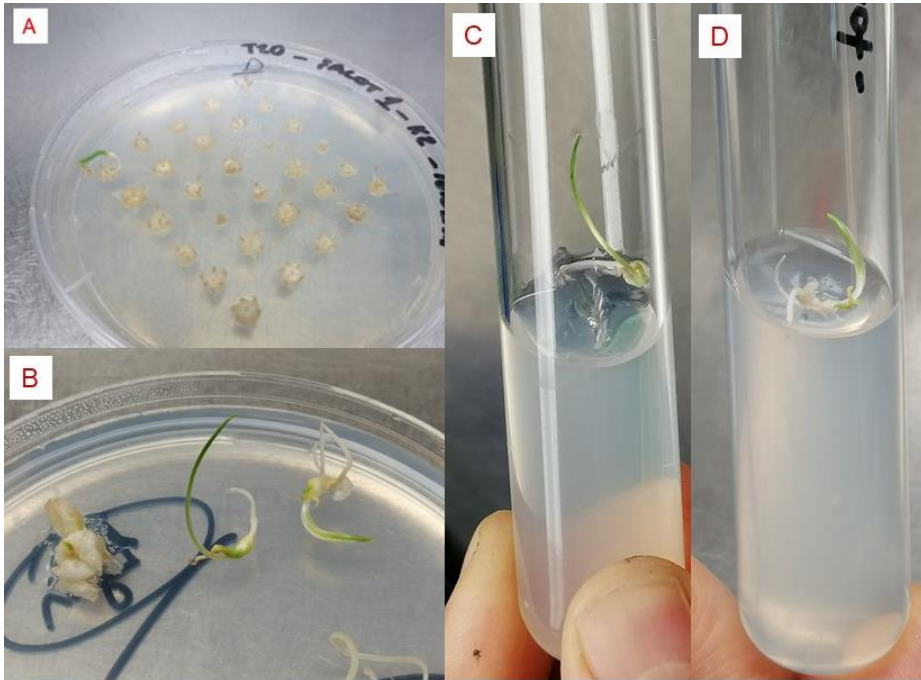


**Şekil 3.** Soğan ve şalot genotiplerinde ginogenesis uyarım kültürlerinin başlatılması. **A.** Tomurcukların uyarım ortamı içeren Petri kaplarına ekilmesi işlemi. **B.** Otuz tomurcuğun uyarım ortamına sıralı olarak ekilmiş hali. **C.** Kültürlerin parafilm ile sarılması. **D.** Kültüre konmuş olan tomurcukların ekimden bir hafta sonraki durumu.





**Şekil 4.** Soğanda ginogenik uyartım, ginogenik bitkicik ve bitki eldesi. **A.** Ginogenesis uyartımına cevap veren tomurcukların bulunduğu bir Petri kabı. **B.** Ginogenesis cevabı veren bir çiçek tomurcuğu. **C.** Ginogenesisse cevap veren bir soğan tomurcuğundan alınan dört adet ginogenik bitkicik. **D.** Kültür tüplerine alınmış ginogenik bitkicikler.



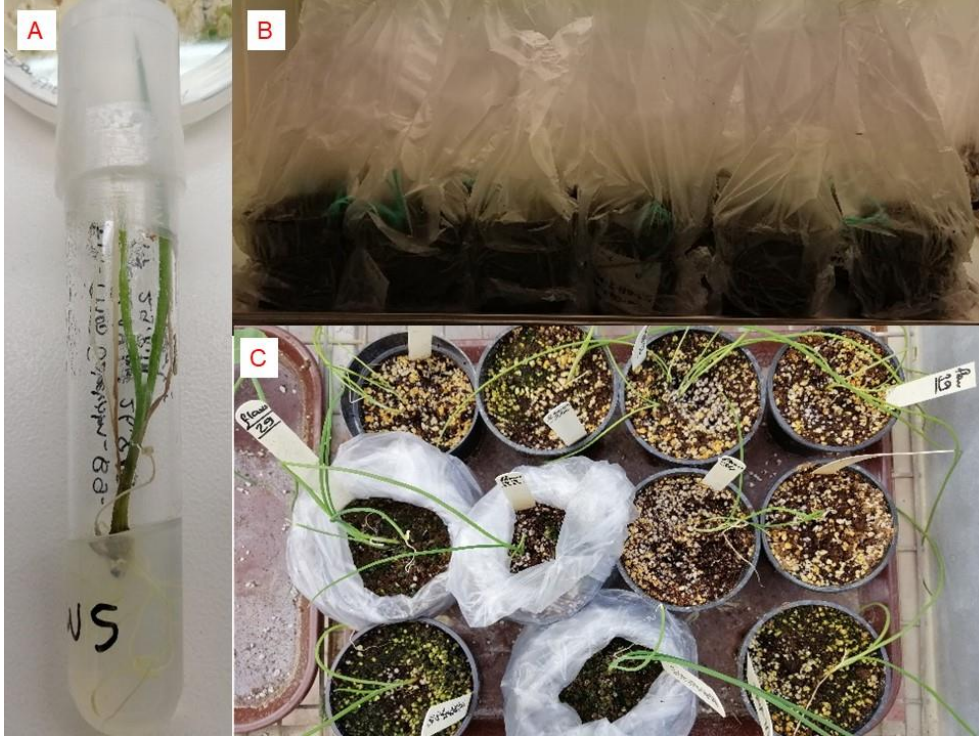
**Şekil 5.** Şalotta ginogenik uyartım, ginogenik bitkicik ve bitki eldesi. **A.** Ginogenesis uyartımına cevap veren bir tomurcuk. **B.** Ginogenik şalot bitkicikleri. **C** ve **D.** Kültür tüpüne alınmış ginogenik şalot bitkicikleri.

## 2.4 Soğan ve Şalot Bitkilerinin Ploidi Seviyelerinin Analizi

Ginogenesis uyarımı ile elde edilen soğan ve şalot bitkilerinin ploidi seviyeleri flow sitometri (FCM) analizi ile tespit edilmiştir. Bu amaçla 2-3 yapraklı ginogenik soğan ve şalot bitkilerin her birinden yaklaşık 50 mg yaprak alınarak Petri kaplarına yerleştirilmiş ve bunlar ıslak buz kutusuna konulmuştur. Yeni çimlendirilmiş olan yulaf (*Avena sativa*) fidelerinden aynı miktarda genç yaprak kesilerek, içsel kontrol amacı ile kullanılmak üzere, soğan ve şalot örneklerin bulunduğu Petri kaplarına konulmuştur. Doku örnekleri jilet yardımı ile 1,5 ml NIB (nuclei isolation buffer) içerisinde dikkatlice ince dilimler halinde kıyılmışlardır. Çekirdek süspansiyonu 37 µm'lik porlara sahip naylon filtreden geçirilerek 2 ml'lik Eppendorf tüplerine transfer edilmişlerdir. Örneklerin bulunduğu tüplerin her birine 1 mg/ml olarak hazırlanmış olan propidium iodide (PI) stok çözeltisinden 10 µl eklenmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Okuma tüplerine transfer edilen örnekleri Beckman Coulter Cell Lab Quanta SC marka flow cytometri cihazında okunmuşlardır. Örneklerin çekirdek DNA miktarları Arumuganathan ve Earle (1991) tarafından önerilen formüle göre tespit edilmiştir.

## 2.5 Bitkilerinin *in vivo*'ya transfer edilmesi

FCM analizi ile spontan olarak diploid (2n), miksploid (n+2n ya da 2n+4n) ve tetraploid (4n) oldukları tespit edilen ginogenik bitkiler dikkatlice tüplerden çıkartılmıştır (Şekil 6A). Ginogenik bitkiler musluk suyu altında medya kalıntılarında arındırılmış ve otoklavlanmış torf- pellit (2:1) ile doldurulmuş saksılara aktarılmış ve naylon poşetlerle kapatılmıştır (Şekil 6B). Bu bitkiler sürekli 18 saat ışık ve 17° C'ye ayarlanmış büyütme kabininde büyümeye alınmışlardır. Transferden bir hafta sonra bitkileri saran naylonlarda küçük delikler açılmıştır. İki hafta sonra ise naylon tamamen uzaklaştırılmıştır (Şekil 6C). Yeterli büyüklüğe ulaşmış bitkiler torf- pellit karışımı ile doldurulmuş 4.6 litrelik büyük viyollere alınıp bir süre daha büyütme kabininde bekletilmiştir. Son olarak büyütme kabininden çıkarılan bitkilerin baş oluşturması ve standart sera şartlarında büyütülmesi sağlanmıştır. Serada bulunan bitkiler baş oluşturduktan sonra hasat edilip bazı karakteristik özellikleri (yaprak boyu, çapı gibi) ölçülüp tartıldıktan sonra kurumaya bırakılmıştır.



**Şekil 6.** Ginogenik soğan bitkilerinin dış ortama aktarılması. **A.** Ginogenik soğan bitkisi. **B.** Dış ortama alınmış ve naylon poşet ile sarılmış ginogenik soğan bitkileri. **C.** Dış ortama alıştırılmış ginogenik soğan bitkileri.

## 2.6 Çalışmalar sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizi

Tez çalışmasında elde edilecek verilerin istatistiksel analizleri Minitab programında olan ANOVA testi ile yapılmıştır. Soğan ve şalot genotiplerinde ginogenik bitki rejenerasyonu oranları kültürdeki çiçek tomurcuğu sayısına göre hesap edilmiştir. Aynı medya kompozisyonuna sahip ve aynı genotipten elde edilmiş eksplantlarla oluşturulmuş Petriler bir replikasyon ünitesi olarak kabul edilmiştir. Soğan ve şalot genotipleri ile yapılan ginogenesis deneylerinde elde edilen ortalamalar arasındaki farklılıkların Tukey ( $p=0,05$ ) ile kıyaslaması yapılmıştır.

### 3. BULGULAR

Kültür odasındaki soğan ve şalot çiçek tomurcukları ile oluşturulmuş olan ginogenesis uyartım kültürleri hafta da bir kez gözlenmiştir. Mikrobiyal kontaminasyon tespit edilen Petri tabakları kültür odasından uzaklaştırılmıştır. Ginogenesis uyartımına cevap yönünden soğan genotipleri kültür başlangıcından yaklaşık üç ay sonra ginogenik bitkicikler görülmeye başlanmıştır. Şalot genotiplerinde ise ilk ginogenik bitkicikler kültür başlangıcından yaklaşık dört ay sonra görülmeye başlanmıştır. Uyartıma cevap veren tomurcuklar ve bunlardan gelen bitkicikler EM besiyerine alınarak gelişimlerinin tamamlanması sağlanmıştır.

#### 3.1 Soğan Tomurcuklarından Ginogenesis Uyartımına Gelen Cevaplar

Beyaz başlı soğan materyallerinin tomurcuklarının BDS besiyerine ginogenesis uyartımı için kültüre alınmıştır ve bitkiye dönüşüm aşamaları kayıt altına alınmıştır (Tablo 3). Pompei genotipinden 4890 tane tomurcuk kültüre alınmıştır. Bu genotipten toplam yedi (% 0,14) tane tomurcuk ginogenesisise cevap vermiştir. Ginogenik bitkicik oluşturan altı (% 0,12) bitkicik ve bunların içinden beş (% 0,1) tanesi bitki haline gelmiştir. Pompei ve Southport 404 genotiplerinin cevap veren tomurcuk yüzdeleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu bulunmuştur. Southport 404 genotipinden 450 tane tomurcuk kültüre alınmıştır. Bunlardan dokuz (% 2) tomurcuktan cevap gelmiştir ve beş (% 1,1) tanesi bitkicik ve bitki halini almıştır. İstanbul Silivri Beyaz genotipinden 900 tomurcuk kültüre alınmıştır. Bunlardan iki (% 0,2) tomurcuk cevap vermiş ve bir (% 0,1) tanesi bitkicik halini almıştır ve bitki formuna dönüşen bitkicik olmamıştır. PAU5 Beyaz genotipinden 2730 tomurcuk kültüre alınmıştır. Bunlardan altı (% 0,2) tane tomurcuk cevap vermiş ve bunlardan üç (% 0,1) tanesi bitkicik halini alabilmiştir ancak bunlar bitki gelişimi sağlanamamıştır. Southport 404, Alan beyazı ve PAU5 Beyaz genotiplerinin ginogenik bitki oluşturma oranları arasında istatistiksel olarak fark olduğu bulunmuştur. Alan Beyazı genotipinden 6930 tane tomurcuk kültüre alınmıştır. 97 (% 1,3) tane tomurcuktan ginogenesis uyartımına cevap gelmiştir. Bunların 54 (% 0,7) tanesi ginogenik bitkicik formunu almıştır. Bu bitkiciklerin 41 (% 0,5) tanesi ginogenik bitki haline

dönüşmüştür. White Lisbon genotipinden 720 tane tomurcuk ekilmiş olmasına rağmen ginogenesis cevabı alınamamıştır.

Sarı başlı soğan materyallerinin tomurcuklarının BDS besiyerine ginogenesis uyarımı için kültüre alınmıştır ve bitkiye dönüşüm aşamaları kayıt altına alınmıştır (Tablo 3). Delfos genotipinden toplam 6870 tane tomurcuk kültüre alınmış olup 61 (% 0,8) tane tomurcuk ginogenesis cevap vermiştir. Bunların 47 (% 0,6) tanesi bitkicik oluşturmuş ve 38 (% 0,5) tanesi bitki halini alabilmiştir. Alan beyazı ve Delfos genotiplerinde ginogenik bitki oluşum oranları arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Yalova-12 genotipinden 7950 tane tomurcuk besiyerine alınmış olup 39 (% 0,4) tane tomurcuktan cevap gelmiştir. Bunların 24 (% 0,3) tanesi bitkicik oluşturmuş ve 17 (% 0,2) tanesi bitki halini alabilmiştir. Denizli Populasyonu genotipinden toplamda 6720 tane tomurcuk besiyerine alınmıştır. Bunlardan 10 (% 0,14) tanesi cevap vermiştir. Bunların 10 (% 0,14) tanesi bitkicik oluşturmuş ve iki (% 0,02) tanesi bitki formuna dönüşebilmiştir. Southport 404 ve Denizli populasyonu genotiplerinde tüm özellikler bakımından istatistiksel olarak fark olduğu bulunmuştur. Pompei ve Denizli populasyonu arasında ise ginogenik bitki ve bitkicik oluşturma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamaktadır. Ginogenesis uyarımı için kültüre alınan toplam tomurcuk sayısı 38,160'tır. Bunlardan 231 (% 0,6) tane tomurcuk ginogenesis uyarımına cevap vermiştir. Bunların 150 (% 0,3) tanesi ginogenik bitkicik halini almış olup yalnızca 108 (% 0,2) tanesi bitki formuna gelebilmiştir.

Ginogenesis uyarımında normal gelişim gösteren bitkilerin yanısıra gelişmeyen bitkiciklerin olduğu görülmüştür. Normal gelişim gösteremeyen bu bitkicikler kayıt altına alınmıştır. Southport 404 genotipinde anormal bir gelişim gözlenmemiştir. Pompei genotipinden üç (% 0,06), İstanbul Silivri Beyaz genotipinden bir (% 0,1), PAU5 Beyaz genotipinden dokuz (% 0,3), Alan Beyazı genotipinden 41 (% 0,5), Delfos genotipinden 20 (% 0,2), Yalova-12 genotipinden 17 (% 0,2), Denizli populasyonu genotiplerinden altı (% 0,08) tanesi ginogenesis uyarıtıma cevap vermelerine rağmen gelişim görülememiştir. Toplam gelişim gösteremeyen bitkicik sayısınının 97 (% 0,2) olduğu gözlemlenmiştir.

**Tablo 3.** Soğan genotiplerinin BDS medyasında ginogenesis uyartımına gösterdiği cevaplar

<b>Genotip</b>	<b>Ekilen Tomurcuk Sayısı</b>	<b>Cevap Veren Tomurcuk Sayısı (%)</b>	<b>Ginogenik Bitkicik Sayısı (%)</b>	<b>Ginogenik Bitki Sayısı (%)</b>	<b>Gelişmeyen Ginogenik Bitkicik Sayısı (%)</b>
<b>Pompei</b>	4890	7 (0,14) C	6 (0,12) C	5 (0,1) C	3 (0,06)
<b>Southport 404</b>	450	9 (2) A	5 (1,1) A	5 (1,1) A	-
<b>İstanbul Silivri Beyaz</b>	900	2 (0,2) BC	1 (0,1) BC	0 BC	1 (0,1)
<b>PAU5 Beyaz</b>	2730	6 (0,2) BC	3 (0,1) C	0 C	9 (0,3)
<b>Alan Beyazı</b>	6930	97 (1,3) A	54 (0,7) AB	41 (0,5) B	41 (0,5)
<b>White Lisbon</b>	720	0 BC	0 BC	0 BC	-
<b>Delfos</b>	6870	61 (0,8) AB	47 (0,6) AB	38 (0,5) B	20 (0,2)
<b>Yalova-12</b>	7950	39 (0,4) BC	24 (0,3) C	17 (0,2) C	17 (0,2)
<b>Denizli Populasyonu</b>	6720	10 (0,14) C	10 (0,14) C	2 (0,02) C	6 (0,08)
<b>Toplam</b>	<b>38,160</b>	<b>231 (0,6)</b>	<b>150 (0,3)</b>	<b>108 (0,2)</b>	<b>97 (0,2)</b>

\* Farklı harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır (Tukey, P<0,05).

### 3.2 Şalot Tomurcuklarından Ginogenesis Uyartımına Gelen Cevaplar

Şalot genotiplerinin de BDS besiyerine alınmasıyla ginogenesis uyartıma cevap verdikleri gözlemlenmiştir (Tablo 4). Şalot 1 genotipinden 660 tane tomurcuk kültüre alınmıştır. Bu tomurcuklardan iki (% 0,3) tanesi ginogenesis uyartımına cevap vermiştir ve tomurcuklar hem bitkicik hem de bitki formuna dönüşebilmişlerdir. Şalot 2 genotipinden toplam 1290 tane tomurcuk kültüre alınmış olup yalnızca bir tomurcuktan ginogenesis uyartıma cevabı verdiği görülmüştür. Şalot 3 genotipinden 180 tomurcuk ekimi yapılmıştır ve iki (% 1,1) tane tomurcuktan cevap gelmiştir. Bu iki tomurcuktan birinden iki tane bitkicik oluşumu gözlemlenmiştir. Toplam da üç (% 1,6) tane bitkicik oluşumu gözlenmiştir. Bu üç bitkicik de bitkiye dönüşmüştür. Şalot 2 ve şalot 3 genotiplerinin tüm özellikleri bakımından istatistiksel olarak fark olduğu

bulunmuştur. Toplam Şalot genotiplerinden 2130 tane tomurcuk ekimi yapılmıştır. Bunların beş (% 0,23) tane tomurcuğundan ginogenesis cevabı gelmiştir ve altı (% 0,28) tanesi bitkicik oluşturmuştur. Bunun altı (% 0,28) tanesinde bitki haline gelmiştir.

**Tablo 4.** Şalot genotiplerinin BDS medyasında ginogenesis uyartımına gösterdiği cevaplar

<b>Genotip</b>	<b>Ekilen Tomurcuk Sayısı</b>	<b>Cevap Veren Tomurcuk Sayısı (%)</b>	<b>Ginogenik Bitkicik Sayısı (%)</b>	<b>Ginogenik Bitki Sayısı (%)</b>
Şalot 1	660	2 (0,3) AB	2 (0,3) B	2 (0,3) B
Şalot 2	1290	1 (0,07) B	1 (0,07) B	1 (0,07) B
Şalot 3	180	2 (1,1) A	3 (1,6) A	3 (1,6) A
<b>Toplam</b>	<b>2130</b>	<b>5 (0,23)</b>	<b>6 (0,28)</b>	<b>6 (0,28)</b>

\* Farklı harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark bulunmaktadır (Tukey, P<0,05).

### 3.3 Ginogenik Soğan Bitkilerinin Ploidi Seviyeleri

Ginogenik soğan bitkilerinde yapılan FCM analiz sonuçlarının yüzdeler hesaplamaları yapılmıştır (Tablo 5). Elde edilen sonuçlarda  $32, 1 \pm 0,8$  pg/2C değerine sahip bitkiler diploid olarak kabul edilmiştir. Elde edilen pikogram değerinin yarısı haploid, bu değer iki katı ise tetraploid olarak kabul edilmiştir. Bu bitkilerin yanı sıra doku ve hücrelerde farklı kromozom sayısı barındıran bitkilerinde olduğu tespit edilmiştir. Miksoploid olarak isimlendirilen bu bitkilerin bir kısmı  $n+2n$  ve  $2n+4n$  kromozom yapılarına sahip olduğu bulunmuştur. Pompei genotipinden toplam beş bitki analiz edilmiştir. Bunlardan üç (% 60) tanesi haploid, bir (% 20) tanesi miksoploid ( $n+2n$ ) ve bir (% 20) tanesi de diploittir. Southport 404 genotipinden dokuz tane bitki analiz edilmiştir. Bunların dört (% 44,4) tanesi haploid, iki (% 22,2) tanesi miksoploid ( $n+2n$ ), iki (% 22,2) tanesi diploid, bir (% 11,1) tanesi de miksoploid ( $2n+4n$ )'dir. İstanbul Silivri Beyaz genotipinden sadece bir tane bitki analiz edilmiştir ve haploid olduğu görülmüştür. PAU5 Beyaz genotipinden toplamda bir tane bitki analizi yapılmıştır ve bu bitkide miksoploittir ( $n+2n$ ). Alan Beyazı genotipinden toplamda 38 bitki analiz edilmiştir. Bunlardan 19 (% 50) tanesi haploid, sekiz (% 21) tanesi miksoploid ( $n+2n$ ), dokuz (% 23,6) tanesi diploid, bir (% 2,6) tanesi miksoploid

(2n+4n) ve bir (% 2,6) tanesinde tetraploid olduğu gösterilmiştir. Delfos genotipinden 36 bitki de ploidi analizi yapılmıştır ve 23 (% 63,8) tanesi haploid, üç (% 8,3) tanesi mikroploid (n+2n) ve 10 (% 27,7) tanesinde diploittir. Yalova-12 genotipinden 16 bitki analiz edilmiştir. Bunlardan dokuz (% 56,2) tanesi haploid, iki (% 12,5) tanesi mikroploid (n+2n) ve beş (% 31,2) tanesinde diploittir. Bitki formuna kadar gelişen materyallerden toplam 106 tane ploidi analizi yapılmıştır. Toplamda 59 (% 55,6) tane haploid, 17 (% 16) tane mikroploid (n+2n), 27 (% 25,4) tane diploid, iki (% 1,8) tane mikroploid (2n+4n) ve bir (% 0,9) tane tetraploid olan ploidi seviyeleri tespiti yapılmıştır. Beyaz başlı soğanlardan olan White lisbon ve sarı başlı soğanlardan olan Denizli popülasyonundan bitki formuna dönüşen bitki olmadığı için ploidi analizleri bulunmamaktadır.

**Tablo 5.** Ginogenik soğan bitkilerinde ploidi analizi sonuçları

Genotip	Test edilen bitki sayısı	Ploidi düzeyi				
		n (%)	n+2n (%)	2n (%)	2n+4n (%)	4n (%)
Pompei	5	3 (60)	1 (20)	1 (20)	-	-
Southport 404	9	4 (44,4)	2 (22,2)	2 (22,2)	1 (11,1)	-
İstanbul Silivri beyaz	1	1 (100)	-	-	-	-
PAU5 Beyaz	1	-	1 (100)	-	-	-
Alan beyazı	38	19 (50)	8 (21)	9 (23,6)	1 (2,6)	1 (2,6)
Delfos	36	23 (63,8)	3 (8,3)	10 (27,7)	-	-
Yalova-12	16	9 (56,2)	2 (12,5)	5 (31,2)	-	-
<b>Toplam</b>	<b>106</b>	<b>59 (55,6)</b>	<b>17 (16)</b>	<b>27 (25,4)</b>	<b>2 (1,8)</b>	<b>1 (0,9)</b>

Ginogenik cevap vererek bitki haline dönüşenlerin yanısıra gelişemeyen ve büyüyemeyen embriyoların neden gelişip büyümediği hakkında yorum yapılabilmesi için DNA miktarının ve ploidi seviyelerinin belirlenmesi amacıyla FCM analizi yapılmıştır (Tablo 6). Beyaz başlı soğan materyallerinden Pompei genotipinden üç tane embriyo da analiz yapılmıştır. Bunlardan bir (% 33,3) tane haploid, bir (% 33,3) tane mikroploid (n+2n) ve bir (% 33,3) tane de diploittir. İstanbul Silivri Beyaz genotipten bir tane embriyo da analiz yapılmıştır ve diploittir. PAU5 Beyaz genotipinden toplam dokuz embriyo da ploidi tespiti yapılmıştır. Bunlardan üç (% 33,3) tanesi haploid ve altı (% 66,6) tanesi de diploittir. Alan Beyazı genotipinden 41 embriyo da analiz yapılmıştır. Bunlardan 16 (% 39) tanesi haploid, üç (% 7,3) tanesi mikroploid (n+2n), 21 (% 51,2) tanesi diploid ve bir (% 2,4) tanesi de tetraploittir.



Sarı başlı soğan materyallerinden olan Delfos genotipinden 20 tane embriyo da ploidi analizi yapılmıştır. Bunlardan dört (% 20) haploid, bir (% 5) miksploid ( $n+2n$ ), 12 (% 60) diploid ve üç (% 15) tanesi de miksploid ( $2n+4n$ )'dir. Yalova-12 genotipinden 17 tane embriyoda analiz yapılmıştır. Bunlardan beş (% 29,4) haploid, üç (% 17,6) miksploid ( $n+2n$ ), altı (% 35,2) diploid, bir (% 5,8) miksploid ( $2n+4n$ ) ve iki (% 11,7) tanesi de tetraploittir. Denizli Populasyonu genotipinden toplam altı tane embriyo analiz edilmiştir. Bunlardan bir (% 16,6) haploid, iki (% 33,3) miksploid ( $n+2n$ ) ve üç (% 50) tanesi diploittir. Gelişmemiş embriyolardan elde edilen toplam ploidi sayısı 97 olup 30 (% 30,9) tanesi haploid, 10 (% 10,3) tanesi miksploid ( $n+2n$ ), 50 (% 51,5) tanesi diploid, dört (% 4,1) tanesi miksploid ( $2n+4n$ ) ve üç (% 3) tanesinin de tetraploid olduğu FCM analizi ile tespit edilmiştir.

**Tablo 6.** Anormal gelişim gösteren ginogenik soğan bitkilerinin ploidi analizi sonuçları

Genotip	Test edilen bitki sayısı	Ploidi düzeyi				
		n (%)	$n+2n$ (%)	2n (%)	$2n+4n$ (%)	4n (%)
Pompei <sup>a</sup>	3	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)	-	-
İstanbul Silivri beyaz <sup>b</sup>	1	-	-	1 (100)	-	-
PAU5 beyaz <sup>b</sup>	9	3 (33,3)	-	6 (66,6)	-	-
Alan beyazı <sup>b</sup>	41	16 (39)	3 (7,3)	21 (51,2)	-	1 (2,4)
Delfos <sup>c</sup>	20	4 (20)	1 (5)	12 (60)	3 (15)	-
Yalova-12 <sup>c</sup>	17	5 (29,4)	3 (17,6)	6 (35,2)	1 (5,8)	2 (11,7)
Denizli Populasyonu <sup>d</sup>	6	1 (16,6)	2 (33,3)	3 (50)	-	-
<b>Toplam</b>	<b>97</b>	<b>30 (30,9)</b>	<b>10 (10,3)</b>	<b>50 (51,5)</b>	<b>4 (4,1)</b>	<b>3 (3)</b>

### 3.4 Ginogenik Şalot Bitkilerinin Ploidi Seviyeleri

Bitki formuna dönüşmüş şalot genotiplerinde de ploidi analizi yapılmıştır (Tablo 7). Şalot 1 genotipinden toplam iki bitki analiz edilmiştir. Bunlardan bir (% 50) tanesi haploid ve bir (% 50) tanesi de miksploid ( $n+2n$ )'dir. Şalot 2 genotipinden bir bitkide ploidi analizi yapılmıştır ve diploittir. Şalot tek başlı sarı genotipinden bir bitki analiz edilmiştir ve haploittir. Çalışmada üretilen toplam dört ginogenik şalot bitkisinde ploidi analizi yapılmıştır. FCM analizine göre iki (% 50) tanesi haploid, bir (% 25) tanesi miksploid ( $n+2n$ ) ve bir (% 25) tanesi de diploittir.

**Tablo 7.** Ginogenik şalot bitkilerinde ploidi analizi sonuçları

Genotip	Test edilen bitki sayısı	Ploidi düzeyi		
		n (%)	n+2n (%)	2n (%)
Şalot 1	2	1 (50)	1 (50)	-
Şalot 2	1	-	-	1 (100)
Şalot 3	1	1(100)		
<b>Toplam</b>	<b>4</b>	<b>2 (50)</b>	<b>1 (25)</b>	<b>1 (25)</b>

### 3.5 Soğan ve Şalot Genotiplerinde Somatik Rejenerasyon Gösterenler

Ginogenesis uyartımın yanısıra somatik rejenerasyonlarla da karşılaşmıştır. Beyaz başlı soğan genotiplerinden Pompei'den bir, Alan Beyazından iki, İstanbul Silivri Beyazından altı adet somatik bitki elde edilmiştir. Sarı başlı soğan materyallerinden Delfos'dan 8 ve Yalova-12'den iki adet olmak üzere toplam 19 somatik bitki elde edilmiştir. Bu bitkilerin bazılarında yaş hallerinin özellikleri kayıt edilmiştir, ancak bazı bitkiler kurduktan sonra soğan başları yaşayamamıştır. Şalot genotiplerinde somatik rejenerasyona rastlanılmamıştır.

### 3.6 Ginogenik ve Somatik Bitkilerin Yaş ve Kuru Hallerinin Karakteristik Özellikleri

Aklimize edilip dış ortama aktarılmış ginogenik ve somatik bitkiler saksılardan çıkarılarak yaş ve kuru aşamadaki özellikleri kaydedilmiştir (Şekil 7 A, B). Ginogenik ve somatik bitkiler oluşturdukları baş sayısı, yaş ağırlığı, bitkinin boy uzunluğu gibi birçok özellikleri bakımından incelenmiştir (Tablo 8, Tablo 9). Ginogenik bitkilerin morfolojik özelliklerini karşılaştırmak için Yalova 12, Delfos, Alan beyazı, Pompei ve İstanbul Silivri genotiplerinden elde edilen somatik bitkiler kullanılmıştır. Ginogenik bitkiler genel olarak kaynaklandıkları donör genotiplerine benzerlikler göstermiştir. Haploid olan Delfos-G1 diğer ginogenik bitkilere kıyasla daha küçük kalmıştır. Diploid olan genotipler iyi bir adaptasyon göstermiş olup kurulduklarında da yaşayabilme kabiliyetine sahip oldukları gözlemlenmiştir. Tetraploid bir ginogenik

bitki olan Alan Beyazı G4 serada iyi bir gelişim göstererek büyümüş ve baş oluşturmuştur. Bu genotipe ait baş ne yazıkki kurutma sırasında çürümüştür. Aralarında en fazla 13 yaprak üretmesi ile iyi bir karakteristik özellik gösteren ve 8,3 cm olan en geniş baş yapısına sahip olan genotip Alan Beyazı G2'dir.

Somatik gelişim gösteren bitkilere bakıldığında Delfos genotiplerinin hepsi diğerlerine oranla yaşama kabiliyetinin daha iyi olduğu ve gelişimin iyi bir şekilde ilerlediği gözlemlenmiştir. Ancak kurutulduktan sonra soğan başlarının daha hassas olması, sıcaklık, nem gibi faktörlerle kötü etkilenmesi sonucu bu genotipin başları çürümüşlerdir. Alan Beyazı genotiplerinde gelişim güzel ilerlemiş fakat istenilen sonuç alınamamıştır. İstanbul Silivri genotipleri somatik bitki oluşturma kabiliyeti iyi olması sebebiyle baş oluşumu sağlıklı ilerlemiş ve soğuk hava deposuna alınmıştır. Bazı genotipler ise çevrenin etkisi (sıcaklık, nem gibi) ile çürümüş ve kurtarılamamıştır.

Yaş ağırlığı bakımından ginogenik bitkiler en fazla 222 g olup Alan beyazı-G2 genotipinden elde edilmiştir. Somatik bitkilerde bu durum 698 g olup Delfos-S5 genotipine aittir. Somatik bitkilerin ağırlık bakımından ginogenik bitkilerine kıyasla daha iyi ve sağlıklı olduğu gözlemlenmiştir. Tam boy uzunluğuna bakıldığı zaman ginogenik bitkilerde en fazla 98 cm (Alan beyazı-G4), somatiklerde ise 94 cm (Pompei-S1) olduğu ve bu durumda ploidi seviyesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Delfos-G1 genotipinin en düşük yaş ağırlığına sahip olmasının sebebi haploid olmasıdır. Bu durumda ginogenik bitkilerin somatiklere kıyasla daha çok adaptasyon sorunu yaşadığı görülmüştür. Ancak bazı ginogenik bitkiler çok iyi gelişim göstererek somatik bitkilerden daha güzel sonuçlar vermiştir. Buda bitkinin sahip olduğu genetik materyalinden kaynaklandığını ve ginogenesis uyartımıyla spontan olarak kendini katlamış olacağı varsayılarak en iyi karakterdeki özelliğini açığa çıkardığı düşünülmüştür.

**Tablo 8.** Serada büyütülen ginogenik soğan bitkilerinin yaş hallerinin karakteristik özellikleri

Genotip	Ploidi	Yaş Ağırlık (g)	Tam boy uzunluğu (cm)	Yaprak boyu (cm)	Yaprak eni (cm)	Yaprak sayısı	Baş boyu (cm)	Baş çapı (cm)
Yalova 12-G1	2n	64	46	2,8	0,5	7	5,3	4,5
Yalova 12-G2	-	32	30	2,4	0,8	4	4,1	3,4
Yalova 12-G3	-	26	26	1,7	0,4	4	3,4	2,7
Delfos-G1	n	1	30	0,5	0,6	1	1,1	1,2
Delfos-G2	2n	170	58	4,3	1,2	6	6,6	6
Alan Beyazı-G1	2n	112	51	3,6	1,2	8	5,5	5,1
Alan Beyazı-G2	2n	222	74	6,1	1,7	13	4,4	8,3
Alan Beyazı-G3	2n	10	21	1,2	0,3	4	2,6	2,4
Alan Beyazı-G4	4n	158	98	6,7	1,2	6	8,7	6,5

**Tablo 9.** Serada büyütülen somatik soğan bitkilerinin yaş hallerinin karakteristik özellikleri

Genotip	Bitki baş Ağırlık (g)	Bitki boy uzunluğu (cm)	Yaprak boyu (cm)	Yaprak eni (cm)	Yaprak sayısı	Baş boyu (cm)	Baş çapı (cm)
Yalova12-S1	218	71	5,6	1,5	9	5,5	7,2
Yalova12-S2	192	90	8,2	1,6	10	6,2	6,1
Delfos -S1	4	28	2,1	0,3	2	2,3	1,8
Delfos -S2	4	31	2,2	0,1	4	3,2	1,5
Delfos -S3	10	36	3	0,4	2	3,6	2,3
Delfos -S4	10	46	3,6	0,4	3	3,3	2,2
Delfos -S5	698	86	7,2	3,3	13	7,8	9,4
Delfos -S6	120	86	7,3	1,6	4	4,3	5,7
Delfos -S7	86	70	5,4	1,4	5	4,9	5,2
Delfos -S8	142	66	5,1	1,4	5	7,5	5,9
Alan Beyazı- S1	92	82	2,5	1,2	4	8,8	4,2
Alan Beyazı- S2	146	78	6,3	0,6	8	6	7,8
Pompei-S1	554	94	6,8	1,8	9	7,2	8,9
İstanbul Silivri- S1	48	-	-	-	-	8,7	4,5
İstanbul Silivri- S2	130	89	7,4	1,5	8	6	6,2
İstanbul Silivri- S3	58	65	4,8	0,4	6	6,4	4,4
İstanbul Silivri- S4	62	52	3,7	0,8	6	6,6	4,5
İstanbul Silivri- S5	106	74	5,8	1,1	8	6,8	5,2
İstanbul Silivri- S6	78	70	5,2	0,9	7	6,9	4,6

Soğanların içinde bulunan su miktarını, vitamin ve minerallerini kaybederek organik sülfür bileşiklerinin ve karbonhidrat oranını artmasının sağlanması için sera koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Yaklaşık bir ay boyunca kurumaları beklenmiştir. Kurutulan soğan başlarının bazı karakteristik özellikleri (boy, çap, renk gibi) kayıt edilmiştir (Tablo 10). Yaş hallerinin kurutulması esnasında hastalığa veya çevresel faktörlere maruz kalan soğan başları çürümüş ve ölmüşlerdir. Genotiplerin sahip olduğu baş rengi özelliklerinde herhangi bir açılım gözlenmemiştir. Ancak baş

şekillerinde değişimler gözlenmiştir. Önceki baş şekilleri basık yuvarlak şeklinde iken son verilerde bu durum yerini uzun, yuvarlak, topaç ve kalın basık şekillerine bırakmıştır. Bu durumda bitkinin gelişimini tam olarak sağlayamadığı düşünülmüştür.

Ginogenik bitkilerden elde edilen verilere göre Alan Beyazı-G2 yeşil ağırlığı (222 g) diğerlerine göre daha fazla olmasına rağmen en fazla su, mineral kaybeden bir genotip olmuştur. Alan Beyazı-G2 baş boyunun küçülmesi diğer genotiplere göre daha az (0,1 cm'lik azalma) olmuştur. Yalova 12-G2 genotipinde baş boyunda küçülme görülmemiş, baş çapı ise Yalova 12-G1, Alan Beyazı-G3 genotipi ile aynı miktarda (0,3 cm'lik azalma) küçülmüştür.

Somatik bitkilerde ise yeşil ağırlık bakımından en fazla ağırlığa sahip olan Delfos-S5 (yaş ağırlığı 698 g, kuru ağırlığı 390 g) genotipi diğerlerine oranla en fazla su ve mineral kaybetmiştir. Ancak diğer soğan başlarına oranla baş boyu (0,3 cm'lik küçülme) ve çapı (0,5 cm'lik küçülme) çok fazla küçülmemiştir. Ayrıca en az baş boyu küçülmesi (0,3 cm'lik) bu genotipte görülmektedir. En fazla baş boyu küçülmesi İstanbul Silivri-S1 (2,4 cm'lik küçülme) genotipinde olduğu gözlemlenmiştir. En az baş çapı küçülmesi Delfos-S2 (0,1 cm'lik) genotipinde ve en fazla baş çapı küçülmesi İstanbul Silivri-S2 (5,6 cm'lik) genotipinde olduğu gösterilmiştir.



**Şekil 7.** Serada büyütülmüş olan ginogenik soğan bitkileri. **A.** Delfos genotipinden elde edilen ginogenik bitki. **B.** Alan beyazından üretilmiş olan bir ginogenik bitki.

**Tablo 10.** Serada gelişim gösteren ginogenik ve somatik bitkilerin kuru hallerinin karakteristik özellikleri

<b>Genotip</b>	<b>Baş ağırlığı (g)</b>	<b>Baş boyu (cm)</b>	<b>Baş çapı (cm)</b>	<b>Baş rengi</b>	<b>Baş şekilleri</b>
<b>Ginogenik bitkiler</b>					
Yalova 12- G1	38	4,9	4,2	Sarı	Uzun
Yalova 12- G2	20	4,1	3,1	Sarı	Uzun
Yalova 12- G3	8	2,8	2,3	Sarı	Yuvarlak
Delfos- G2	94	5,6	5,5	Sarı	Yuvarlak
Alan Beyazı-G1	58	4,3	4,6	Beyaz	Uzun
Alan Beyazı-G2	54	4,3	6	Beyaz	Kalın Basık
Alan Beyazı-G3	6	2,1	2,1	Beyaz	Yuvarlak
<b>Somatik bitkiler</b>					
Yalova12-S2	66	4,8	5,5	Sarı	Yuvarlak
Delfos –S2	1	1,7	1,4	Sarı	Uzun
Delfos –S5	390	7,5	8,9	Sarı	Yuvarlak
İstanbul Silivri- S1	32	6,3	3,7	Beyaz	Topaç
İstanbul Silivri- S2	78	4,3	0,6	Beyaz	Topaç
İstanbul Silivri- S3	18	4,9	3,2	Beyaz	Yuvarlak

#### 4. TARTIŞMA

Çalışmada yer verilen soğan ve şalot genotiplerinin ginogenesis uyartımına verdikleri cevaplar arasında farklılıklar olduğu bulunmuştur. Yayınlanmış çalışmalarda soğan ve şalot materyallerinin ginogenesis uyartımlarına farklı cevaplar gösterdikleri rapor edilmiştir. Michalik ve diğ. (2000) soğan ginogenesisi çalışmasını 30 Polonya genotipinde ve farklı medyalar kullanarak yapmıştır. Bunlardan dokuz tanesi (% 30) ginogenesisine cevap vermemiş, 12'sinden (% 40) embriyo elde edilmiş, sekiz tanesi (% 27) bitkicik oluşturmuş ancak bunların % 3'ü bitki halini alabilmiştir. Kuzey Amerika çeşitleri (% 8- 22,6), Avrupa (% 1,7- 3,8) ya da Japonya (% 0,9- 4,4)' da elde edilenlerle karşılaştırıldığında daha yüksek ginogenesis uyartımına cevap verdiğini bildirilmiştir (Geoffriau ve diğ. 1997, Bohanec ve Jakse 1999, Jakse ve diğ. 2003). Buna ek olarak Fayos ve diğ. (2015) Amerikan çeşitlerinden OH-1 popülasyonlarında İspanyol germplazmlarından % 15 daha yüksek ginogenik verimliliği olduğu bulunmuştur. Avrupa çeşitleri arasında Kuzey Avrupa'dan gelenler güney ve doğu bölgelerinden daha yüksek verime sahiptir (Geoffriau ve diğ. 1997, Fayos ve diğ. 2015). Bu çalışma da ise soğan genotiplerinin ginogenesis uyartımına verdikleri cevap oranı % 0,6' dır. Bu oranın % 0,3' ü ginogenik bitkicik, % 0,2'si de ginogenik bitki oluşmuştur. Anandhan ve diğ. (2014) Hindistan'da 14 kısa gün soğan çeşitlerinde ginogenik haploid uyartım üzerinde çalışmışlardır. Ginogenik verimdeki farklılıklar, Bhima Shweta (% 0,9) en düşük ve Bhima Shubhra (% 4,5) en yüksek olduğu ve de Hindistan'da ki kısa gün bitkilerinde ginogenik potansiyeli Amerika'daki uzun gün bitkilerinden daha düşük olduğu bulunmuştur (Anandhan ve diğ. 2014). Türkiyeye adapte olmuş OP standart ve seleksiyon soğan materyalleri ile yapılan iki doktora tez çalışmasında ginogenik bitki üretiminin genotipten etkilendiği rapor edilmiştir (Kaska 2013, Yaralı 2014). Sulistyaningsih ve diğ. (2006) şalot genotipleri üzerinde yaptığı çalışmada Diliwhite genotiplerinden ginogenesis uyartımı için 3127 tomurcuğu kültüre almış ve 87 tane ginogenik bitkicik elde etmiştir. Fakat diğer genotiplerden yalnızca birer tane bitkicik elde edilmiştir. Bu yüzden Diliwhite genotipinin diğer şalot genotiplerine göre ginogenesis uyartımına cevap verme kabiliyetinin daha yüksek olduğunu bulmuştur (Sulistyaningsih ve diğ. 2006). Bu çalışmada kullanılan Şalot genotiplerinde ise ginogenesis uyartımı sonucu elde edilen ginogenik bitkicik ve ginogenik bitki oranlarının % 0,2 olduğu bulunmuştur. Soğan genotiplerinin ginogenesis uyartım oranları % 0 ve % 2 arasında değişim

göstermektedir. Şalot genotiplerin de ise % 1,1 ve % 0,07 oranında değişim göstermektedir. Bu çalışma da 3 mm'den büyük soğan ve şalot tomurcukları kültüre alınmıştır. Tomurcuk boyutlarının ginogenesis uyartımında büyük etkileri olduğu ve veriminide artırdığı bildirilmiştir (Alan 2003). Muren (1989), Campion ve Alloni (1990)'e göre antesisin hemen öncesinde olgun çiçek tomurcuklarının ginogenesis için iyi gelişmiş embriyo keselerini bulunduğunu göstermişlerdir. Buna ek olarak, Michalik ve diğ. (2000) soğandaki daha küçük (olgunlaşmamış) çiçek tomurcuklarının (2,8- 3,0 mm uzunluğunda) daha büyük (olgunlaşmış) olanlardan (3,5- 4,5 mm uzunluğunda) önemli ölçüde daha az embriyo elde edildiği gösterilmiştir. Alan ve diğ. (2004) orta büyüklükteki (3- 4,5 mm uzunluğunda) çiçek tomurcuklarının, soğandaki ginogenik haploidlerin üretilmesinde küçük (<3 mm uzunluğunda) ve büyük (>4,5 mm uzunluğunda) olan tomurcuklardan daha iyi sonuçlar verdiğini bulmuşlardır. Daha büyük çiçek tomurcukları (>3 mm uzunluğunda), kısa sürede antesise ulaşmaları ve büyük olasılıkla tamamen gelişmiş embriyo keselerini içermelerinden dolayı ginogenik haploidlerin üretilmesinde daha etkili olabileceğini bildirmişlerdir (Campion ve Alloni 1990, Alan ve diğ. 2004).

Çalışmada kullanılan soğan genotiplerinden seleksiyon materyali olan Alan Beyazı, ginogenesis uyartımına en yüksek sayıda cevap veren donördür. Bu donörden elde edilen ginogenik bitkiciklerde bitkiye dönüşüm miktarıda en yüksek seviyede gözlemlenmiştir. Ancak ginogenesis uyartımına cevap verme oranlarına bakıldığı zaman Southport 404 genotipinin ginogenesisise daha fazla cevap verme oranına sahip olduğu görülmüştür. Standart çeşit olmasına rağmen ginogenesis uyartımına cevap vermeyen genotip ise White Lisbon genotipi olduğu bulunmuştur. Bu genotipten cevap gelmemesinin sebebi bitkinin antesis oluşum zamanının geçmesi ya da iklim koşullarının bitkiyi olumsuz etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Standart çeşitler arasından Delfos, ginogenesis uyartımına yüksek miktarda cevap veren ikinci bir genotip olduğu bulunmuştur. Şalotta ise şalot 1 ve şalot 3 genotiplerinde ikişer tomurcuktan ginogenesis cevabı alınmıştır. Şalot 1 genotipinden iki Şalot 3 genotipinden üç adet ginogenik bitki üretilmiştir. Şalot 2 genotipinde cevap veren bir tomurcuktan bir adet bitki üretilmiştir. Elde edilen bulgular çalışmada kullanılan şalot genotiplerinin ginogenesis uyartımına cevap verdiklerini ve bu materyallerden haploid ve DH bitkilerin üretiminin sağlanabildiğini göstermiştir.



Bitkilerde ploidi seviyelerini belirlemek için kromozom sayımı (Martinez diğ. 2000, Foschi ve diğ. 2013, Anandhan ve diğ. 2014, Mathapati ve diğ. 2018), stoma özellikleri (Ye ve diğ. 2010, Ochatt ve diğ. 2011) ve FCM analizi (Bohanec ve diğ. 1995, Jakse ve diğ. 1996, Geoffriau ve diğ. 1997, Bohanec ve Jakse 1999, Grzebelus ve Adamus 2004, Alan ve diğ. 2004-2007, Jakse ve diğ. 2010, Kaska 2013, Anandhan ve diğ. 2014) gibi analizler çeşitleri kullanılmıştır. Bu çalışma da ise ginogenesis uyartımına gelen cevapların sonucunda bitkilerin ploidi seviyelerinin belirlenmesi için güvenilir ve hızlı bir yöntem olan FCM analizi kullanılmıştır. Alan beyazı ve Delfos genotiplerinden çok sayıda bitki test edilmiştir. Haploid bitki üretim oranları sırasıyla % 50 ve % 63,8'dir. Alan ve diğ. (2003) yapılan çalışmasında *Allium roylei* ve *Allium cepa*'nin melezlerinden ginogenik bitkilerin üretiminde çoğu ginogenik *A. cepa* bitkisinin (% 86) haploid, % 9'unun ise spontan olarak diploid olduğunu gösterilmiştir. Buna karşılık, *A. roylei* türevli bitkilerden elde edilen ginogenik bitkilerin % 77'si spontan diploidlerdi. Ebrahimi ve diğ. (2009) ginogenesis çalışmalarında poliaminlerin İran soğan çeşitlerindeki ginogenesis etkisini araştırmışlardır. Besiyerinde 0.01 mM BA, 0.01 mM 2,4-D, 2 mM putresin ve 0.1 mM spermidin ile oluşturulan kültürlerden fazla sayıda ginogenik bitkiler üretmişlerdir. Plodi seviyelerine bakıldığında bitkilerin yaklaşık % 73.6'sı haploid olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, poliaminler soğan ginogenesis çalışmalarında kullanılabileceğini sunmuşlardır. Bunların yanısıra bu çalışma da tetraploid bitki oluşumu yalnızca Alan Beyazı genotipinden geldiği gözlemlenmiştir. PAU5 Beyaz genotipinden haploid bitki elde edilememiştir ancak miksoploid ( $n+2n$ ) bitki elde edilmiştir. En az haploid bitki eldesi İstanbul Silivri Beyaz genotipine ait olup bir tane elde edilebilmiştir. Bu çalışma da toplam 59 (% 55,6) tanesinden haploid bitki elde edilebilmiştir. Şalot genotiplerinde toplamda dört ginogenik bitkicik test edilmiştir. Bunların % 50'si haploid, % 25 miksoploid ( $n+2n$ ) ve % 25'i diploittir.

Ginogenesis uyartımına cevap veren soğan tomurcuklarından elde edilen bitkiciklerin ~%60'ı gelişime devam ederek bitki haline dönüşürken geri kalanlar (~%40) anormal gelişim göstermişlerdir. Bu araştırma da gelişmeyen bitkiciklerin FCM analizi yapılmıştır. Toplam gelişmeyen bitkicikler 97 tanedir. Bunların 41 tanesi Alan Beyazı genotipinden geldiği ve % 39'u haploid, % 51,2'sinin diploid, geriye kalanların hepsi miksoploid oluşturduğu gözlemlenmiştir. Alan beyazı ve Delfos genotipleri ginogenesis çok iyi cevap vermesinin yanısıra gelişmeyen bitkicik

miktarlarının da fazla olduğu bulunmuştur. Delfos genotipinde % 20'si haploid, % 60'ının diploid olduğu gözlemlenmiştir. Diğer genotiplerde de diploid bitkicik sayısının haploid bitkicik sayılarından fazla olduğu gösterilmiştir. Toplam da % 30,9' haploid, % 10,3'ü miksoploid ( $n+2n$ ), % 51,5'i diploid, % 4,1'i miksoploid ( $2n+4n$ ) ve % 3'ü tetraploid olduğu gözlemlenmiştir. Bunun sonucunda gelişmeyen bitkiciklerin ploidi düzeylerinden kaynaklanmadığı bulunmuştur. Gelişmediklerinin sebepleri arasında besiyeri içindeki kimyasallardan kaynaklandığı veya genetik kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Saksıya aktarılan ginogenik bitkilerin ve somatik bitkilerin karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre tüm soğan genotiplerinde bir adet baş oluşumu görülmüş ve baş renklerinde herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Fakat baş şekillerinde farklılıklar olduğu bulunmuştur. Bu durumda bitkinin gelişimini tamamlayamamış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca ginogenik bitkilerin sahip olduğu genetik materyaldeki resesif özellikleri bulundurmasından dolayı da bitkinin gelişiminin sınırlandırılmış olacağı düşünülmektedir.

Haploid soğan bitkilerinin diploitlere göre daha yavaş geliştiği ve dış ortama alıştırmaları sırasında daha fazla dikkat gerektirdiği görülmüştür. Yalova 12, Alan beyazı ve Delfos genotiplerinde üretilen ginogenik bitkiler gelişerek baş oluşturmuşlardır. Yaprak oluşturma sayıları göz önüne alındığında ise Alan beyazı genotipleri diğerlerine göre daha fazla yaprak oluşturma kabiliyeti göstermiştir. Yaş ağırlığı bakımından Delfos-G2 (170 g) ve Alan beyazı-G2 (222 g) genotiplerinin en yüksek yaş ağırlığa sahip olduğu gözlemlenmiştir. Alan beyazı- G2 genotipinin genetik olarak iyi özellikleri bulundurduğu ancak gelişimini sınırlandıran genleride içerisinde bulundurduğu düşünülmüştür.

Kompleks bir genetik temeli olan ginogenesis uyartım cevabının genotipin F1 hibrit, OP standart veya ıslah materyali olması ile direkt olarak bağlantılı olmadığı belirtilmiştir (Geoffriau ve diğ. 1997, Bohanec ve diğ. 2003, Alan ve diğ. 2004). Bununla beraber bazı OP soğan ve şalot genotiplerinin ginogenesisise yüksek oranda cevap verdikleri bilinmektedir (Cohat 1994). Islah edilmeye çalışılan soğan ve şalot materyallerinde haploid bitki üretimi açısından genetik yatkınlığın olması ginogenesis tekniğinin yeni çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılması açısından önemli bir avantaj

sağlayabilir. Çok sayıda DH bitkinin üretilmesi farklı özellikleri açısında ön plana çıkan ve genetik olarak tamamen saf bitkilerin elde edilmesinin önünü açabilir. Bu sayede farklı F1 hibrit çeşitlerin üretilmesi için çok sayıda ebeveyn adayı geliştirilebilir. Ülkemizde yetiştirilen soğan ve şalot genotiplerinin ıslah programlarında kullanımı için değerlendirilmeleri sırasında eldeki materyallerin ginogenesis gösterdikleri cevabın bilinmesi ıslah çalışmalarının başarısı açısından büyük avantajlar sağlayabilir.

## 5. KAYNAKLAR

Alan, A. R., Mutschler, M. A., Brants, A., Cobb, E. D. and Earle, E. D., "Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. roylei* Stearn", *Plant Sci.* 165 (6), 1201-1211, (2003).

Alan, A. R., Brants, A., Cobb, E. D., Goldschmied, P. A., Mutschler, M. A. and Earle, E. D., "Fecund gynogenic lines from onion (*Allium cepa* L.) breeding materials", *Plant Sci.* 167(5), 1055-1066, (2004).

Alan, A. R., Lim, W., Mutschler, M. A. and Earle, E. D., "Complementary strategies for ploidy manipulations in gynogenic onion (*Allium cepa* L.)", *Plant Sci.* 173(1), 25-31, (2007).

Anandhan, S., Chavan, A. A., Gopal, J., Mote, S. R., Shelke, P. V. and Lawande, K. E., "Variation in gynogenic potential for haploid induction in Indian short-day onions", *Indian J Genet*, 74, 526-528, (2014).

Arumuganathan, K. and Earle, E. D., "Nuclear DNA content of some important plant species", *Plant molecular biology reporter*, 9(3), 208-218, (1991).

Aswath, C. R., Mo, S. Y., Kim, D. H. and Park, S. W., "Agrobacterium and biolistic transformation of onion using non-antibiotic selection marker phosphomannose isomerase", *Plant cell rep.* 25(2), 92-99, (2006).

Bijl, J. R., "Allium—flowering onions", *Herbertia*, 50, 88-94, (1994).

Bohanec, B., Jakše, M., Ihan, A., and Javornik, B., "Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants", *Plant Sci.* 104(2), 215-224, (1995).

Bohanec, B. and Jakše, M., "Variations in gynogenic response among long-day onion (*Allium cepa* L.) accessions", *Plant Cell Rep.* 18 (9), 737-742, (1999).

Bohanec, B., Jakše, M. and Havey, M. J., "Genetic analyses of gynogenetic haploid production in onion", *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128, 571–574, (2003).

Bong, B. B. and Swaminathan, M. S., "Magnitude of hybrid vigor retained in double haploid lines of some heterotic rice hybrids", *TAG*, 90(2), 253-257, (1995).

Breu, W., "Allium cepa L. (onion) Part 1: Chemistry and analysis", *Phytomedicine*, 3 (3), 293-306, (1996).

Brewster, J. L., "Onions and other vegetable alliums", (Vol. 15). CABI, (2008).

Buiteveld, J., Suo, Y., Campagne, M. L. and Creemers-Molenaar, J., “Production and characterization of somatic hybrid plants between leek (*Allium ampeloprasum* L.) and onion (*Allium cepa* L.)”, *TAG*, 96 (6-7), 765-775, (1998).

Campion, B. and Alloni, C., “Induction of haploid plants in onion (*Allium cepa* L.) by in vitro culture of unpollinated ovules”, *PCTOC*, 20 (1), 1-6, (1990).

Cohat, J., “Obtention chez l'échalote (*Allium cepa* L. var *aggregatum*) de plantes haploïdes gynogénétiques par culture in vitro de boutons floraux”, *Agronomie* 14 299–304 (1994) .

Currah, L. and Proctor, F. J., “*Onions in tropical regions*”, (No. 35), (1990).

Currah, L., “16 Onions in the Tropics: Cultivars and Country Reports”, *Allium crop science: recent advances*, 2 (17.66), 379, (2002).

Dommissse, E. M., Leung, D. W., Shaw, M. L. and Conner, A. J., “Onion is a monocotyledonous host for *Agrobacterium*”, *Plant Sci.* 69 (2), 249-257, (1990).

Dunstan, D. I. and Short, K. C., “Improved growth of tissue cultures of the onion, *Allium cepa*”, *Physiol. Plant.* 41 (1), 70-72, (1977).

Dunstan, D. I. and Short, K. C., “Shoot production from onion callus tissue cultures”, *Sci. Hort.* 9 (2), 99-110, (1978).

Dunstan, D. I. and Short, K. C., “Shoot production from the flower head of *Allium cepa* L”, *Sci. Hort.* 10 (4), 345-356, (1979).

Dunwell, J. M., “Haploids in flowering plants: origins and exploitation”, *Plant Biotechnol. J.* 8, 377-424, (2010).

Eady, C. C., Weld, R. J. and Lister, C. E., “*Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation and transgenic-plant regeneration of onion (*Allium cepa* L.)”, *Plant cell rep.* 19(4), 376-381, (2000).

Ebrahimi, R. and Zamani, Z., “Effect of polyamines on in vitro gynogenesis of onion (*Allium cepa* L.)”, *Am Eurasian J Sustain Agric*, 3, 71-74, (2009).

Fayos, O., Vallés, M. P., Garcés-Claver, A., Mallor, C. and Castillo, A. M., “Doubled haploid production from Spanish onion (*Allium cepa* L.) germplasm: embryogenesis induction, plant regeneration and chromosome doubling”, *Front. plant sci.* 6, 384, (2015).

- Fenwick, G. R., Hanley, A. B. and Whitaker, J. R., “The genus *Allium*—part 1”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 22 (3), 199-271, (1985).
- Foschi, M. L., Martínez, L. E., Ponce, M., Galmarini, C. R. and Bohanec, B., “Effect of colchicine and amiprofos-methyl on the production of *in vitro* doubled haploid onion plants and correlation assessment between ploidy level and stomatal size Universidad Nacional de Cuyo”, *FCA*, (2013).
- Fritsch, R. M. and Friesen, N., “Evolution, domestication and taxonomy”, *Allium crop science: recent advances*, 5-30, (2002).
- Fujieda, K., Matsuoka, N. and Fujita, Y., “Vegetative multiplication of onion, *Allium cepa* L., through tissue culture”, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 48 (2), 186-194, (1979).
- Geoffriau, E., Kahane, R. and Rancillac, M., “Variation of gynogenesis ability in onion (*Allium cepa* L.)”, *Euphytica*, 94 (1), 37-44, (1997).
- Grzebelus, E. and Adamus, A., “Effect of anti-mitotic agents on development and genome doubling of gynogenic onion (*Allium cepa* L.) embryos”, *Plant sci.* 167 (3), 569-574, (2004).
- Hanelt, P., “Taxonomy, evolution and history in onions and allied crops”, Vol I. *ISTC*, (Eds HD Rabinowitch, JL Brewster) pp. 1–26, (1990).
- Hansen, E. E., Hubstenberger, J. F. and Phillips, G. C., “Regeneration of shoots from cell suspension-derived protoplasts of *Allium cepa*”, *Plant cell rep.* 15 (1-2), 8-11, (1995).
- Hussey, G., “In vitro propagation of the onion *Allium cepa* by axillary and adventitious shoot proliferation”, *Sci. Hort.* 9 (3), 227-236, (1978).
- Hyde, P. T., Earle, E. D. and Mutschler, M. A., “Doubled haploid onion (*Allium cepa* L.) lines and their impact on hybrid performance”, *HortSci.* 47 (12), 1690-1695, (2012).
- Jakše, M., Bohanec, B. and Ihan, A., “Effect of media components on the gynogenic regeneration of onion (*Allium cepa* L.) cultivars and analysis of regenerants”, *Plant cell rep.* 15 (12), 934-938, (1996).
- Jakše, M., Havey, M. J. and Bohanec, B., “Chromosome doubling procedures of onion (*Allium cepa* L.) gynogenic embryos”, *Plant cell rep.* 21 (9), 905-910, (2003).
- Jakše, M., Hirschegger, P., Bohanec, B. and Havey, M. J., “Evaluation of gynogenic responsiveness and pollen viability of selfed doubled haploid onion lines

and chromosome doubling via somatic regeneration”, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 135 (1), 67-73, (2010).

Jo, J., Purushotham, P. M., Han, K., Lee, H. R., Nah, G. and Kang, B. C., “Development of a genetic map for onion (*Allium cepa* L.) using reference-free genotyping-by-sequencing and SNP assays”, *Front. Plant Sci.* 8-1606, (2017).

Jones, H. A. and Mann, L. K., “Onions and their allies”, *Soil Science*, July 1964 - Volume 98 - Issue 1 - ppg 68, (1963).

Kamenetsky, R. and Fritsch, R. M., “19 Ornamental *Alliums*”, *Allium crop science: recent advances*, 459, (2002).

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(3), 241-247, (1990).

Keller, E. J., and Korzun, L., “Haploidy in onion (*Allium cepa* L.) and other *Allium species*”, *In vitro haploid production in higher plants* (pp. 51-75). Springer, Dordrecht, (1996).

Luthar, Z. and Bohanec, B., “Induction of direct somatic organogenesis in onion (*Allium cepa* L.) using a two-step flower or ovary culture”, *Plant cell rep.* 18 (10), 797-802, (1999).

Maluszynski, M., Kasha, K. J. and Szarejko, I., “Published doubled haploid protocols in plant species”, *In Doubled haploid production in crop plants* (pp. 309-335). Springer, Dordrecht, (2003).

Martinez, L. E., Agüero, C. B., López, M. E. and Galmarini, C. R., “Improvement of *in vitro* gynogenesis induction in onion (*Allium cepa* L.) using polyamines”, *Plant Sci.* 156 (2), 221-226, (2000).

Mathapati, G. B., Kalia, P., Islam, S., Saini, N., Kumar, A. and Khar, A., “Influence of Culture Media and Their Compositions on Haploid Induction in Indian Short Day Onion”, *PNAS*, 89 (2), 739-746, (2018).

Michalik, B., Adamus, A. and Nowak, E., “Gynogenesis in Polish onion cultivars”, *J. plant physiology*, 156 (2), 211-216, (2000).

- Muren, R. C., “Haploid plant induction from unpollinated ovaries in onion”, *HortSci.* 24, 833–834, (1989).
- Musial, K., Bohanec, B. and Przywara, L., “Embryological study on gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.)”, *Sexual Plant Reproduction*, 13 (6), 335-341, (2001).
- Novak, F. J., Havel, L. and Dolezel, J., “*Allium* In: Evans D, Sharp W & Ammirato P (eds) Handbook of Plant Cell Culture”, *Techniques and Applications*, Vol 4 (pp 419-456), (1986).
- Ochatt, S. J., Patat-Ochatt, E. M. and Moessner, A., “Ploidy level determination within the context of in vitro breeding”, *PCTOC*, 104 (3), 329-341, (2011).
- Pike, L. M. and Yoo, K. S., “A tissue culture technique for the clonal propagation of onion using immature flower buds”, *Sci. Hort.* 45 (1-2), 31-36, (1990).
- Phillips, G. C. and Luteyn, K. J., “Effects of picloram and other auxins on onion tissue cultures”, v.108(6):948-953, *Amer. Soci. Hort. Sci.* (1983).
- Phillips, G. C. and Hubstenberger, J. F., “Plant regeneration in vitro of selected *Allium species* and interspecific hybrids”, v.22(1):124-125, *Hortsci.*, (1987).
- Rabinowitch, H. D. and Kamenetsky, R., “17 Shallot (*Allium cepa*, *Aggregatum* Group)”, *Allium crop science: recent advances*, 409, (2002).
- Roeber, F. K., Gordillo, G. A. and Geiger, H. H., “In vivo haploid induction in maize. Performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding [*Zea mays* L.]”, *Maydica (Italy)*, (2005).
- Shahin, E. A. and Kaneko, K., “Somatic embryogenesis and plant regeneration from callus cultures of nonbulbing onions”, v.21(2):294-295, *Hortsci.* (1986).
- Sulistyaningsih, E., Aoyagi, Y. and Tashiro, Y., “Flower bud culture of shallot (*Allium cepa* L. *aggregatum* group) with cytogenetic analysis of resulting gynogenic plants and somaclones”, *PCTOC*, 86 (2), 249-255, (2006).
- Yaralı, F., “Soğan (*Allium cepa* L.) ve Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* (Kollman) Özhatay, Matthew, Şiraneci)’nda ovaryum ve çiçek tomurcuğu kültürü yoluyla haploid bitki elde etme olanaklarının araştırılması”, Doktora, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (2014).
- Ye, Y. M., Tong, J., Shi, X. P., Yuan, W. and Li, G. R., “Morphological and cytological studies of diploid and colchicine-induced tetraploid lines of crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.)”, *Sci. Hort.*, 124 (1), 95-101, (2010).



Van der Valk, P., Scholten, O. E., Verstappen, F., Jansen, R. C. and Dons, J. J. M., "High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo-derived callus cultures of three *Allium* species", *PCTOC*, 30:181-191, (1992).

Zheng, S. J., Khrustaleva, L., Henken, B., Sofiari, E., Jacobsen, E., Kik, C. and Krens, F. A., "*Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Allium cepa* L.: the production of transgenic onions and shallots", *Molecular breeding*, 7 (2), 101-115, (2001).

## 6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fatma DÜZGÜN  
Doğum Yeri ve Tarihi : EREĞLİ- 14.09.1995  
Lisans Üniversite : Erzurum Teknik Üniversitesi  
Elektronik posta : ftmdzgn1995@gmail.com  
İletişim Adresi : Hıdırlı Mah. Mustafa Seyran Cad. Toros Kent  
Sitesi A1 Blok No: 12 Ereğli/ KONYA

### YAYINLAR:

• Alan, S., Duzgun, F., Kaska, A., Celebi-Toprak, F., Alan, A.R.,  
Production of Chinese chive (*Allium tuberosum*) as potted herb. *Acta Horti*,  
1251, 135-138, (2019).

### POSTERLER:

- Alan, S., Celebi-Toprak, F., Kaska, A., Kocabas, C., Kocakaya, V.,  
Duzgun, F., Alan, A.R., “Responses of Chive (*Allium schoenoprasum*)  
and Japanese Leek (*A. fistulosum*) to Gynogenesis Induction”, Yayın  
Yeri: 30. *International Horticultural Congress* , (12-16.08.2018).
- Alan, S., Duzgun, F., Kaska, A., Celebi-Toprak, F., Alan, A.R.,  
“Production of Chinese chive (*Allium tuberosum*) as potted herb”.  
Yayın Yeri: 30. *International Horticultural Congress* , (12-  
16.08.2018).
- Alan, A.R., Duzgun, F., Barıs, S., Celebi-Toprak, F., “Gynogenesis  
Responses of Onion (*Allium cepa* L.) Genotypes Adapted to Turkey”,  
The joint NOA/NARC/IARS Conference in Madison WI USA, (July  
24-27,2019).

### SUNDUĞU SEMİNER:

- Düzgün, F., “Uyartılmış ve Doğal Haploidler”, Pamukkale Üniversitesi, Yüksek lisans semineri, (2018).