

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Leyli AMİNİ

**BAZI SIKLAMEN TÜRLEİNDE (*C. cilicium*, *C. persicum* ve *C. hederifolium*)
ANTER VE OVÜL KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİNİN EMBRİYO
UYARTIMINA ETKİLERİ**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2014

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI SIKLAMEN TÜRLERİNDE (*C. cilicium*, *C. persicum* ve *C. hederifolium*)
ANTER VE OVÜL KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİNİN EMBRİYO
UYARTIMINA ETKİLERİ**

Leyli AMİNİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez / /2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

..... Prof. Dr. N.Yeşim YALÇIN MENDİ DANIŞMAN	 Prof. Dr. Nebahat SARI ÜYE	 Yrd. Doç. Dr. Esin ARI ÜYE
---	--	--

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: ZF2013YL38**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI SIKLAMEN TÜRLERİNDE (*C. cilicium*, *C. persicum* ve *C. hederifolium*) ANTER VE OVÜL KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİNİN EMBRİYO UYARTIMINA ETKİLERİ

Leyli AMİNİ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. N.Yeşim YALÇIN MENDİ
Yıl : 2014, Sayfa : 57
Jüri : Prof. Dr. N.Yeşim YALÇIN MENDİ
: Prof. Dr. Nebahat SARI
: Yrd. Doç. Dr. Esin ARI

Bu çalışma kapsamında, Türkiye’de doğal olarak yetişen bazı sıklamen türlerinde (*Cyclamen cilicium*, *Cyclamen persicum* ve *Cyclamen hederifolium*) anter ve ovül kültürü yöntemlerinin embriyo uyartımına etkileri araştırılmıştır. Anter ve ovüller anthesisten 2,3 gün önce toplanmışlardır. Denemede bitki büyüme düzenleyicileri olarak 2 İP (0.8 mg L⁻¹) ve 2,4-D (2 mg L⁻¹)’nin kombinasyonunu içeren ½ MS besiyeri kullanılmış, bitkilerin *in vitro*’da gelişim ve farklılaşmaları gözlenmiştir. Karbon kaynağı olarak ovül kültüründe 30 g l⁻¹ ve anter kültüründe ise 90 g l⁻¹ sakkaroz kullanılmıştır. Anterler ortama aktarıldıktan sonra karanlıkta 2 gün 5 °C’de bekletilmişlerdir. Daha sonra petrilere aktarılmış olan ovüller ve anterler ise ön uygulamaları bittikten sonra tamamen karanlık ortamda 25 °C’de, 8 hafta süre ile bekletilmişlerdir. İki eksplant tipi de, 30 g l⁻¹ sakkaroz içeren hormonsuz ortama aktarılmış ve çalışma sonucunda her üç türün eksplantlarının kallusa dönüşüm oranı, embriyojenik kallusların gelişim oranları, embriyojenik kallusların embriyoya dönüşüm oranı ve embriyo aşamaları incelenmiştir. En yüksek embriyo oluşumu *C. cilicium* anter eksplantında gözlenirken, *C. hederifolium* ovüllerinden herhangi bir embriyo oluşumu gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Sıklamen, Anter kültürü, Ovül kültürü, Embriyojenik kallus, Embriyo

ABSTRACT

MSc.THESIS

EFFECT OF THE ANTHOR AND OVULE CULTURE METHODS ON EMBRYO EXCITATION IN SOME OF CYCLAMEN SPECIES (*C. cilicium*, *C. persicum* and *C. hederifolium*)

Leyli AMINI

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. N.Yeşim Yalın MENDİ
Year: 2014, Pages: 57
Jury : Prof. Dr.N.Yeşim YALIN MENDİ
: Prof. Dr. Nebahat SARI
: Asst. Prof. Dr. Esin ARI

The objective of this study was to obtain haploid embriyos from Cyclamen species which are cultivated and grown naturally in Turkey (*Cyclamen cilicium*, *Cyclamen persicum* and *Cyclamen hederifolium*) by using anther and ovüle culture technique. The unfertilized anther and ovüles were collected 2 or 3 days before anthesis. ½ MS medium were used containing 0.8 mg L⁻¹ and 2 mg L⁻¹ 2,4 D plant growth combination in the experiment. As the carbon source sucrose was used 30 mg L⁻¹ in ovüle culture and 90 mg L⁻¹ in anther culture. Anthers treated in the dark at 5 °C' for 2 days after transferring to the culture, then both anthers and ovüles kept in the dark at 25 °C for 8 weeks. The embryoids transferred to the MS medium containing 3% sucrose. As a result, conversion ratio of explants to the callus, conversion ratio of embryogenic callus to embryo, investigation of embryo stages were investigated for all *Cyclamen* species that used in this experiment. The most embryos formation was seen in anthers of *C. cilicium*, however any embryo formed in ovüles of *C. hederifolium*

Keywords: *Cyclamen*, Anther culture, Ovüle culture, Embriyogenic callus, Embriyo

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen ve bana daima yol gösteren, sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN-MENDİ'ye sonsuz teşekkürlerimi arz ederim.

Düşünceleri ve fikirleri ile çalışmalarına yön veren Sayın Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU ve ayrıca değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nebahat SARI ve Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a da teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezim süresince laboratuvarımda bana destek olan, hep yol gösteren, yardım ve tecrübelerini esirgemeyen Biyolog Tolga İZGÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

İstatistiksel analizlerimde bana yardımcı olan Biyolog Özhan ŞİMŞEK'e minnetlerimi sunarım.

Çalışma esnasında bana yardımcı olan laboratuvar arkadaşlarım Biyolog Gamze ŞEKER, Biyolog Başar SEVİNDİK, Biyolog Taner BOZKURT, Dr. Pembe EVCİ ÇÜRÜK ve Ehsan TAGIPUR'a teşekkür ederim.

Ç.Ü. Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi ekibinden Ziraat Yüksek Mühendisi Belgin TURUNÇ BİÇEN, Seren SALAZ ve diğer tüm arkadaşlara sonsuz sevgilerimi ve minnetlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, ilk başta hayatımın anlamı annem Mahin HATEMİFER, babam Ali AMİNİ ve ablam Parisa AMİNİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Değerli arkadaşlarım Dr. Işıl TAŞ, Atilla ÇATAL, Mojgan ZARİFİ, Yüksek Peyzaj Mimarı Fizyon SÖNMEZ ve Dr. Akif ERDOĞAN'a her zaman yanımda oldukları ve beni destekledikleri için sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
2.1. Somatik Embriyogenesis Yöntemi ile İlgili Çalışmalar.....	11
2.2. Androgenesis ve Gynogenesis ile İlgili Çalışmalar.....	13
3. MATERYAL VE METOD.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Kullanılacak Bitki Materyallerinin Özellikleri.....	18
3.1.1.1. Cyclamen cilicium Boiss & Heldr.....	18
3.1.1.2. Cyclamen hederifolium Aiton.....	18
3.1.1.3. Cyclamen persicum Miller.....	19
3.2. Metod.....	20
3.2.1. Uygun Tomurcuk Büyüklüğünün Tespiti.....	20
3.2.1.1. Asetokarmin ile Boyama.....	21
3.2.1.2. Asetokarminin Hazırlanması.....	21
3.2.2. Uygun Çiçeklerin Toplanması.....	22
3.2.3. Çiçeklerin Yüzey Sterilizasyonu.....	22
3.2.4. Anter ve Ovüllerin Ortama Aktarılımları.....	24
3.2.5. Kallus Geliştirme Kültürü.....	25
3.2.5.1. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları.....	25
3.2.5.2. Anterlere Ön Uygulama.....	26
3.2.6. Farklılaşma ve Embriyoların Çimlenmesi.....	26
3.2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler.....	28

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	29
4.1. Uygun Tomurcuk Büyüklüğünün Tespiti.....	29
4.2. Çiçeklerin Yüzey Sterilizasyonu.....	29
4.3. Kallus Gelişimi.....	30
4.4. Embriyojenik Kallus ve Embriyonun Gelişimi.....	35
4.5. Embriyo Oluşumu.....	38
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Besi ortamların içeriği.....	27
Çizelge 4.1. Eksplantlardan oluşan kallus gelişim oranı.....	31
Çizelge 4.2. Türlerden oluşan kallus gelişim oranı.....	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Türkiye’de Cyclamen türlerinin yayılış alanları.....	3
Şekil 1.2.	C. persicum’un bitki yapısı, A) doğadaki görünümü, B)tohumlar, C) meyveler, D) yaprak ve yumru’nun görünümü.....	6
Şekil 3.1.	Cyclamen persicum’un seradaki görünümü.....	17
Şekil 3.2.	Cyclamen cilicium’un seradaki çiçek ve tomurcuklarının görünümü	18
Şekil 3.3.	Cylamen hederifolium’un çiçek yapısının görünümü.....	19
Şekil 3.4.	Cyclamen persicum’un çiçek ve tomurcukları.....	20
Şekil 3.5.	C. persicum türüne ait farklı büyüklükteki çiçek tomurcuklarının görünümü	21
Şekil 3.6.	Eksplantların görünümü, A) anter, B) ovül.....	22
Şekil 3.7.	Sterilizasyon aşama, A) Çiçeklerin çeşme suyu altında bekletilmesi, B) Her saksıya ait çiçeklerin sterilizasyon aşamalarını gerçekleştirmek için falkonlara aktarılması, C) % 70’lik alkol uygulamasından sonra steril saf su ile yıkanması, D) % 20’lik NaOCl uygulamasından sonra yıkama işlemi, E) Çiçeklerin kültüre alınıncaya kadar steril saf su da bekletilmesi f) Çiçeklerin anter ve ovüllerinin izole edilmesinden önceki aşamada kurutma kağıdı üzerinde fazla suyunun alınması..	23
Şekil 3.8.	Anterlerin izole edilmesi, A) Taç yapraklarının kesilmesi, B) Anterlerin toplu halde görünümü, C) Serbest bırakılan anterlerin görünümü, D) Flamentleri çıkarılmış anterlerin görünümü.....	24
Şekil 3.9.	A) Yumurtalığın görünümü, B) Ovüllerin toplu görünümü.....	25
Şekil 4.1.	Tek çekirdekli mikrosporlara sahip uygun aşamadaki anterlerin görünümü, A) 3.50 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı, B) 5.70 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı, C) 7.90 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı, D) 12.20 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı.....	29

Şekil 4.2.	C. persicum'un ovul eksplantından gelişmiş olan embriyojenik olan ve olmayan kallus yapıları, A) ovullerin ortama aktarılmadan önceki toplu görünümü, B) iki ay sonra gelişmiş olan kallus yapısı, C, D, E) farklı boyutlardaki kallus gelişimleri, F,G) embriyojenik yapılar, H,I) embriyojenik kallus üzerinde gelişmiş olan embriyoid yapılar.....	32
Şekil 4.3.	C. persicum anterlerinden oluşan kallus yapıları, A) anter eksplantı, B) anterden oluşan kallus yapısı, C) Embriyojenik kallus yapısının gelişimi.....	33
Şekil 4.4.	C. hederifolium'un anterlerinden gelişen embriyojenik olan ve olmayan yapılar, A) anterden gelişen kallus yapısı, B) embriyoide benzer yapılar, C) farklı anter eksplantından gelişen kallus yapısı D) embriyoid olmayan yapılar.....	33
Şekil 4.5.	C. hederifolium'un ovullerinden kallus gelişimi, A) ovul eksplantının ortama aktarıldıktan sonraki hacimsel olarak büyümesi, B) gelişmiş olan kallus yapısı, C) farklılaşmış olan kallus yapısı, D) gelişmiş olan embriyojenik yapılar, E) embriyojenik yapıların yakın görünümü, F) embriyojenik olmayan yapılar.....	34
Şekil 4.6.	Eksplantlardan oluşan kallus oranları.....	35
Şekil 4.7.	C. cilicium anterlerinde embriyojenik kallus gelişimleri, A) kallus yapısının embriyojenik yapılara dönüşümü, B) yumuşak ve dağılgan embriyojenik kallus yapısı, C) kırılğan ve şeffaf kallus yapısı, D) gelişmekte olan embriyojenik yapılar	36
Şekil 4.8.	C. cilicium'un ovul eksplantından embriyojenik yapıların gelişimi, A) kırılğan ve şeffaf yapıdaki kallus yapısı, B) farklılaşan yapılar, C) gelişmekte olan embriyojenik kallus yapısı, D) farklılaşmış embriyojenik yapılardan gelişmekte olan embriyoid yapıların görünümü.....	36
Şekil 4.9.	Embriyojenik yapıların gelişme oranları.....	37

Şekil 4.10. <i>C. persicum</i> ovullerinde gelişen embriyolar, A,B) embriyo yapıları, C) embriyoların kalp safhası, D) embriyoların kotiledon safhası, E,F) embriyoların toplu halde görünümü.....	38
Şekil 4.11. <i>C. persicum</i> anterlerinde farklılaşma ve embriyoların çimlenmesi, A) embriyoların toplu halde görünümü, B) embriyoid yapılar, C) kalp safhasında embriyo, E) kotiledon safhasında embriyo, D,F) farklı embriyo yapıları, G) embriyolardan gelişmiş olan sürgün yapıları, H,I) embriyolardan gelişmiş olan yumrular.....	39
Şekil 4.12. <i>C. cilicium</i> 'un anterlerinden gelişmiş embriyolar, A,B,G) embriyoların toplu halde görünümü, C) embriyonun globuler ve torpedo safhası, D,F,H) embriyoların kalp safhası, I) embriyoların kotiledon safhası.....	40
Şekil 4.13. <i>C. cilicium</i> ovullerinden gelişmiş olan embriyo yapıları, A) embriyoların kalp safhası, B,C) embriyonun farklı bir görünümü, D,E) embriyonun torpedo safhası, F) embriyonun kotiledon safhası, G-H) kalp safhasından torpedo safhasına dönüşen embriyo yapıları, I) globuler ve torpedo ve safhasında olan embriyolar.....	41
Şekil 4.14. <i>C. hederifolium</i> anterlerinden gelişen embriyolar, A) anterden gelişmiş olan embriyo yapıları, B) farklı globuler, kalp ve torpedo aşamasındaki embriyolar, C) kalp aşamasında olan embriyo, D)yumrulardan gelişmekte olan bitkicik.....	41
Şekil 4.15. Embriyojenik kalluslardan oluşan embriyoların oranı.....	42
Şekil 4.16. A,B) <i>C. cilicium</i> anterlerinden oluşan embriyoların çimlenmesi.....	43
Şekil 4.17. <i>C. hederifolium</i> anterlerinden oluşan bitkicikler.....	43
Şekil 4.18. A,B,C,D) <i>C. persicum</i> anterlerinden gelişen yumru ve bitkicikler	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

2,4-D	: 2,4-dichlorophenoxyaceticacid
2İP	: 6-(γ , γ –dimethylallylamino)purine
BA	: Benzil Adenin
TDZ	: Thidiazuron
MS	: Murashige ve Skoog Besi Ortamı
CITES	: Convention on International Trade in Endangered Species of wild fauna and flora
M	: Mikromolar
sn	: Saniye
oC	: Santigrat derece
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NAA	: Naftalen Asetik Asit
N	: Azot
mM	: Milimolar
ml	: Mililitre
mg l ⁻¹	: Miligram/Litre
m	: Metre
kg	: Kilogram
IAA	: Indole-3-asetik Asit
HgCl ₂	: Cıva Klorür
g L ⁻¹	: Gram/Litre
g	: Gram
FeEDTA	: Demir Etilendiamintetraasetik Asit
Cm ³	: Santimetre küp
Cm ²	: Santimetre kare
cm	: Santimetre
BAP	: 6-Benzylamino Purin
IBA	: Indole buturik asit

mm	: Milimetre
B5	: Gamborg besi ortamı (1968)
mg	: Miligram
%	: Yüzde
K	: Kinetin

1. GİRİŞ

Zengin bir bitki çeşitliliğine sahip olan Türkiye, bu özelliğini farklı iklim, toprak ve coğrafi konumundan almaktadır. Ayrıca ormanlar, zengin su kaynakları, sulak alanlar ve yükseklik farklılıkları gibi daha bir çok özelliğin varlığı bitki çeşitliliğinin artmasında önemli yer tutmaktadır. Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerinin kesişimi konumunda olan Türkiye, flora bakımından önemli bir ülke olmasının yanında, endemik tür zenginliği bakımından da çok önemli bir yere sahiptir. Bu özelliklere bağlı olarak yapılan son çalışmalar, Türkiye’de üçte biri endemik olmak üzere yaklaşık 11.014 adet bitki taksonunun (tür, alttür, varyete gibi) yetiştiğini ortaya koymuştur (Güner ve ark. 2000; Ekim, 1990).

Bu çeşitliliğin önemli bir kısmını, süs bitkileri sektörü içinde ekonomik öneme sahip olan ve geofitler olarak adlandırılan birçok yumrulu, rizomlu ve soğanlı bitkiler oluşturmalarına karşın kesme çiçek, kurutulmuş çiçek, örtü bitkisi, çim, saksılı bitki veya dış mekan bitkisi olarak kullanılabilecek otsu ve odunsu formda da pek çok bitki mevcuttur.

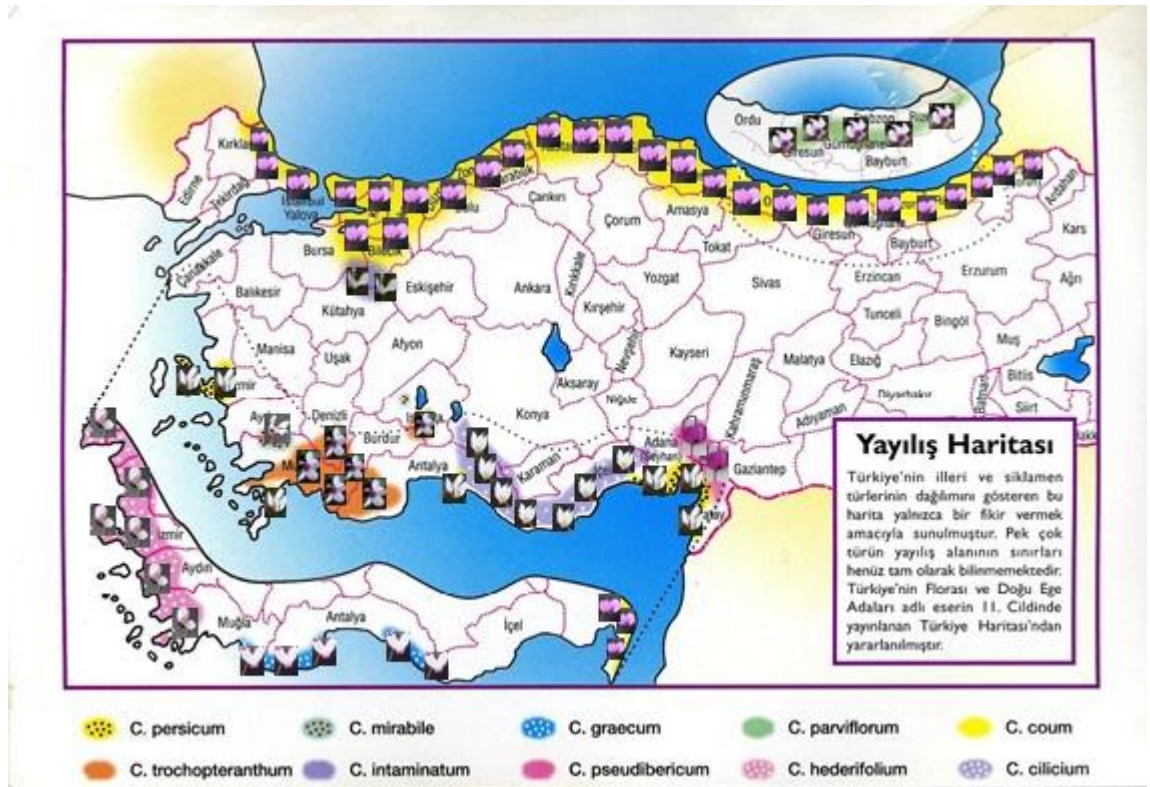
Dünyada yaklaşık 145 ülkede ticari anlamda süs bitkileri üretimi yapılmaktadır. Bu ülkelerdeki toplam üretim alanı 223.105 hektar olarak tahmin edilmektedir. Süs bitkileri alanı bakımından Asya-Pasifik ülkeleri, satış değeri bakımından Avrupa ülkeleri lider konumundadır (Gürsan ve Erkal, 1998). Hollanda’da Rabobank tahminlerine göre, Dünya’da süs bitkileri endüstrisinin getirisi 50 milyar dolardan fazladır (De Groot, 1998).

Dünya’da ve Türkiye’de süs bitkileri üretim ve pazarlaması son 40 yılda çok hızlı bir gelişme ve değişim içerisine girmiştir. Gelişmiş ülkelerde, yeni teknolojilerin üretimde kullanılmasına önem verilirken, Afrika, G.Amerika vb. gelişmekte olan ülkeler, doğal kaynaklarını, iklim ve ekolojik avantajlarını süs bitkileri üretiminde kullanarak ülke ekonomilerine önemli katkılar sağlamaktadırlar. Günümüzde ıslah çalışmaları sonucu elde edilen bir çok süs bitkisinin kaynağı Anadolu’dur. Türkiye’de süs bitkileri sektörü hem üretim, hem ihracat yönünden hızla gelişen bir sektördür. Özellikle son dönemlerde canlı bitkiler ihracatı açısından önemli gelişmeler kaydedilmiştir. İç ve dış mekan üretim ve ihracatı artış

gösterirken, ihracatımızda bu ürünler için Türkmenistan, Irak, Azerbaycan ve Özbekistan gibi yeni pazarlar kazanılmıştır. Toplamda 50'den fazla ülkeye ihracat gerçekleştirilirken, Hollanda, İngiltere, Almanya, Irak, Türkmenistan ve Azerbaycan en önemli pazarlarımız olmaktadır.

Sıklamen günümüzde süs bitkisi olarak sıklıkla kullanılan ve ticareti uluslararası boyutta en çok yapılan bitki türleri arasında yer almaktadır (Jalali ve ark., 2010). Sıklamen ilk kez 17. yüzyılın başlarında toplayıcılar tarafından Batı Avrupa'ya getirilmiştir. Ayrıca 18. yüzyıla kadar birkaç sıklamen türünün kültüre alındığı da bilinmektedir. Daha sonraki dönemlerde ekonomik değer kazanmış ve ıslah çalışmaları başlamıştır (Mathew ve Özhatay, 2001; Widmer, 1980).

Sıklamen yayılış alanları, Blear adaları'ndan doğuda İran'a kadar ve kuzeyde Alp ve Karpet dağları'ndan güneyde İsrail, Girit, Libya, Cezayir, ve Tunus'a kadar yayılmaktadır. Türkiyede yapılan çalışmalar ile *Cyclamen*'in doğal olarak yetiştiği bölgeler tespit edilmiştir (Altay ve Müftüoğlu, 2004; Müftüoğlu ve ark., 2006; Yıldırım ve ark., 2009). *Cyclamen* bitkisinin Türkiye' de yayılış alanları; Antalya, Artvin, Çanakkale, Konya, İzmir, Bolu, Mersin, Balıkesir, Aydın, Trabzon, Giresun ve Amasya olmak üzere toplam 24.578 ha'dır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Türkiye’de Cyclamen türlerinin yayılış alanları (Mathew ve Özhatay, 2001)

Türkiye, dünyanın en zengin sıklamen türüne sahip ülkelerinden biri olmasının yanında, gen merkezlerinden biri olma özelliğini de taşımaktadır. Türkiye’de aralarında 6 tanesi oldukça sınırlı yayılış gösteren (Şekil 1.1) toplam 10 sıklamen türü bulunmaktadır. Bu türlerin 6 tanesi endemik olmak üzere, bazıları ilkbahar ve bazıları da sonbaharda çiçek açmaktadır.

İlkbaharda çiçek açan türler;

- Ø *C. persicum* Miller.
- Ø *C. repandum* Sm. In Sibth & Sm
- Ø *C. pseud - ibericum* Hildebr.
- Ø *C. coum* Miller.
- Ø *C. trochopteranthum* O. Schwarz
- Ø *C. parviflorum* Pobed.

Sonbaharda çiçek açan türler;

- Ø *C. graecum* Link.
- Ø *C. cilicicum* Boiss &Heldr.
- Ø *C. mirabile* Hildebr.
- Ø *C. hederifolium* Aiton.

Bu türlerden endemik olanlar ;

- Ø *C. repandum* Sm-in Sibth. & Sm.
- Ø *C. parviflorum* Pobed
- Ø *C. pseud-ibericum* Hildebr
- Ø *C. trochopentanthum* O. Schwarz
- Ø *C. cilicicum* Boiss &Heldr.
- Ø *C. mirabile* Hildebr.

Sıklamen, yaprak ve çiçeklerinin güzelliği, deseni ve kokusu nedeni ile tercih edilen bir süs bitkisidir. Bu amaçla yetiştirilen bir çok kültür formu vardır. Ayrıca Türkiye’de üretilerek ihraç edilen miktar, üretimin daha pahalı olmasından dolayı doğadan sökülme ile yapılan ihracattan daha düşük düzeydedir (Koyuncu ve Ekim, 1984). Sıklamen türlerinin özellikle sonbaharda çiçek açan türlerinin dış satımının Güneybatı Anadolu’da yapılması nedeniyle bu bölgelerde yapılan araştırmalarda 5-15 yıldır sökülme yapılmasına rağmen, bitkinin gözle görülebilir bir tahribata uğramadığı ve halen bol miktarda olduğu gözlenmiştir. Yapılan araştırmada, bitkinin münavebe ile toplanmasından ve özellikle sık çalı altında yetişen örneklerinin kolayca sökülmemesinden dolayı bitkinin kendini yenilemesi kolaylaşmaktadır (Ekim ve ark., 1991).

Sıklamen de diğer soğanlı, rizomlu, tuberli türler gibi geofit bitkiler adı altında yer almaktadır. Bu tür bitkilerin gelişimi açısından, yazın sıcak ve kurak, kışın da soğuk ve karlı aylar elverişsiz dönemlerdir. Bitkiler, bu elverişsiz ayları toprak altında uyku halinde geçirirler. İlkbahar ve sonbaharda yağmurların başlaması ve sıcaklığın normale dönmesi ile hızlı bir gelişme göstererek, çiçek ve tohum oluştururlar. Geofitlerin toprak altı kısımları, yedek besin depo eden kısımlardır. Bu

nedenle bu tür bitkiler, bu organların toprağa dikilmesiyle kolayca üretilbilirler (Koyuncu, 1994). Bu bitkilerin yumruları, soğanları toprak altında kendilerini korumalarına rağmen, diğer bitki türleri gibi de ilaç, gıda veya süs bitkisi kullanımı, insan ve hayvanların tahriblerine maruz kalmaktadırlar. Aşırı derecede tarımsal mücadeleler, yol yapımları, tarla açmalar, yol genişletme çalışmaları, hayvanların aşırı otlamaları ve bir çok sebepten ötürü, sıklamen dahil bu tür bitkiler tehlike altındadırlar. Bu durumdaki bitkilerin korunması ve kültüre alınması, hem Türkiye'deki gen kaynaklarının korunması, hem de iyi adapte oldukları ortam şartlarında üretilmesi açısından önemlidir.

İhraç ürünü olarak kullanılması nedeniyle halen bilinçsizce yapılan gerek toplama, gerekse yukarıda belirtilen faktörlerden dolayı, sıklamen türleri de, nesilleri tehlike altında olan doğal bitki ve hayvan türlerinin ticaretini düzenleyen anlaşmanın (CİTES) ek listesinde yer almaktadır (Özatay, 2000).

Sıklamen, *Ericales* takımının, *Primulaceae* (Çuhaçiçeğigiller) familyasına ait *Cyclamen* cinsinde yer almaktadır. Yumru ve toprak altı gövdesine sahip çok yıllık otsu bitkilerdir (Şekil 1.2). Yapraklar uzun saplı, oval, dairemsidir. Çiçekler beyaz, pembe, kırmızı, mor ve ara renklerde olabilmektedir ve genellikle kokulu, tek başlarına ve öne doğru eğiktir. Çiçek sapları uzundur, genellikle meyve olgunlaşırken spiral şeklinde kıvrılır. Çiçek ve tohum kapsülü, sapın kıvrılmasıyla yere dönük durumdadır. Bitki başına çiçek sapı adedi 20-30, her kapsüldeki tohum adedi de 20-50 adet arasındadır. Bir anaç bitkiden ortalama 3-6 g tohum elde edilmektedir (Bossard, 1960). Kaliks tam, 5 lobludur. Korolla, kısa ve yarım küre şeklinde tüplü eflatun pembe veya beyaz renklidir. Lobları geriye kıvrıktır veya nadiren antere yapışıktır, 5 stamenlidir. Stamenler 5 adet ve korolla'nın tabanındadır. Flamentler çok kısa, anterler ise geniş olup, koni oluşturacak şekilde birbirlerine yaklaşmıştır. Ovaryum üst durumludur, stilus ince ve genellikle anterlerden uzundur. Kapsül geniş ve büyük, tepeden veya değişik yerlerden 5 yarıkla açılır. Tohumlar ıslak ve yumuşaktır, yapışkan bir salgı ile kaplıdır ve genellikle tektir (Davis, 1978). Sıklamen ağaç veya çalı gölgelerinde iyi gelişmektedir. Her mevsime dayanıklı olup, tüm kış boyunca çiçeklenebilir özelliktedirler.



Şekil 1.2. *C. persicum*'un bitki yapısı, A) doğadaki görünümü, B) tohumlar, C) meyveler, D) yaprak ve yumrunun görünümü

Vejetatif gelişme döneminde 15-20 °C, generatif safhada ise 12-15°C sıcaklık istemektedir. Daha yüksek sıcaklıklar yaprak gelişmesini teşvik ederken, çiçeklenmeyi olumsuz etkilemektedir. Oransal nemin %70 olduğu koşullarda gelişimi çok daha iyi olmaktadır. Sıklamen, fotoperiyodizme duyarsız gibi görünmekte, fakat uzun gün şartlarında ve yüksek ışık intensitesinde çiçek tomurcukları çok miktarda oluşmaktadır (Boztok, 2002).

Bunların yanısıra sıklamen, tıbbi ve kozmetik değeri de olan bir bitkidir. Yumrular, kusturucu, uyarıcı ve müshil etkilerine sahiptir. Yumruların, domuzlar tarafından tüketilmesi nedeniyle, halk arasında domuz ekmeği, domuz topalağı ve tavşan kulağı gibi isimler de kullanılmaktadır.

Sıklamen, kesilerek ya da yumruları ayrılarak çoğaltılamamaktadır. Sıklamen kendileme depresyonu gösterdiği için, F1 hibritlerin ebeveyn hatlarının üretimi ve

çoğaltımı zordur, tohumları pahalıdır. Bu nedenle ıslahçılar ıslah programlarında özellikle vejetatif üretime önem vermektedirler (Winkelmann, 2010).

Haploidizasyon: Somatik hücreleri “n” sayıda kromozoma sahip bitkilere “haploid” adı verilmektedir (Şehirli ve Özgen, 1998). Haploid bitkiler, kök, dal, çiçek, yaprak ve bazı durumlarda meyveler de vererek normal gelişim gösterirler. Ancak, haploid bitkilerin doku ve organlarını oluşturan hücreler diploidlere göre biraz daha küçük olduğundan, haploid bireyler morfolojik olarak diploidlerin biraz küçültülmüş örnekleridir (Bilge, 1982). Haploid bitkilerin boyları daha kısa, yaprakları dar ve küçük, çiçekleri küçük ve polen oluşturmamaları nedeniyle kısırdirler, tohum bağlayamazlar (Emiroğlu, 1980; Abak, 1993; Çağlar ve Abak, 1999). Bu nedenle haploidlerin ıslahta kullanılabilmesi için kromozomlarının katlanarak dihaploid duruma getirilmeleri gerekmektedir.

Doğal haploidi uzun süredir bilinmekle birlikte, haploid bitkilerin çeşitli yollardan doğada kendiliğinden ortaya çıkma sıklığı türlere ve hatta tür içerisindeki genotiplere bağlı olarak değişmekte olup, çoğunlukla % 0.1-0.001 gibi çok düşük seviyelerde kalmakta, birçok türde ise doğal haploid oluşumuna hiç rastlanmamaktadır (Pochard ve Dumas de Vaulx, 1971). Bu nedenle doğada kendiliğinden ortaya çıkan haploidler ıslah programlarında kullanılamamıştır. Ancak araştırmacılar bu oranı arttırmak için çeşitli uygulamaların arayışı içinde olmuşlardır (Pierik, 1989; Emiroğlu ve Gürel, 1993).

Haploidlerin düzenli ve yüksek oranda eldesi için değişik araştırmacılar tarafından bir çok bitkide denenilen yöntemler iki grupta toplanabilir (Hosemans ve Bossoutrot, 1983).

a- *In situ* haploid embriyo uyartımı: *In situ* haploid uyartımını teşvik etmek amacıyla kullanılan yöntemler; (Yeung ve Thorpe, 1981; Hermesen ve Ramanna, 1981; Bajaj, 1983; Lespinasse ve ark, 1983; Wenzel, 1985; Sarı ve ark, 1992; Khush ve Virmani, 1996; Kurtar, 1999)

- Ø Uzak akrabalar arası melezlemeler,
- Ø Tozlamamanın geciktirilmesi
- Ø Abortif veya ısıtılmış polenlerle tozlama

- Ø Değişik kimyasalların uygulanması
- Ø Sıcaklık şokları
- Ø X ve UV ışınlarının uygulanmasıdır.

***In vitro* dişi veya erkek gamet kültürleri (anter-mikrospor veya ovül-ovaryum kültürleri):** İlk kez, Guha ve Maheswari tarafından *Datura innoxia* Mill. bitkisinde 1964 yılında *in vitro* anter kültürü yoluyla düzenli ve yüksek oranda haploid embriyo ve bitkilerin elde edilmesi, ıslahçılar ve doku kültürü konusunda çalışan kişiler arasında heyecanla karşılanmıştır. Kısa sürede, Nitsch ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu teknik, *Nicotiana* türlerinde başarıyla uygulanmıştır (Nitsch, 1981).

Bu güne kadar yaklaşık 300'e yakın türde *in vitro* androgenesis başarıyla uygulanmıştır (Bhojwani ve Razdan, 1983; Sangwan ve Sangwan-Norrel, 1990). Günümüzde buğday, arpa, çeltik, kuşkonmaz, lahana, biber, mısır, patlıcan gibi çok sayıda türde ıslah programlarında kullanılmaktadır (Wenzel, 1985; Kuckuck ve ark, 1991).

Haploidlerin elde edilmesinde kullanılan yöntem ile birlikte genotip, donör bitkinin büyüme koşulları ve yaşı, gametlerin durumu, sıcaklık şokları ve karanlıkta bırakma gibi ön uygulamalar ile kültür ortamının bileşimi gibi pek çok faktör etkili olmaktadır (Chambonnet, 1988; Karakullukçu, 1993a, Karakullukçu, 1993b; Gémesne ve ark, 2002).

Haploid bitki üretiminin üstünlükleri (Sarı, 1994) :

- Ø Tam bir homozigoti çok kısa sürede elde edilebilir.
- Ø Dioik türlerde ve kendileme depresyonu gösteren türlerde homozigoti elde edilebilir.
- Ø Çok yıllık meyve ağaçları gibi uzun sürede meyveye yatan türlerde homozigotiye ulaşma süresi kısalmaktadır.
- Ø Haploidizasyon, çekinik mutasyonların ortaya çıkarılmasında en etkili yöntemdir.

- Ø Haploid bitkiler somatik hibridizasyon işleminin diploid protoplastlara göre daha kolay yapılabilmesine olanak tanımaktadır.
- Ø Tetraploid bitkilerden diploid bitkiler elde edilebilmektedir.
- Ø Kendilemenin imkansız olduğu bazı dioik türlerde, saf erkek bitkiler elde etmek mümkündür.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Somatik Embriyogenesis Yöntemi ile İlgili Çalışmalar

Kiviharju ve ark. (1992), *Cyclamen persicum* Mill'de somatik embriyogenesis yöntemi ile somatik embriyo elde etmeye çalışmışlardır. Eksplant olarak zigotik embriyo, ovaryum, anter, yaprak sapı ve çiçek sapı kullanılmıştır. Çalışmada ortama eklenen 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarının ($1.0-1.5 \text{ mg l}^{-1}$) ve hindistan cevizi sütünün, somatik embriyo gelişimi üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Ortama aktarılan eksplantlardan, ovaryum ve anter kültürlerinde somatik embriyo oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca karanlıkta yapılan kültürün, aydınlıkta yapılan kültürden daha etkili olduğu bildirilmiştir. Elde edilen bitkilerin küçük bir kısmı dışında ana bitki ile aynı fenotipik özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Takamura ve ark. (1995), *Cyclamen persicum*'un fidelerinin farklı organlarını eksplant olarak kullanarak embriyo oluşumunu gerçekleştirmişlerdir. En yüksek embriyo oluşumu, 5.0 mM 2,4-D, 0.5 mM kinetin ve % 3-6 sakkaroz konsantrasyonlarını içeren MS ortamından sağlanmıştır. Ayrıca, yüksek sıcaklıkların ($25-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$) embriyogenesisi olumlu etkilediği rapor edilmiştir.

Bach ve ark. (1998), *Cyclamen persicum* Mill. F-1 'Medium'da farklı eksplantları (kök, hipokotil ve yaprak), farklı oksin ve sitokinin içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Yüksek sitokinin (25 mM 2iP) ve düşük oksin (2.5 mM NAA) içeren besiyerlerinde, tüm eksplantlar düşük oranda kallus ya da direkt adventif kök ve sürgün oluşturmuşlardır. Somatik embriyolar, 0.5 mM 2,4-D ve 5 mM BA içeren besiyerinde gelişmişlerdir.

Mohannad ve Karam (2000), yabani sıklamen türlerinde, organogenesis yöntemi ile yeni bitkiler elde etmeye çalışmışlardır. Çalışmada kullanılan yumru, petiol, kotiledon ve kök eksplantları, farklı BA konsantrasyonları ve 1.1 mg l^{-1} NAA içeren MS ortamlarında kültüre alınmışlardır. Ayrıca BA, TDZ ve Zeatin'in organogenesis üzerine etkileri araştırılmıştır. En yüksek sürgün sayısı ve oranı, yumru eksplantlarından ve 2 mg l^{-1} BA içeren ortamdan elde edilmiştir.

Karam ve Majathoub (2000), *in vitro* sürgün rejenerasyonunu sağlamak amacıyla yabani *Cyclamen persicum*'larda yaprak diskleri, taç yaprak ve yaprak sapı eksplantlarını, TDZ (0, 0.0022, 0.022, 0.22, ve 2.2 mg l⁻¹) ve 6-benzyladenine (BA) (0, 1, 2, or 3 mg l⁻¹) içeren 1/3 MS ortamına aktarmışlardır. BA içeren ortamlarda sürgün rejenerasyonuna rastlanmamıştır. En yüksek sürgün oranı, çiçek sapı eksplantlarından ve 0.22 mg l⁻¹ TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir.

Hohe ve ark. (2001) *C. persicum*'un somatik embriyolarının sıvı kültür içerisinde farklılaşması üzerine çalışmışlardır.

Prange ve ark. (2010a), sıklamenin üç farklı yabani türünü (*Cyclamen graecum* Link, *Cyclamen mirabile* Hildebrand, *Cyclamen trochopteranthum* Schwarz) kullanarak embriyojenik kallus kültürü yapmışlar ve somatik embriyogenesis aracılığı ile rejenerasyon protokolünü oluşturmuşlardır. Embriyojenik kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi, genotiplere bağlı olarak değişmiştir. *C. mirabile* türünde, 0.5 g embriyojenik kallusdan 1461 somatik embriyo elde edilmiştir.

Prange ve ark. (2010b) katı ve sıvı ortamlarda *Cyclamen coum*'un embriyojenik kültürlerini kurmuşlar ve bitki büyüme ve geliştirme düzenleyicilerinin (2,4-D, 2iP, BA ve Kinetin) farklı konsantrasyonlarının gelişime etkisini incelemişlerdir. Bir gram kütlede 4,24 x 10⁵'ten fazla sayıda protoplast, somatik embriyolardan ve embriyojenik süspansiyon kültürlerinden izole edilmiştir. Embriyolardan ve süspansiyon kültürlerinden izole edilen protoplastlar *in vitro*'da başarılı bir şekilde kültüre alınmış ve somatik embriyogenesis aracılığı ile rejenere olarak bitkiye dönüşmüşlerdir. Fenotiplik analizler ve flow sitometrik ölçümler, bazı rejenere olan bitkilerin tetraploid olduğunu göstermiştir. Embriyojenik kültürlerden rejenere olan bitkilerin % 0,9'u tetraploit olmasına karşın, rejenerasyon için kullanılan kalluslardan izole edilen protoplastların yaklaşık % 20'sinde tetraploidi görülmüştür.

Nhut ve ark. (2012) ince hücre kesit teknolojisini kullanarak *C. persicum*'da morfogenezis çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada eksplant olarak çiçek sapı kullanmışlardır. Eksplantları ince hücre katmanları şeklinde keserek yalnızca 2,4 D, NAA, IBA'nın farklı konsantrasyonlarını (0.1; 0.3; 0.5; 0.7 veya 1.0 mg l⁻¹ ve bu

hormonların TDZ (0.2 mg l^{-1} ile kombinasyonunu içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Oksinin kültür ortamında tek başına kallus oluşumu için yeterli olmadığını, en iyi kallus oluşumunun 0.2 mg l^{-1} TDZ ve 1.0 mg l^{-1} 2,4-D kombinasyonunda görüldüğünü saptamışlardır. Eksplantın farklı boyutları (0.5, 1.0, 2.0 or 3.0 mm) ve kesim şekilleri göz önüne alınmıştır. En iyi kallus oluşumu %100 oranında çiçek sapının en üst kısmından alınan 3 mm'lik eksplantlardan elde edilmiştir. Sekiz haftadan sonra kalluslar, 0.5 mg l^{-1} BA ve 0.7 mg l^{-1} IBA içeren MS ortamında alt kültüre alınarak, en iyi sürgün sayısı elde edilmiştir (39.4 sürgün/eksplant). Sonuçlar, bitki büyüme düzenleyicilerinin, eksplantın boyutunun, kullanılan çiçek sapının ve kesim yerinin, *C. persicum*'da TCL yöntemi ile morfogenezde önemli olduğunu vurgulamıştır.

2.2. Androgenesis ve Gynogenesis ile İlgili Çalışmalar

Ishizaka ve Uematsu (1992), *Cyclamen persicum* ve *Cyclamen hederifolium*'da ovül kültürü yöntemi ile türler arası hibrit bitkiler elde etmeye çalışmışlardır. *C. persicum*'a ait diploid ($2n = 2x = 48$) ve tetraploid ($2n = 4x = 96$) çeşitler dişi ve yabancı *Cyclamen hederifolium var. album* ise erkek ebebeyn olarak kullanılmıştır. Melezlemeden sonra, melez yumurtalıklar belirli periyotlarda toplanmış ve ovüllerde histolojik analizler yapılmıştır. Ovüller, farklı ortamlara aktarılmıştır. Ovül kültürü ve histolojik analizler sonucu, diploid ($2n = 2x = 48$) *C. persicum* ve yabancı *Cyclamen hederifolium var. album*'ün melezlenmesi sonucunda elde edilen ovüller 28 gün, tetraploid ($2n = 4x = 96$) *C. persicum* ve yabancı *Cyclamen hederifolium*'un melezlenmesi sonucunda elde edilen ovüller ise 21 gün sonra rapor edilmiştir. % 3 sakkaroz içeren MS ortamının, diploid ($2n = 2x = 48$) *C. persicum* ve yabancı *Cyclamen hederifolium var. album*'un melezlenmesinden elde edilen ovüller için en uygun ortam olduğu bulunmuştur. Tetraploid ($2n = 4x = 96$) *C. persicum* ve yabancı *Cyclamen hederifolium*'dan elde edilen ovüller için ise en uygun ortamın, % 3 sakkaroz ve % 10 hindisan cevizi sütü içeren MS ortamı olduğu tespit edilmiştir. *C. persicum* ($2n = 2x = 48$) ve yabancı *Cyclamen hederifolium* ($2n = 34$)'un melezlenmesi sonucunda elde edilen hibrit bitkilerin ($2n=41$) genotip olarak aynı

evebeynler olduğu gözlenirken, tetraploid ($2n = 4x = 96$) *C. persicum* ve yabani *Cyclamen hederifolium*'un hibrit bitkilerinde farklı kromozom sayısı ($2n=64$) gözlenmiştir.

Ishizaka ve Uematsu (1993), *C. persicum*'a ait diploid ($2n = 2x = 48$) ve tetraploid ($2n = 4x = 96$) çeşitlerde anter kültürü çalışmaları yapmışlardır. Çalışma sırasında % 6-12 sakkaroz ve 2 mg/l NAA hormonu içeren N6, B5 ve MS ortamlarında embriyoid yapıları elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda, embriyoid oluşumunun yüksek sıcaklıkta engellendiğini, düşük sıcaklıkta özellikle 5 °C'de 2 gün boyunca bekletmenin oluşumu teşvik ettiğini rapor edilmiştir. Ayrıca % 3 sakkaroz içeren B5 ortamında embriyoidlerin bitkiciklere dönüştüğünü saptamışlardır.

Ishizaka ve Uematsu (1995), *C.persicum* ve *C.purpurascen* türleri arasında güzel kokulu karakterini *C.purpurascen*'den *C.persicum*'a taşımak için ovül kültürü yöntemi kullanarak türler arası melezleme yapmışlardır. Ovül kültürü ile henüz gelişmemiş hibrit embriyolar elde edilmiştir. *C.persicum*'un diploid (CPD, $2n=2x=48$) ve tetraploid (CPT, $2n=2x=96$) çeşitleri dişi ve *C.purpurascen*'un yabani çeşitleri (CP, $2n=34$) erkek evebeyn olarak kullanılmıştır. Ortam olarak %3 sakkaroz içeren MS besiyeri kullanılmıştır. Ovüller ortam içerisinde 25 °C'de karanlıkta bekletilmiştir. Melezleme sonrası ovaryumlarda belirli aralıklarla histolojik analiz yapılmıştır. Melezlemeden sonra ovüllerin 35 gün boyunca ortamda gelişimleri gözlenmiştir. CPD × CP melezlemesinden elde edilen hibritlerde ($2n=41$) tam CP çiçeklerinin kokusu gözlenirken, CPT × CP çaprazlama sonucunda elde edilen hibritlerde ($2n=65$) *C.persicum*'un çiçeklerinin kokusu saptanmıştır.

Ishizaka, H. (1996), çalışmasında *C.graecum*'un hastalığa dayanıklılığını *C.persicum*'a aktarmak için türler arası melezleme ve ovül kültürü yapmışlardır. Melezleme sonrası kültüre alınan ovüllerden henüz olgunlaşmayan hibrit embriyolar elde edilmiştir. *C.persicum*'un diploid (CPD, $2n=2x=48$) ve tetraploid (CPT, $2n=2x=96$) çeşitleri dişi ve *C.graecum*'un yabani çeşitleri (CG, $2n=84$) erkek evebeyn olarak kullanılmıştır. Ortam olarak %3 sakkaroz ve %10 hindisan cevizi sütü içeren MS besiyeri kullanılmıştır. Ovüller ortam içerisinde 25 °C'de karanlıkta bekletilmiştir. Melezleme sonrası ovaryumlarda belirli aralıklarda histolojik analiz

yapılmıştır. Melezlemeden sonra ovüllerin 35 gün boyunca ortamda gelişimleri gözlenmiştir. Çalışma sonucunda CPD×CG ve CPT×CG'dan elde edilen hibritlerin (2n=66), (2n=90) her ikisinde de değişik hastalıklara karşı özellikle *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis*, *Erwinia herbicola* pv. *Cyclamenae* ve *Pseudomonas marginalis* pv. *Marginalis* 'e dayanıklılık gözlenmiştir.

Shizaka, H. (1998), *C.persicum* (2n=2x=48) ve *C.purpurascens* (2n=2x=34)'un melezlenmesi sonucunda elde edilen F1 hibritlerin anterlerini kültüre almışlardır. Embriyolar, henüz tek çekirdekli safhada olan polenlerden elde edilmiştir. Ortam olarak 90 mg l⁻¹ sakkaroz, 0.1 ve 1 mg l⁻¹ NAA ve 0.1 mg l⁻¹ 2,4-D içeren B5 ortamı kullanılmıştır. İlk olarak anterler 5 °C'de 4 gün ve sonra 25 °C 60 gün bekletilmiştir. Embriyolar oluştuktan sonra bitkiciğe dönüşmek için 30 mg l⁻¹ sakkaroz içeren B5 ortamında alt kültürü alınmışlar ve 25 °C'de bekletilmişlerdir.

Winkelmann ve Serek (2005), çalışmalarında farklı çiçek rengi ve farklı büyüme tiplerine sahip *C. persicum* türüne ait çeşitlerin somatik embriyogenesis oluşturabilme yeteneklerini test etmişlerdir. Her çeşitten 5 adet bitki ve her bitkiden de 100 ovül alınarak deneme kurulmuştur. Kallus oluşturma kültüründe hormon olarak 9.05µM 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyaceticacid) ve 3.94 µM 2iP (6-(γ ,γ-dimethylallylaminopurine) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan 32 çeşitten sadece birinde somatik embriyo oluşumu gözlenmiştir. Rejenerasyon oranı çeşitlere göre % 0 ile % 65 arasında değişiklik göstermiştir. Midi tip *C. persicum* çeşitleri, mini ve giganteum tip çeşitlerine göre daha düşük oranda rejenerasyon gösterirken, alev renkli çiçeklere sahip çeşitler, yüksek oranda rejenerasyon göstermişlerdir.

Winkelmann ve ark. (2006), *Cyclamen persicum* Mill'in embriyojenik süspansiyon kültürlerinden yararlanarak rejenerasyon protokolü geliştirmişlerdir. Protoplastları, embriyojenik süspansiyon kültürlerinden enzimatik öğütme ile elde etmişlerdir. Embriyojenik kalluslar, ovüllerden 1/2 MS besi yerinde 2 mg l⁻¹ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyaceticacid) ve 0,8 mg l⁻¹ 2iP (6-(γ ,γ-dimethylallylamino) purine) varlığında elde edilmiştir. Çalışılan 11 genotipin 9 tanesinde somatik embriyogenesis sonucunda başarı elde edilmiştir.

Cyclamen persicum Mill cv. 'Halios'a ait henüz olgunlaşmamış ve farklı gelişme dönemlerinde alınmış ovüller kullanılarak embriyolar elde edilmiştir. Savona

ve ark. (2007), besiyeri ortamı olarak Schwenkel ve Winkelmann (1998)'ın bildirdiği ortamı kullanmışlardır. Elde edilen kalluslarda farklı renk, kompaktlık ve farklı somatik embriyo oluşturma potansiyelleri saptanmıştır. Embriyojenik kallusların tümü olgunlaşma, çimlenme ve tamamen bitkiye dönüşme potansiyeli göstermiştir. Elde edilen bitkilerin homojenitesini tespit etmek için, bitki ağırlığı, yaprak uzunluğu, çiçek genişliği ve petal sayısı gibi morfolojik özellikler ölçülmüştür. Morfolojik incelemeler, elde edilen bitkilerde yüksek düzeyde homojenite olduğunu göstermiştir.

Takamura ve ark (2010), *Cyclamen persicum* Mill'de anter kültürün de farklı karbon kaynaklarının (sakkaroz, fruktoz ve maltoz) etkisini araştırmışlardır. Eksplant kaynağı olarak ('kago yellow' × 'anneke') sonucunda elde edilen F1'ler kullanılmıştır. Anterler, farklı karbon kaynağı içeren B5 ortamına aktarılmıştır. En yüksek embriyo gelişimi, maltoz içeren ortamda gözlenmiştir. Ayrıca, farklı bir çalışmada F1 çeşidinin yanı sıra, sıklamenin 5 farklı genotipinde de sakkaroz ve maltoz'un anter kültürü üzerindeki etkisini araştırmışlardır. En iyi embriyo oluşumu F1 çeşidinde 394.4 mM maltoz içeren ortamda gözlenmiştir. Sonuçta anter kültürü üzerine en etkili karbon kaynaklarından birisinin maltoz olduğu tespit edilmiştir.

Winkelmann (2010), *C. persicum*'da somatik embriyogenesis yöntemi ile klonal çoğaltımı hedeflemiştir. Çalışmada eksplant kaynağı olarak ovül kullanılmış, kallus oluşturma ortamında ise hormon olarak 2 mg L⁻¹ 2,4-D ve 0,8 mg L⁻¹ 2iP kullanmıştır. Somatik embriyogenesis ile elde edilen bitkiciklerin düşük bir oranının somaklonal varyasyon gösterdiğini saptanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

Araştırma, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü ve Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuvar ve seralarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak, *C. hederifolium*, *C. cilicium* ve *C. persicum*, TÜBİTAK 110O102 no'lu proje kapsamında doğadan toplanmış ve Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Süs Bitkileri serasında saksılara alınmış ve muhafaza edilmiştir. Şekil 3.1'de seradan bir görüntü sunulmuştur.



Şekil 3.1. *Cyclamen persicum*'un seradaki görünümü

3.1.1. Kullanılacak Bitki Materyallerinin Özellikleri

3.1.1.1. *Cyclamen cilicium* Boiss & Heldr.

Türkiye'ye özgü (endemik) olan bu tür Antalya, Isparta, Konya, Mersin ve Adana illerinde yetişmektedir. Eylül-Kasım aylarında çiçeklenen bu tür, yetişme ortamı olarak 700-2000 m'ler arasındaki karaçam ve göknar ormanını, kayalık yamaçları ve çalılık altlarındaki kaya yarıklarını tercih eder. Kromozom sayısı $2n=30$ olmaktadır (Cyclamen Society, 2008). Şekil 3.2'de bu türe ait görüntü sunulmuştur.



Şekil 3.2. *Cyclamen cilicium*'un seradaki çiçek ve tomurcuklarının görünümü

3.1.1.2. *Cyclamen hederifolium* Aiton.

Kuzey yarımkürede yayılış göstermektedir. Eylül-ekim ayları arasında çiçek açmaktadır. Çiçeklenen petallerin dip kısmında V şeklinde mor renkli deseni bulunmaktadır. Çiçekleri normalde pembe renklidir ama kültüre alınan türlerinde beyaz çiçekli olanlar da yaygın olmaktadır. Doğal türlerinde beyaz çiçeklilik nadirdir. Kromozom sayısı $2n=34$, $2n=68$ veya $2n=102$ ' dir (Cyclamen Society, 2008). Yaşam alanları deniz seviyesinden 1300 m. yükseklikteki ormanlık alanlar-makilikler, çalılıklar ve kayalık alanlardır. Şekil 3.3'de bu türe ait görüntü sunulmuştur.



Şekil 3.3. *Cyclamen hederifolium*'un çiçek yapısının görünümü

3.1.1.3 *Cyclamen persicum* Mill.

C. persicum, dünya üzerinde çok geniş bir yayılım alanına sahiptir. Cezayir, Tunus, Kıbrıs, İsrail, Ürdün, Lübnan, Suriye, Yunanistan ve Türkiye, *Cyclamen persicum* türünün yayılım alanları içerisindedir. Kromozom sayısı $2n=48$ 'dir (Cyclamen Society, 2008). Kokuludur. Tavşankulaklarını andıran kulakçıkları, çeşitli derecelerde mermerimsi lekelidir. Çiçekleri daha büyüktür (Şekil 3.4). Ticari değeri yüksektir. *Cyclamen* cinsi içerisinde ekonomik olarak en yüksek oranda kültürü yapılan türdür. Orta Avrupa ve Asya'da süs bitkisi olarak önemli bir yer tutmaktadır. Kış ve ilkbahar arası çiçek açmaktadır. Büyük, kırmızı, koyu kırmızı, pembe ve beyaz renklidir. Yaprakları sert, kenarları dişlidir. Bitki 30 cm kadar boylanabilmektedir.

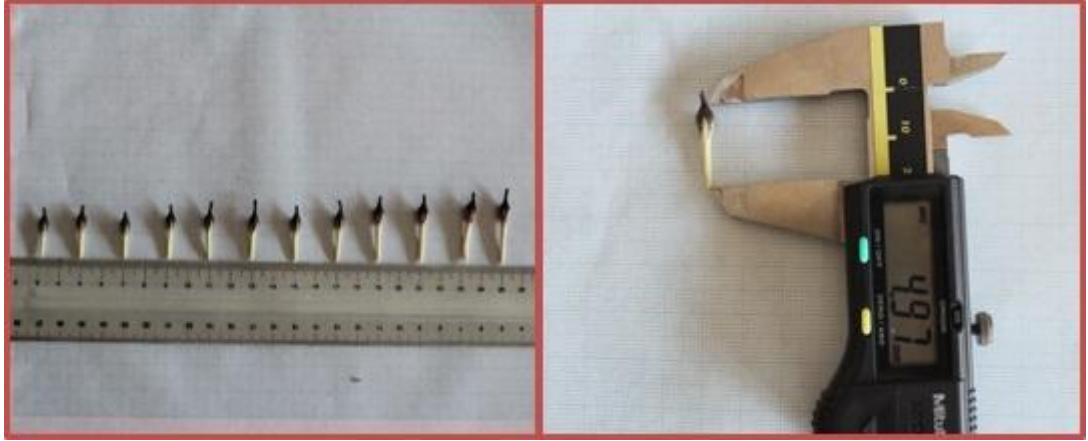


Şekil 3.4. *Cyclamen persicum*'un çiçek ve tomurcukları

3.2. Metod

3.2.1. Uygun Tomurcuk Büyüklüğünün Tespiti

Haploid bitki üretiminde dikkate alınması gereken en önemli ve öncelikli basamaklardan birisi, uygun tomurcuk büyüklüğünün tespit edilmesidir. Haploidizasyon çalışmaları için henüz olgunlaşmamış ve içerisinde birinci polen mitozu aşamasına gelmiş tek çekirdekli mikrosporları bulunduran anterleri tespit etmek için tomurcuklar farklı büyüklüklerde toplanmış ve boyutları ölçülmüştür (Şekil 3.5). Çalışmada çiçek tomurcuğu büyüklüğünün belirlenmesi amacıyla kontrol olarak *C. persicum* türünün çiçekleri kullanılmış, bu türe ait bitkilerden 12 adet farklı ama birbirine çok yakın boyutlarda çiçek tomurcuk örneği toplanmış, boyutlarına göre sıralanmış ve herbirinin büyüklüğü ölçülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *C. persicum* türüne ait farklı büyüklükteki çiçek tomurcuklarının görünümü

Tomurcuklar, genel olarak, 3.50-12.20 mm boyutlarında alınmıştır. Daha sonra tek çekirdekli mikrospor safhasını içeren doğru tomurcuk büyüklüğünü tespit etmek için asetokarmin ile boyama yapılmıştır.

3.2.1.1. Asetokarmin ile Boyama

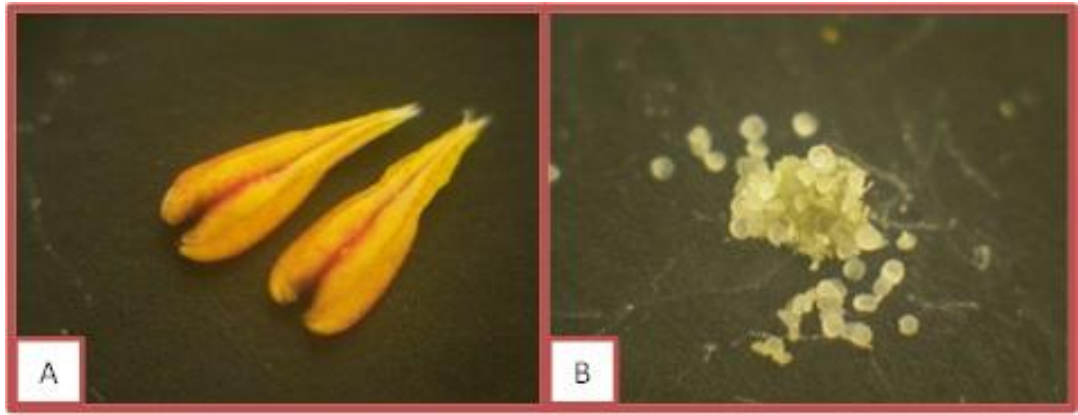
En pratik yöntem olarak bilinen bu yöntemde, farklı büyüklükteki canlı tomurcuklardan alınan anterler, lam üzerine yerleştirilmiş ve bisturi ucu yardımıyla anterlerin içerisindeki mikrosporlar serbest hale getirilmiştir. Üzerine 1-2 damla asetokarmin damlatılmış, anterler iyi bir şekilde ezilmiş, üstü lamel ile kapatılarak preparat haline getirilmiş ve ışık mikroskobunda incelenmiştir.

3.2.1.2. Asetokarminin Hazırlanması

Saf su içerisine (55 ml) glasiyel asetik asit (45 ml) ilave edilerek kaynatılmış ve sonra bu karışıma 1 g karmin eklenerek filtre edilmiştir.

3.2.2. Uygun Çiçeklerin Toplanması

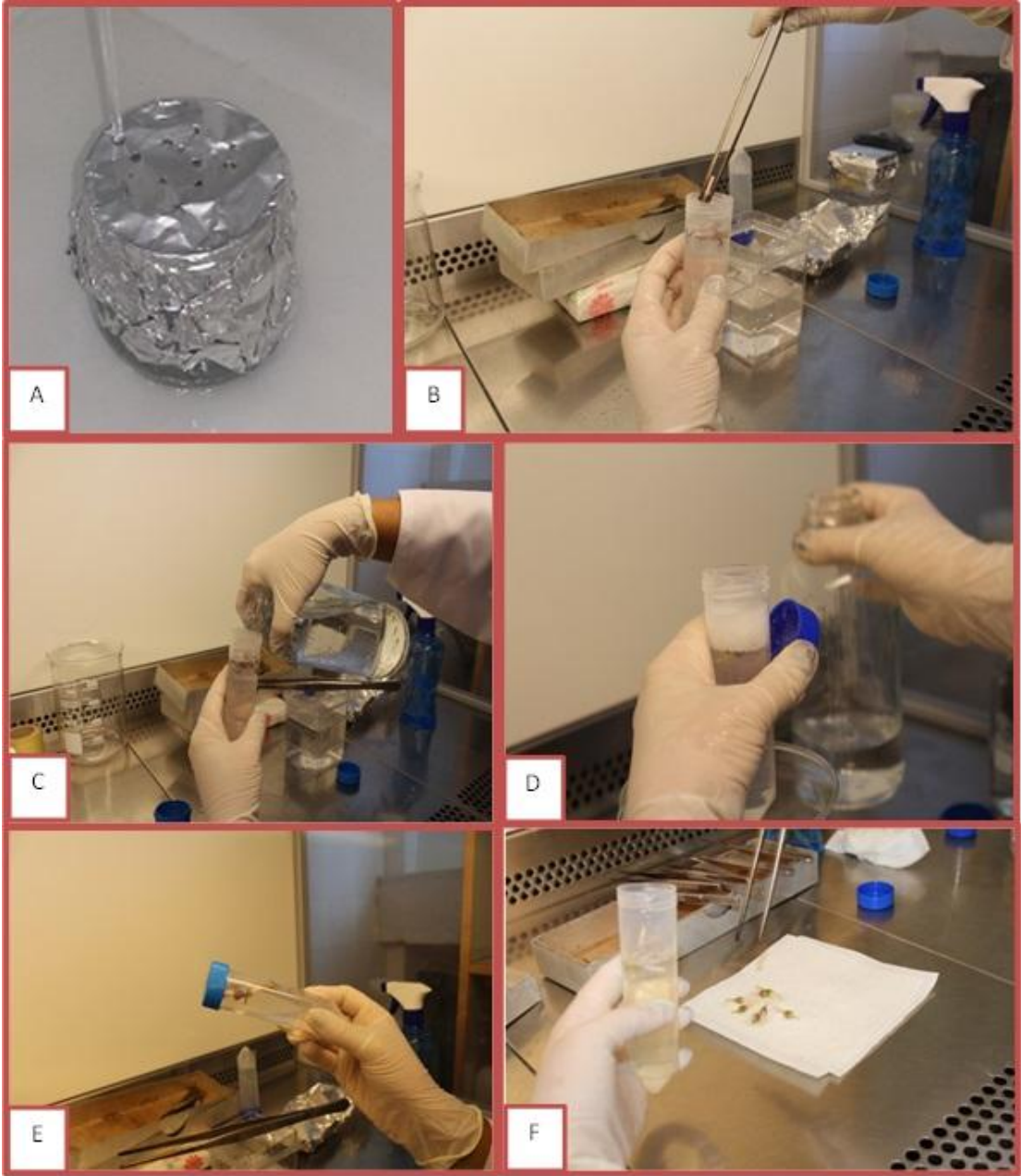
Uygun tomurcuk büyüklüğü tespit edildikten sonra çiçekler tomurcuk halinde bitkilerin çiçek açma dönemine göre, anthesisten 2-3 gün önce alınmıştır. Ovül ve anterler izole edilerek rejenarasyon denemeleri kurulmuştur.



Şekil 3.6. Eksplantların görünümü, A) anter, B) ovül

3.2.3. Çiçeklerin Yüzey Sterilizasyonu

Sterilizasyon için ilk olarak eksplantlar akan çeşme suyu altında 20 dk bekletildikten sonra kabin içersinde %70'lik etil alkolde 1 dk bekletilmişlerdir. Ardından steril saf su ile bir kez durulanarak %20'lik NaOCl içersinde 20 dk bekletilmiş ve steril saf su ile 3 kez yıkanmışlardır. Uygulamalar tekrar edilerek, %70'lik etil alkolde 3 dk ve NaOCl miktarı sırası ile % 5, % 10 ve %15 arttırılmıştır. Ancak, ilerleyen aşamalarda enfeksiyonla karşılaşılınca farklı uygulamalar denenmiştir. Son olarak akan çeşme suyu altında 20 dk bekletildikten sonra % 0,1'lik $HgCl_2$ 'de 10 dk (çeker ocakta) bekletilmiş, daha sonra 3 kez saf su ile durulanmıştır. Daha sonra kabin içersinde %70'lik alkolde 3 dk bekletildikten sonra bir kez steril saf su ile durulanan eksplantlar, ardından % 20'lik NaOCl'de 20 dk bekletilmiş ve 3 kez steril saf su ile yıkanmıştır. Sterilizasyonu gerçekleştirilen çiçekler, eksplant hazırlığı yapıp ortamlara aktarılincaya kadar steril saf su içersinde bekletilmiştir (Şekil 3.7).

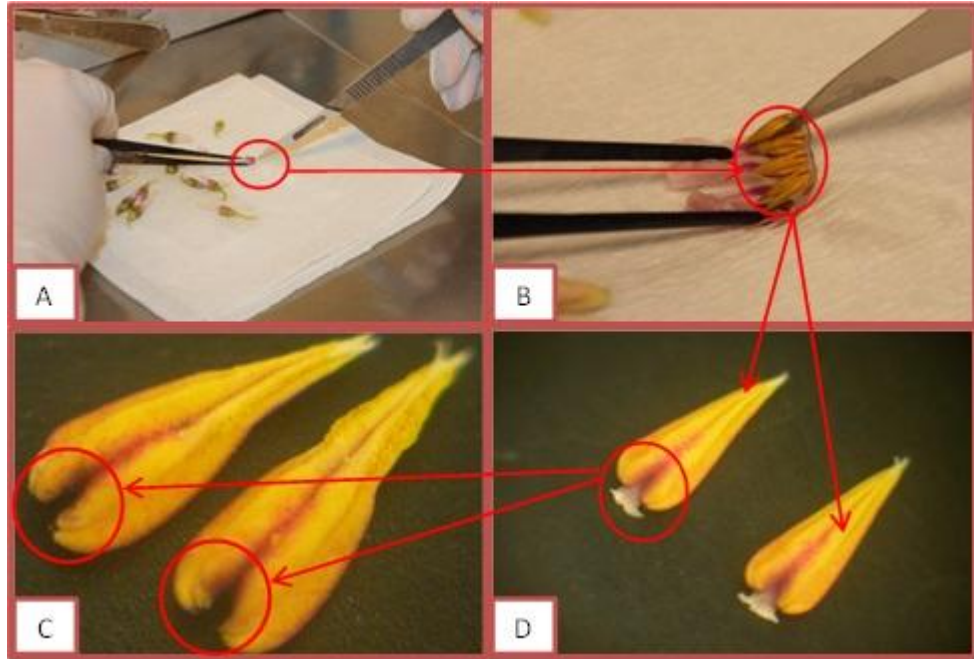


Şekil 3.7. Sterilizasyon aşamaları, A) Çiçeklerin çeşme suyu altında bekletilmesi, B) Her saksıya ait çiçeklerin sterilizasyon aşamalarını gerçekleştirmek için falkonlara aktarılması, C) % 70'lik alkol uygulamasından sonra steril saf su ile yıkınması, D) % 20'lik NaOCl uygulamasından sonra yıkama işlemi, E) Çiçeklerin kültüre alınıncaya kadar steril saf su da bekletilmesi f) Çiçeklerin anter ve ovüllerinin izole edilmesinden önceki aşamada kurutma kağıdı üzerinde fazla suyunun alınması

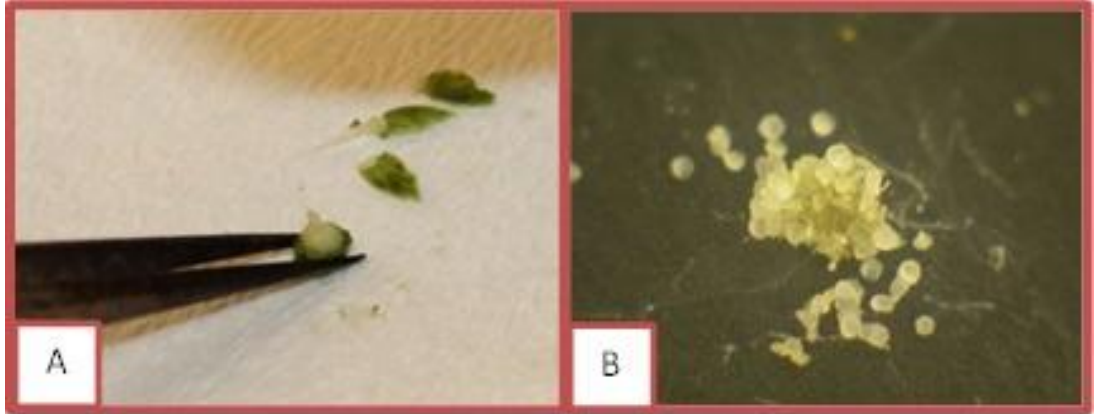
3.2.4. Anter ve Ovüllerin Ortama Aktarılması

Sterilizasyon aşamaları gerçekleştirildikten sonra anter ve ovüller izole edilmiştir. Taç yapraklar kesilerek ilk olarak anterler serbest bırakılmıştır. Anterlerin filamentleri dikkatli bir şekilde (ters v) bistüri ile kesilerek pens yardımı ile alınmıştır (Şekil 3.8). Anterlerin filamentleri çıkarılırken anter dokularının zarar görmemesine ve canlılığını korumasına dikkat edilmiş ve anterler ortama aktarılmıştır.

Daha sonra, stigma ve dişicik borusu, bistüri yardımı ile kesilerek ovaryumun içinden ovüller, binoküler mikroskop altında alınmış ve ortama aktarılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.8. Anterlerin izole edilmesi, A) Taç yapraklarının kesilmesi, B) Anterlerin toplu halde görünümü, C) Serbest bırakılan anterlerin görünümü, D) Filamentleri çıkarılmış anterlerin görünümü



Şekil 3.9. A) Yumurtalığın görünümü, B) Ovüllerin toplu görünümü

3.2.5. Kallus Geliştirme Kültürü

Çalışmada anterlerden, androgenesis, ovüllerden ise gynogenesis yöntemine göre embriyo geliştirmeye çalışılmıştır. Ortama alınan eksplantlardan, embriyojenik kallus ve daha sonra embriyolar elde edilmiştir. *In vitro* koşullarda bu gelişmeler iki aşamada gerçekleşmiştir. Birincisi, eksplantlardan embriyojenik kallusların oluşması, ikincisi embriyojenik kallusların farklılaşması ve embriyoların oluşması ve çimlenmesidir. Bu çalışmada üç farklı ortam kullanılmıştır. Anter ve ovül kallus geliştirme ile farklılaşma ve çimlenme besiyeri içeriği Çizelge 3.1’de verilmiştir.

3.2.5.1. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları

Çalışmada embriyojenik kallus gelişimini teşvik etmek amacı ile, her iki eksplant için de temel besin ortamı olarak, 1/2 MS kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Kallus geliştirme ortamını içeren petrilerin (25x100 mm) her birine, 5’er adet anter ve 20’şer adet ovül kültüre alınmıştır. Her bir eksplant tipi için 5 tekerrür de ve her tekerrür de 5’şer petri olmak üzere 3 tür için deneme kurulmuştur. Toplam olarak her tür için 125 adet anter ve 500 adet ovül kullanılmıştır.

3.2.5.2. Anterlere Ön Uygulama

Haploidizasyon çalışmalarında anterleri çimlendirmeye teşvik etmek amacıyla farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada da kültüre alınmış anterler için ön uygulama olarak soğuk uygulaması yapılmıştır. Anterler ortama aktarıldıktan sonra karanlıkta, 5 °C’de 2 gün bekletilmiştir.

Petrilere aktarılmış olan ovüller ve anterler ise ön uygulamaları bittikten sonra tamamen karanlık ortamda 25 °C’de, 8 hafta süre ile bekletilmişlerdir. Sekiz haftalık kültürün ardından, embriyojenik yapılar gelişmeye başladıktan sonra eksplantlar her 4 haftada bir aynı içeriğe sahip besiyerlerinde alt kültüre alınmışlardır. On altıncı haftanın sonunda gelişmiş olan embriyoid yapılar, hormonsuz ortama aktarılmış ve bu yapıların gelişim evreleri gözlenmiştir.

3.2.6. Farklılaşma ve Embriyoların Çimlenmesi

Kallus oluşturma besiyerinde yaklaşık 16 haftalık kültürün sonrasında oluşan embriyolar hormon içermeyen yeni besiyerine aktarılmışlardır (Çizelge 3.1). Eksplantlar, eski besiyerlerinden arındırılması amacı ile steril kurutma kağıtlarında kurutulduktan sonra yeni besi yerlerine alınmışlardır. Bu besiyerinde 8 haftalık kültürün ardından aynı içeriğe sahip besiyerlerine alt kültür işlemi yapılmış ve alt kültür işlemi her 4 haftada bir tekrar edilmiştir. Eksplantlar, bu aşamada da tamamen karanlık ortamda ve 24 °C’de bekletilmişlerdir. Embriyolar olgunlaşıp ilk kotiledonlar görülene kadar bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi yeri içeren petrilere bitkicikler elde edilene kadar muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Besin ortamların içeriği

	Kallus geliştirme besiyeri (Anter)	Kallus geliştirme besiyeri (ovül)	Kallus farklılaşma ve çimlenme besiyeri
Makroelementler (1/2 MS)	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹
NH ₄ NO ₃	825	825	825
KNO ₃	950	950	950
CaCl ₂ x 2H ₂ O	220	220	220
MgSO ₄ x 7H ₂ O	185 MgSO ₄	185 MgSO ₄	185 MgSO ₄
KH ₂ PO ₄	85 KH ₂ PO ₄	85 KH ₂ PO ₄	85 KH ₂ PO ₄
Mikroelementler (1/2 MS)	Mg l ⁻¹	Mg l ⁻¹	Mg l ⁻¹
H ₃ BO ₃	3,1	3,1	3,1
MnSO ₄ x 1H ₂ O	8,45	8,45	8,45
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	5,3	5,3	5,3
KJ	0,415	0,415	0,415
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0,125	0,125	0,125
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0,0125	0,0125	0,0125
CoCl ₂ x 6H ₂ O	0,0125	0,0125	0,0125
	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹
Fe EDTA	34,51	34,51	34,51
Pepton	250	250	250
myo-Inositol	100	100	100
Glisin	2	2	2
Nikotinik asit	0,1	0,1	0,1
Thiamine HCl	0,5	0,5	0,5
Pridoksin HCl	0,5	0,5	0,5
	g l ⁻¹	g l ⁻¹	g l ⁻¹
Sükroz	90	30	30
D(+)-glukoz	2	2	2
Gelrite	4	4	4
	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹
2,4-D	2	2	-----
2iP	0,8	0,8	-----
pH	5,5-5,6	5,5-5,6	5,5-5,6

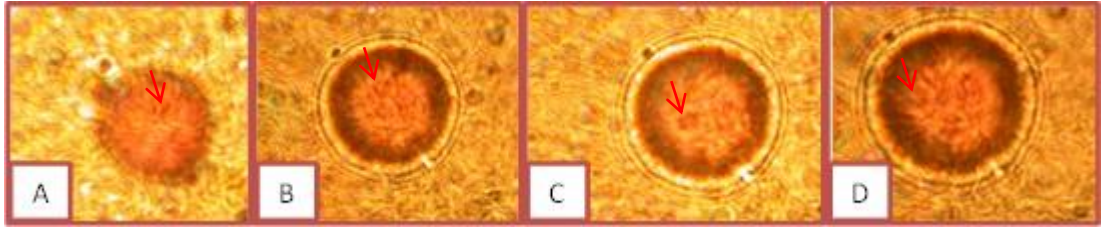
3.2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Deneme, tesadüf parselleri deneme düzenine göre kurulmuş ve çalışma sonucu elde edilen yüzdelik verilere açığa transformasyonu uygulanarak JMP (versiyon 5,01) paket programı ile analizler yapılmıştır. Ortalamalar LSD testi ile karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Uygun Tomurcuk Büyüklüğünün Tespiti

Tek çekirdekli mikrosporlara sahip uygun aşamadaki anterleri tespit etmek amacıyla *C.persicum* türü kullanılmıştır. *C.persicum*'un tomurcukları, 3.50-12.20 mm büyüklüklerinde toplanmış ve asetokarmin ile boyandıktan sonra ezme preparatlar halinde mikroskop altında incelenmiştir. Uygulama sonucunda, bu büyüklükler arasında toplanan tomurcukların tümünün, uygun tomurcuk büyüklüğünde oldukları tespit edilmiştir. Şekil 4.1'de tek çekirdekli mikrosporlara sahip uygun aşamadaki anterler yer almaktadır.



Şekil 4.1. Tek çekirdekli mikrosporlara sahip uygun aşamadaki anterlerin görünümü, A) 3.50 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı, B) 5.70 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı, C) 7.90 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı, D) 12.20 mm büyüklüğündeki tomurcuğun anter yapısı

4.2. Çiçeklerin Yüzey Sterilizasyonu

Yapılan sterilizasyon denemesi sonucunda, eksplantlarda özellikle de anterlerde yüksek oranda enfeksiyon gözlenmiştir. Bu nedenle daha sonraki uygulamalarda eksplantlar, % 70'lik etil alkolde 3 dk bekletildikten sonra 1 kez steril saf su ile durulanmıştır. Ardından, NaOCl miktarı sırası ile % 5, % 10 ve % 15 artırılmıştır. Ancak, yine enfeksiyon sorununun giderilemediği gözlenmiştir. Son olarak, çiçek tomurcukları akan çeşme suyu altında 20 dk bekletildikten sonra, % 0,1'lik HgCl₂'de 10 dk(çeker ocakta) bekletilmiş, daha sonra 3 kez saf su ile durulanmıştır. Daha sonra, kabin içerisinde % 70'lik alkolde 3 dk bekletildikten

sonra bir kez steril saf su ile durulanan eksplantlar, ardından % 20'lik NaOCl'de 20 dk bekletilmiş ve 3 kez steril saf su ile yıkanmıştır. Bu uygulama sonucunda taç yapraklarda kararma meydana gelmiştir. Ancak, çiçekler tomurcuk halinde olduğu için taç yapraklar içindeki anter ve yumurtalık kimyasallardan korunmuş ve eksplantların gelişiminde herhangi bir sorun gözlenmemiş ve sorun ortadan kaldırılmıştır.

4.3. Kallus Gelişimi

Çalışmada, *C.persicum*, *C.cilicium* ve *C.hederifolium* türleri ve bu türlere ait iki farklı eksplant tipi (anter ve ovül) kullanılmıştır. Bu eksplantlardan embriyo elde edilmesine ve daha sonra da bu embriyoların çimlendirilmesine çalışılmıştır.

İki farklı eksplant tipinde de farklı oranlarda kallus oluşumu tespit edilmiştir. Eksplantlar arasındaki farklı kallus oluşturma oranları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek kallus oluşturma oranı, enfeksiyon problemi olmasına rağmen % 68,54'lük oran ile anter eksplantından elde edilmiştir. Ovüllerde ise bu oran % 41.04 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). Anter eksplantında, ovüllere göre daha kısa zamanda kallus oluşumu gözlenmiştir. Besiyerine aktarılan ovüller, ilk günler itibari ile hacimsel olarak büyümeye başlamışlardır. Bu irileşme, ovüllerin büyük bir bölümünde devam etmemiş ve bu ovüllerden kallus oluşumu tespit edilememiştir. Ovüllerin çok küçük olmaları nedeni ile kallus oluşumu anterlere göre daha geç ve düşük oranda olmuştur. Anterlerin, ovüllere göre daha iyi bir potansiyele sahip oldukları görünse de, enfeksiyon sorununun yanı sıra bir çok ortama aktarılan anterlerde de herhangi bir kallusa dönüşüm gözlenmemiştir. Bunun nedeni olarak, anterlerin filamentlerinin çıkarılması esnasında anter dokularının keskin bistüri ucundan zarar görmeleri olabileceği düşünülmüştür.

Her üç türde de (*C.persicum*, *C.cilicium* ve *C.hederifolium*) farklı oranlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Türler arasındaki kallus oluşturma oranları, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek kallus oluşum oranı, % 67.42 ile *C.cilicium*'da ve ardından *C.persicum*'da % 66.86 olarak görülürken, en düşük oran ise % 30.10 ile *C.hederifolium*'da gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Eksplantlardan oluşan kallus gelişim oranı

Eksplant	Gelişim Yüzdeleri		
	Kallus	E.kallus	Embriyo
Anter	68.54 a (32.25)	45.89 a (23.32)	30.51 a (16.83)
Ovül	41.04 b (21.85)	25.24 b (16.44)	9.00 b (7.25)
Kallus: $LSD_{\text{eksplant}} = 3.84^{***}$ EK: $LSD_{\text{eksplant}} = 5.25^{**}$ Embriyo: $LSD_{\text{eksplant}} = 3.58^{***}$			

Parantez içinde verilmiş değerler açış transformasyonu sonrası elde edilmiş değerlerdir.
Ortalamalar arasındaki farklılıklar harflerle gösterilmiştir.
 $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$

Çizelge 4.2. Türlerden oluşan kallus gelişim oranı

Deneme Faktörleri		Tür*Eksplant			Tür		
Tür	Eksplant	Kallus	E. Kallus	Embriyo	Kallus	E. Kallus	Embriyo
<i>C. persicum</i>	Anter	85.03 (37.70)	65.37 a (30.49)	38.74 (20.93)	66.86 a (31.14)	46.15 a (23.77)	21.33 b (13.56)
	Ovül	48.70 (24.57)	26.93 b (17.06)	3.92 (6.19)			
<i>C. cilicium</i>	Anter	83.99 (38.47)	64.00 a (31.28)	48.66 (24.53)	67.42 a (31.84)	44.77 a (23.95)	35.88 a (20.04)
	Ovül	50.85 (25.21)	25.55 b (16.63)	23.10 (15.55)			
<i>C. hederifolium</i>	Anter	36.62 (20.57)	8.31 b (8.17)	4.14 (5.02)	30.10 b (18.17)	15.78 b (11.90)	2.07 c (2.51)
	Ovül	23.58 (15.77)	23.25 b (15.64)	0.00 (0.00)			
Kallus:	$LSD_{\text{tür}} = 4.70^{***}$	$LSD_{\text{tür*eksplant}} = \text{Ö.D.}$					
EK:	$LSD_{\text{tür}} = 6.43^{***}$	$LSD_{\text{tür*eksplant}} = 9.08^{**}$					
Embriyo:	$LSD_{\text{tür}} = 4.38^{***}$	$LSD_{\text{tür*eksplant}} = \text{Ö.D.}$					

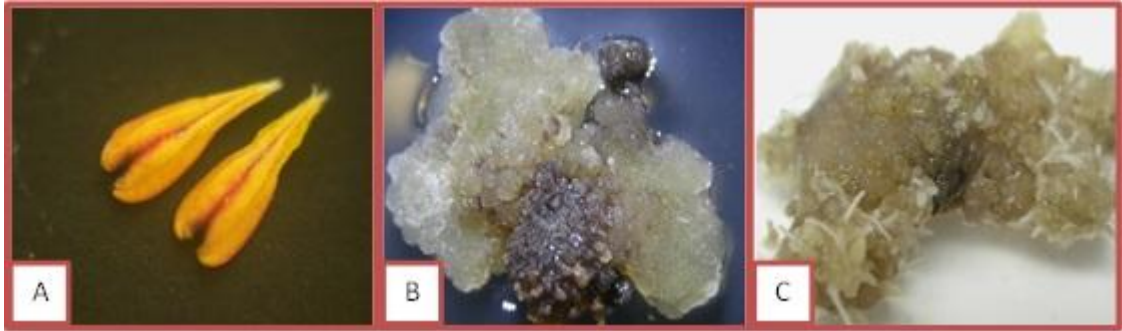
Parantez içinde verilmiş değerler açış transformasyonu sonrası elde edilmiş değerlerdir.
Ortalamalar arasındaki farklılıklar harflerle gösterilmiştir.
 $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$, $P < 0.001^{***}$

C. cilicium eksplantlarından gelişmiş olan kalluslar, çok hızlı olmamakla birlikte en iyi gelişimi sağlamışlardır. Bu da, eksplantların kallus gelişimi için

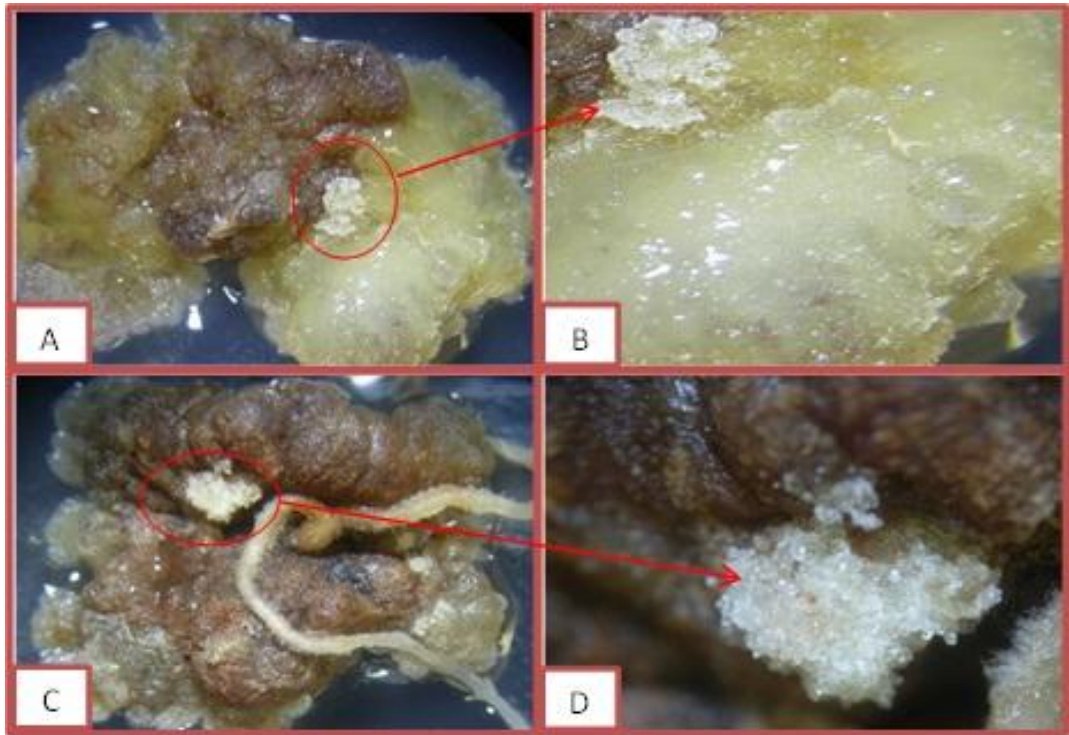
konulduğu ortam içeriğinin bu tür için uygun olduğunu göstermiştir. *C.persicum*'a ait çiçekler, doğadan yeni toplanmış olan bitkilerden sağlanmıştır. Bu yüzden, bu türün eksplantlarından oluşan kalluslar, hem daha erken gelişmiş, hem de hacimsel olarak da büyük bir yapı göstermiştir (Şekil 4.2 ve 4.3). *C.hederifolium*'dan gelişen kallus yapılarının daha koyu kahve renkli ve daha sert yapıda olduğu gözlenirken, diğer iki türde gözlenen kallus yapılarının her iki eksplantta da daha iri ve açık kahverengi oldukları saptanmıştır (Şekil 4.4 ve 4.5).



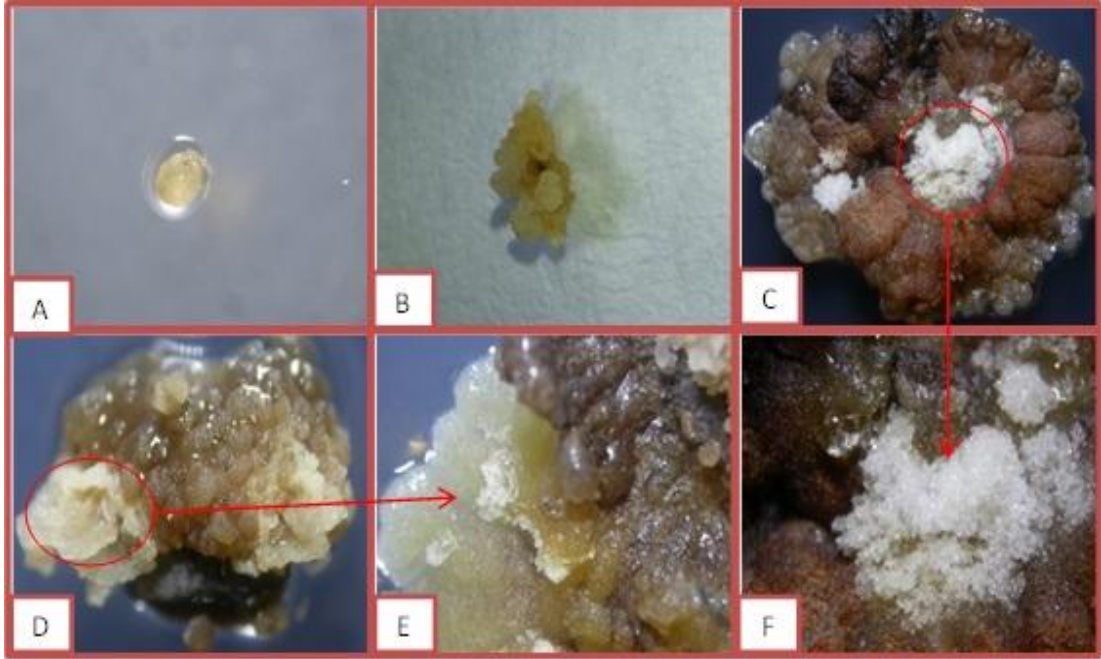
Şekil 4.2. *C. persicum*'un ovül eksplantından gelişmiş olan embriyojenik olan ve olmayan kallus yapıları, A) ovüllerin ortama aktarılmadan önceki toplu görünümü, B) iki ay sonra gelişmiş olan kallus yapısı, C, D, E) farklı boyutlardaki kallus gelişimleri, F,G) embriyojenik yapılar, H,I) embriyojenik kallus üzerinde gelişmiş olan embriyoid yapılar



Şekil 4.3. *C. persicum* anterlerinden oluşan kallus yapıları, A) anter eksplantı, B) anterden oluşan kallus yapısı, C) Embriyogenik kallus yapısının gelişimi

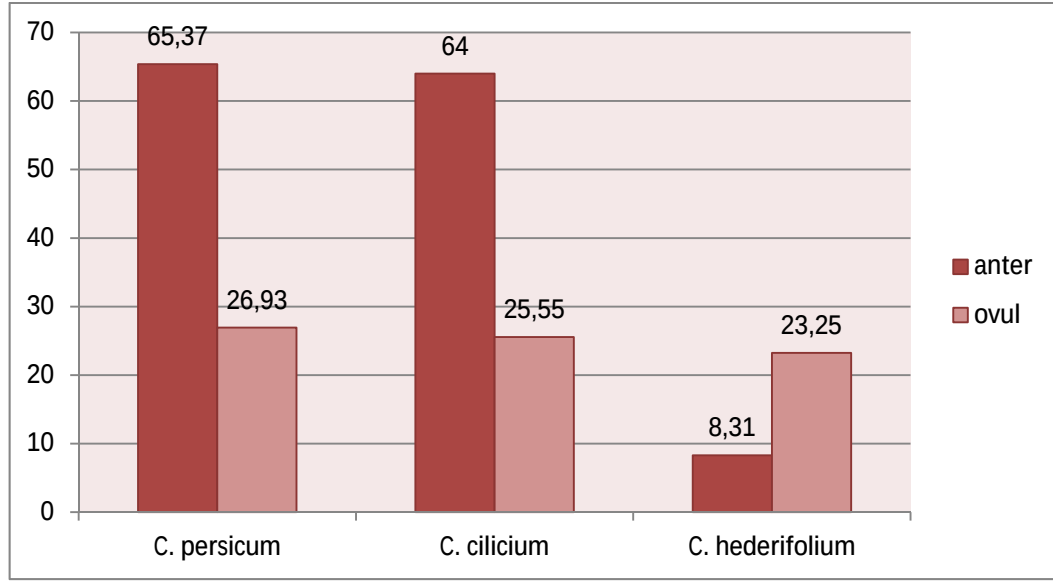


Şekil 4.4. *C. hederifolium*'un anterlerinden gelişen embriyogenik olan ve olmayan yapılar, A) anterden gelişen kallus yapısı, B) embriyoide benzer yapılar, C) farklı anter eksplantından gelişen kallus yapısı D) embriyoid olmayan yapılar



Şekil 4.5. *C.hederifolium*'un ovüllerinden kallus gelişimi, A) ovül eksplantının ortama aktarıldıktan sonraki hacimsel olarak büyümesi, B) gelişmiş olan kallus yapısı, C) farklılaşmış olan kallus yapısı, D) gelişmiş olan embriyojenik yapılar, E) embriyojenik yapıların yakın görünümü, F) embriyojenik olmayan yapılar

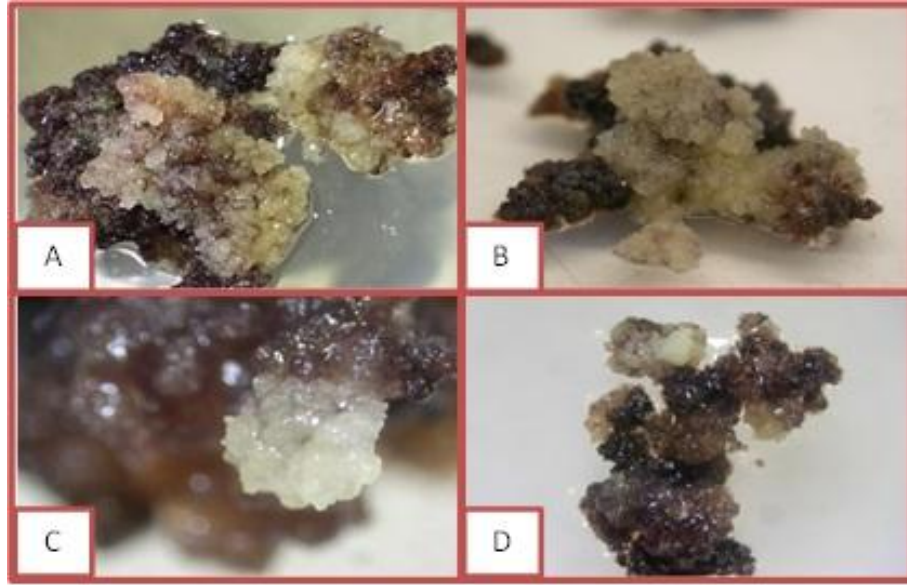
Türler ve eksplantlar arasındaki etkileşim ele alınarak değerlendirildiğinde, iki farklı eksplant tipinde de kallusa dönüşüm oranları istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Türler arasında en yüksek kallus gelişim oranı, *C.persicum*'un anter eksplantında % 85.03 ile saptanırken, onu çok az bir farkla *C. cilicium*' un anter eksplantı, % 83.99 olarak izlemiştir. Diğer değerler ise sırası ile Çizelge 4.2'de sunulmuştur. En düşük kallusa dönüşüm oranı ise *C. hederifolium*'un ovül eksplantından % 23.58 olarak elde edilmiştir (Şekil 4.6)



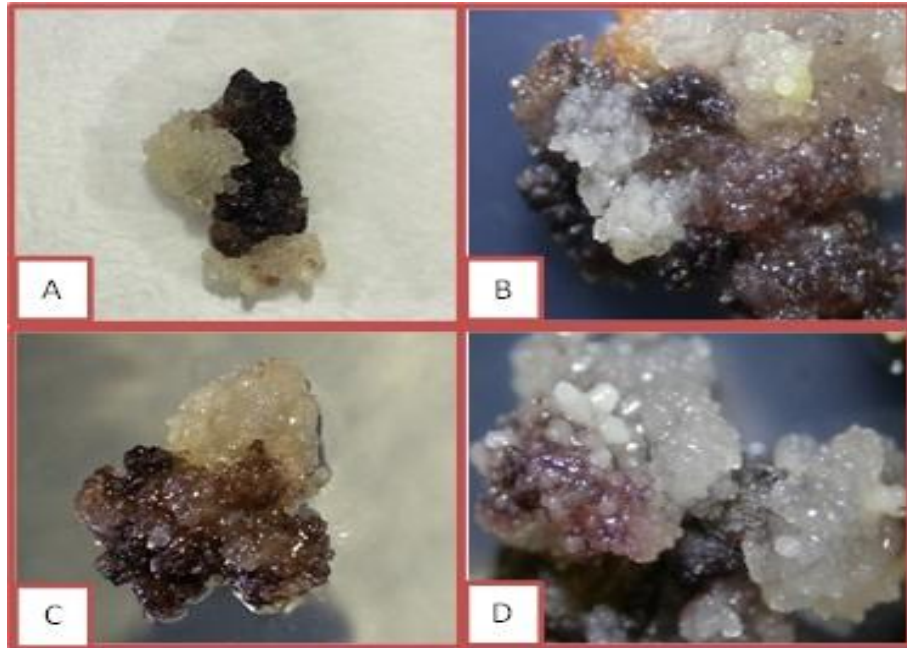
Şekil 4.6. Eksplantlardan oluşan kallus oranları

4.4. Embriyojenik Kallus ve Embriyonun Gelişimi

Denemeye alınan üç türün eksplantlarından, embriyojenik olan ve olmayan yapıların gelişim aşamaları incelenmiştir. Oluşan normal kallus yapılarından herhangi bir embriyo yapısının gelişimi gözlenmezken, ilerleyen aşamalarda farklılaşmış ve gelişmiş olan embriyojenik yapılardan embriyolar elde edilmiştir. Embriyojenik olan ve olmayan kalluslar, renk ve yoğunluğa göre (koyu kahverengiden açık sarıya, yumuşak yapıdan sert yapıya) farklı yapıda kallus oluşumu gösterirken, her iki eksplant tipinde de embriyojenik kallusların genelde açık kahverengi, yumuşak ve dağılgan yapıda oldukları saptanmıştır (Şekil 4.7 ve 4.8).

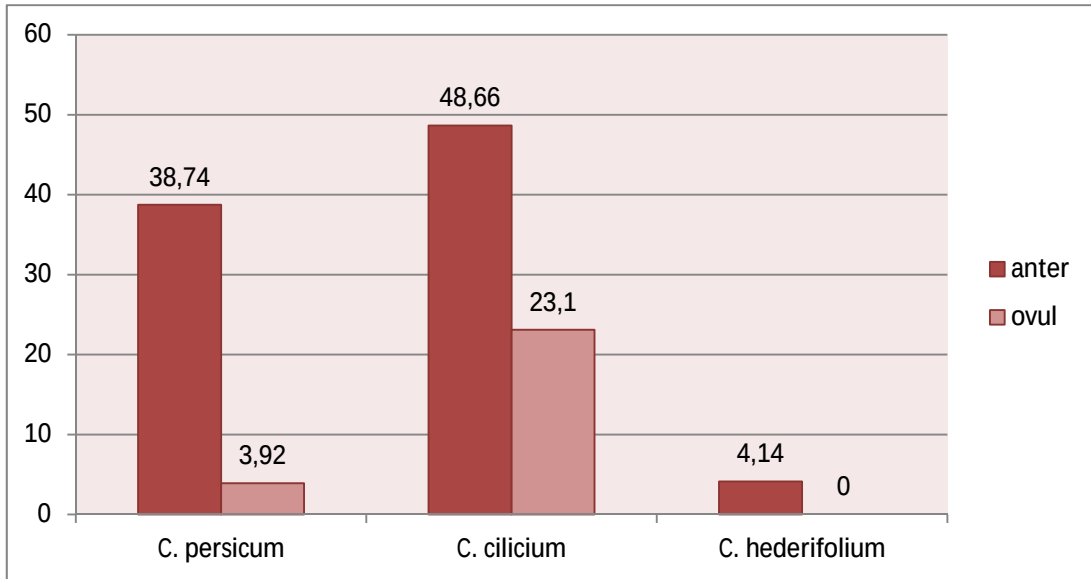


Şekil 4.7. *C. cilicium* anterlerinde embriyogenik kallus gelişimleri, A) kallus yapısının embriyogenik yapılara dönüşümü, B) yumuşak ve dağılgan embriyogenik kallus yapısı, C) kırılgan ve şeffaf kallus yapısı, D) gelişmekte olan embriyogenik yapılar



Şekil 4.8. *C. cilicium*'un ovül eksplantından embriyogenik yapıların gelişimi, A) kırılgan ve şeffaf yapıdaki kallus yapısı, B) farklılaşan yapılar, C) gelişmekte olan embriyogenik kallus yapısı, D) farklılaşmış embriyogenik yapılardan gelişmekte olan embriyoid yapıların görünümü

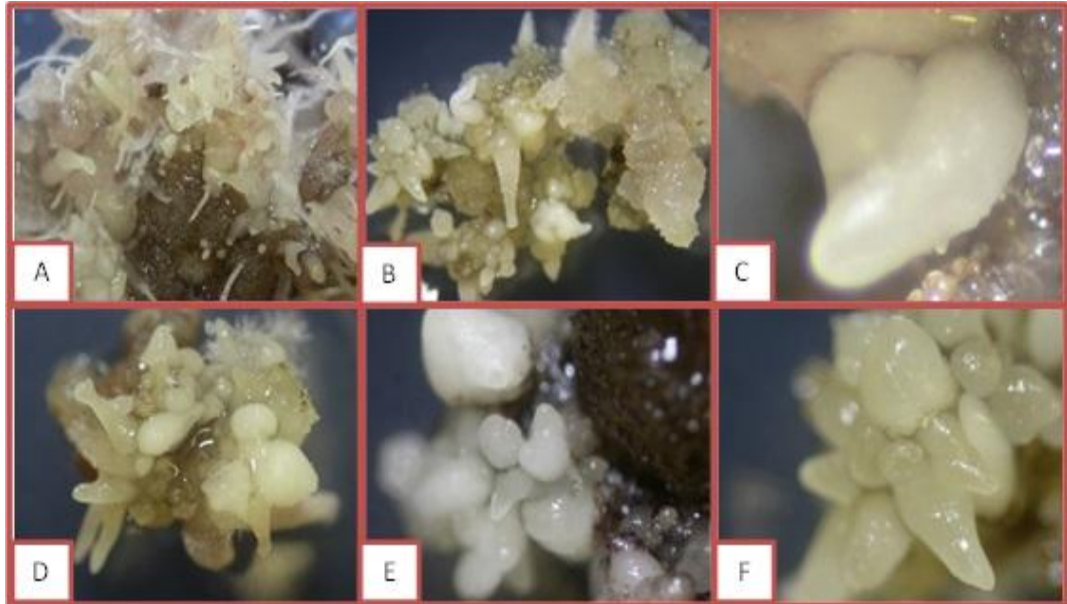
Anter ve ovüllerde embriyojenik yapıların gelişimi ve farklılaşması, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Bu değerler sırası ile anter eksplantında % 45.89, ovüllerde ise % 25.24 olarak bulunmuştur. Bu farklılık, türler arasında *C. persicum* ile *C. cilicium*'da sırası ile % 46.15 ve % 44.77 olarak görünürken, *C.hederifolium*'da %15.78 olarak belirtilmiş ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Ayrıca türler ile eksplant tipinin etkileşiminde embriyojenik yapıların gelişimi gözlenmiş ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek embriyojenik yapı gelişimi, *C. persicum*'un anter eksplantından % 85.37 olarak saptanırken, en düşük gelişim oranı ise *C. hederifolium*'un anter eksplantından % 8.31 olarak gözlenmiştir (Şekil 4.9). Diğer değerler sırası ile Çizelge 4.2'de sunulmuştur.



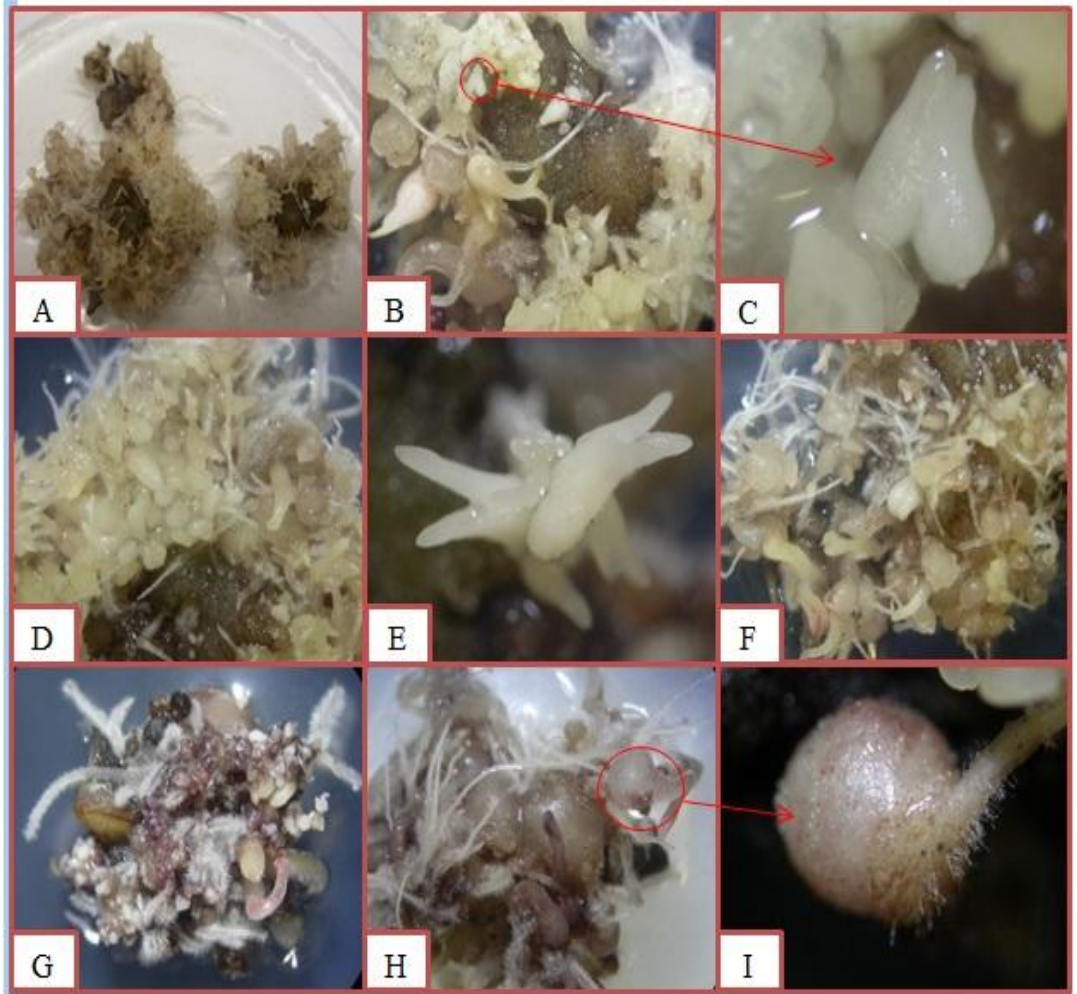
Şekil 4.9. Embriyojenik yapıların gelişme oranları

4.5. Embriyo Oluşumu

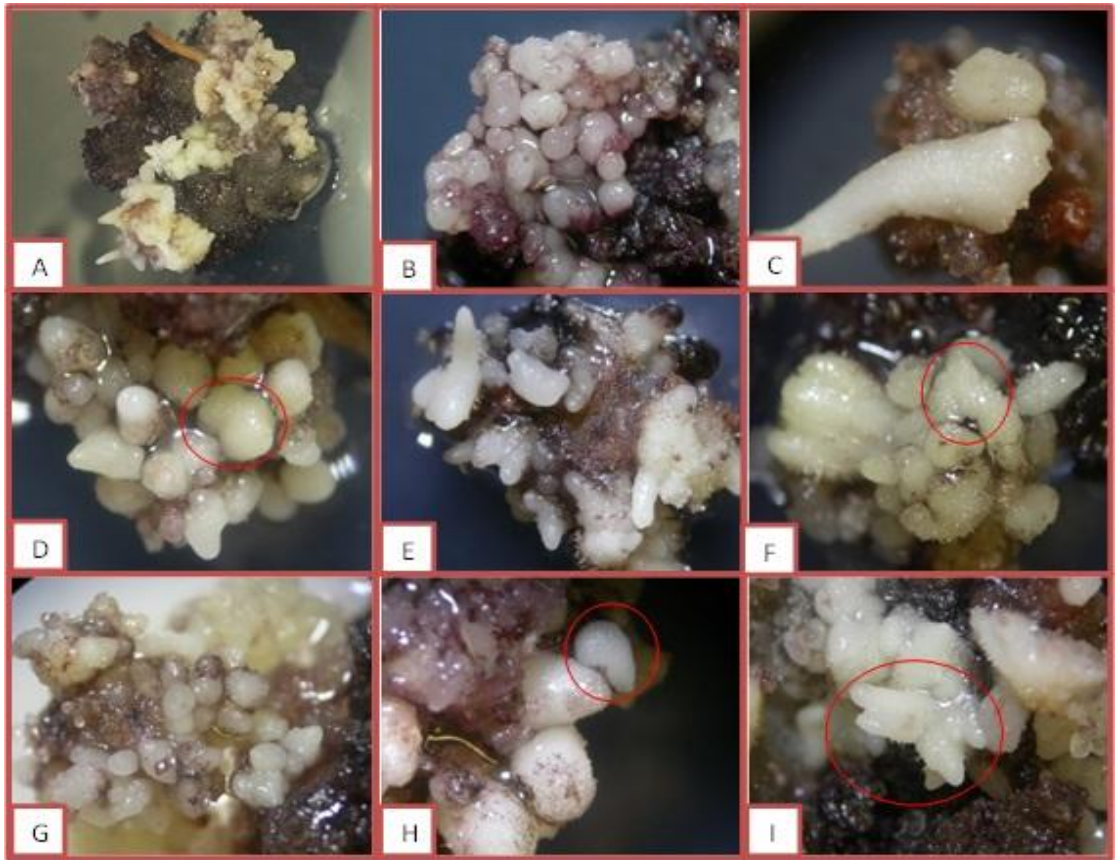
Bu çalışmanın hedefi olarak belirlenen embriyojenik kalluslardan gelişen embriyojenik yapılar, her üç türün 2 farklı eksplantında da incelenmiştir. Sonuç olarak anter ve ovüllerin, indirekt embriyogenesis yöntemi ile embriyo oluşturma potansiyelleri değerlendirilmiş ve elde edilen embriyolar çimlendirilmek üzere hormonsuz ortama aktarılmıştır. Bu embriyoların her üç türün iki eksplant tipinde de gelişme evreleri (globulel, kalp, torpedo, kotiledon) incelenmiştir (Şekil 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14). Farklı eksplant tiplerinde embriyo oluşumu değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. En yüksek embriyo oranı % 30.51 ile anter eksplantından elde edilirken, ovül eksplantından gelişen embriyo değeri % 9.00 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.1). Türler arasında da embriyo yapılarının gelişimleri takip edilmiş ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. En yüksek embriyo gelişimi, % 35.88 ile *C. cilicium*'da gözlenmiştir. *C.persicum* ve *C.hederifolium*'da ise sırası ile % 21.33 ve % 2.07 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).



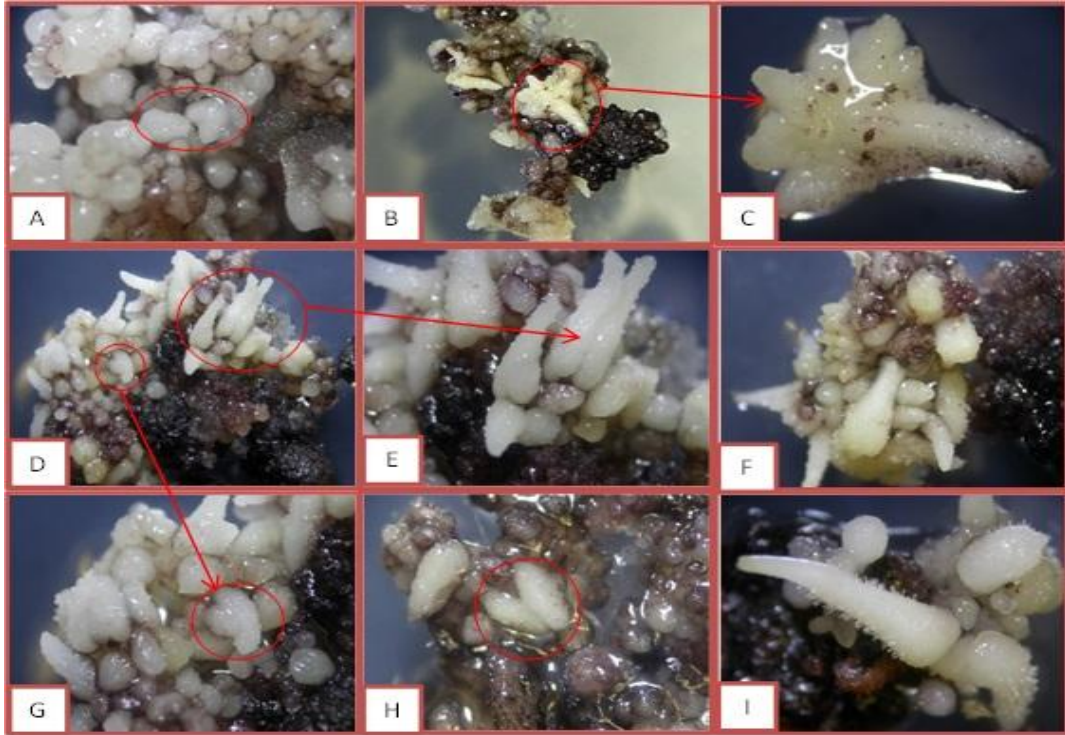
Şekil 4.10. *C. persicum* ovüllerinden gelişen embriyolar, A,B) embriyo yapıları, C) embriyoların kalp safhası, D) embriyoların kotiledon safhası, E, F) embriyoların toplu halde görünümü



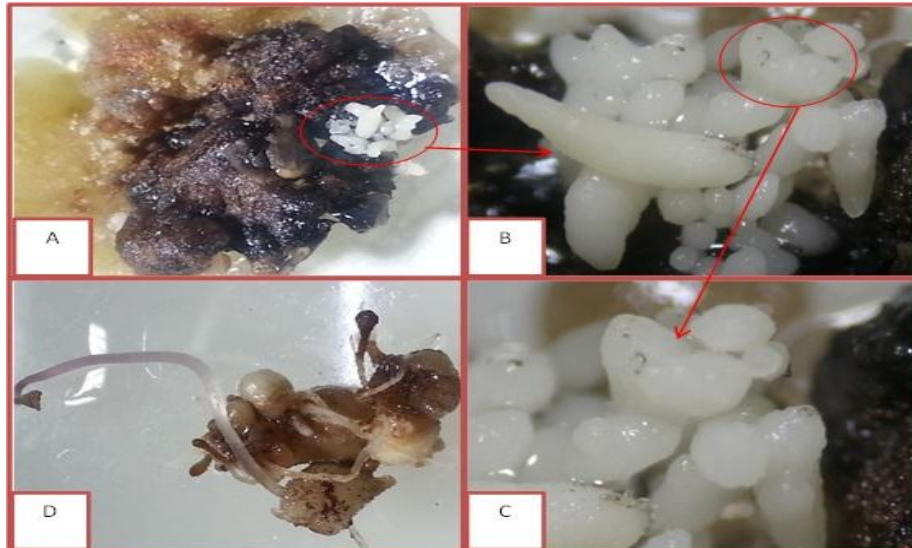
Şekil 4.11. *C. persicum* anterlerinde farklılaşma ve embriyoların çimlenmesi, A) embriyoların toplu halde görünümü, B) embriyoid yapılar, C) kalp safhasında embriyo, E) kotiledon safhasında embriyo, D,F) farklı embriyo yapıları, G) embriyolardan gelişmiş olan sürgün yapıları, H, I) embriyolardan gelişmiş olan yumrular



Şekil 4.12. *C. cilicium*'un anterlerinden gelişmiş embriyolar, A, B, G) embriyoların toplu halde görünümü, C) embriyonun globuler ve torpedo safhası, D,F,H) embriyoların kalp safhası, I) embriyoların kotelidon safhası

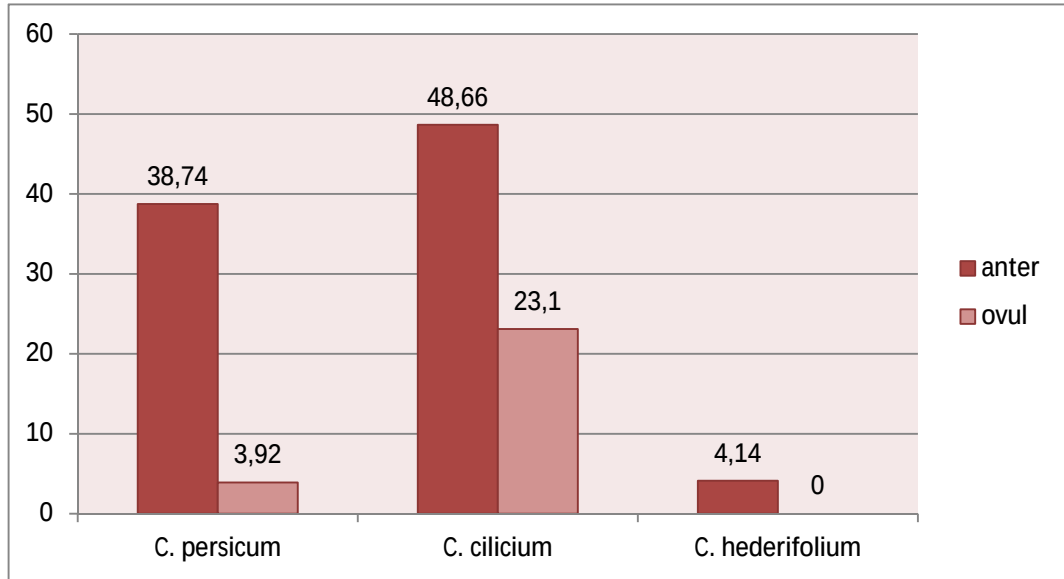


Şekil 4.13. *C. cilicium* ovüllerinden gelişmiş olan embriyo yapıları, A) embriyoların kalp safhası, B,C) embriyonun farklı bir görünümü, D,E) embriyonun torpedo safhası, F) embriyonun kotiledon safhası, G-H) kalp safhasından torpedo safhasına dönüşen embriyo yapıları, I) globuler ve torpedo ve safhasında olan embriyolar



Şekil 4.14. *C. hederifolium* anterlerinden gelişen embriyolar, A) anterden gelişmiş olan embriyo yapıları, B) farklı globuler, kalp ve torpedo aşamasındaki embriyolar, C) kalp aşamasında olan embriyo, D) yumrulardan gelişmekte olan bitkicik

Tür ve eksplantların etkileşimi, istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. En yüksek embriyo oluşumu, *C. cilicium*'un anter eksplantında % 48,66 olarak görülürken, *C. hederifolium*'un ovüllerinden herhangi bir embriyo oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.10). Diğer değerler Çizelge 4.2'de sunulmuştur.



Şekil 4.15. Embriyojenik kalluslardan oluşan embriyoların oran

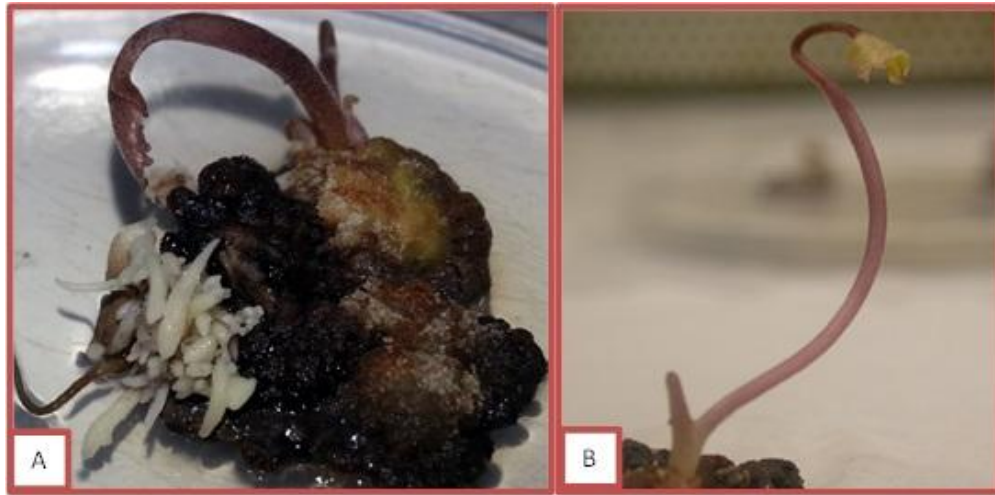
Embriyojenik kallus yapısından embriyo oluşturan eksplantlar, ikinci kültür aşaması olan ve içeriğinde hormon bulundurmamayan besiyerinde farklılaşmıştır. Bazı embriyolar küçük kotiledonlar oluşturarak, bazı embriyolar ise mikro yumru oluşturarak gelişmiştir. Küçük kotiledon oluşturarak gelişmeye başlayan embriyolar daha sonra yumru ve kökler oluşturarak bitkiciklere dönüşmeyi başarmışlardır (Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18).

Embriyojenik kallus yapısından bitkiciğe dönüşüm, anter eksplantında ovüle nazaran daha hızlı sürede gerçekleşmiştir. En yüksek embriyo oluşumu ve bu embriyoların gelişimi *C. cilicium*'da görülmüştür (Çizelge 4.2). Ancak, bu embriyoların bitkiye dönüşümü bu tür'de diğer iki türe göre daha yavaş zamanda gerçekleşmiştir (Şekil 4.16). *C. hederifolium*'da ise sadece anter eksplantında ve düşük oranda embriyo gelişimi gözlenirse de, gelişmiş olan az sayıda embriyolardan bitki gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.17). Ayrıca bu türe ait embriyojenik yapıların üzerinde de küçük bitkiciklerin gelişimi gözlenmiştir. En yüksek ve hızlı bitkiye

dönüşüm, *C. persicum*' un anter eksplantından gelişmiş olan embriyolarda bulunmuştur. Ovül eksplantından her üç türde de henüz bir bitki gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.16. A,B) *C. cilicium* anterlerinden oluşan embriyoların çimlenmesi



Şekil 4.17. A,B) *C. hederifolium* anterlerinden oluşan bitkicikler



Şekil 4.18. A, B, C, D) *C. persicum* anterlerinden gelişen yumru ve bitkicikler

Tez çalışmasında eksplant kaynağı olarak, anter ve ovül kullanılmıştır. Deneme kapsamında, ovül eksplantından embriyojenik kallusların oluşturulması ve oluşan bu kalluslardan embriyoların geliştirilmesinde, Schwenkel ve Winkelmann (1998)'ın belirttiği protokol kullanılmıştır. Bu protokol, kallus geliştirme ortamında 2 mg L^{-1} 2,4-D ve $0,8 \text{ mg l}^{-1}$ 2 iP içeren yarı MS (Murashige and Skoog 1962)'i ve diğer bileşenleri tam konsantrasyonda içermektedir. Her iki eksplant tipi içinde aynı protokol uygulanmıştır. Ancak, Ishizaka ve Umatsu (1993)'nun yapmış oldukları çalışmada, anter kültüründe sakkaroz konsantrasyonunun embriyo gelişimini etkilediği rapor edilmiştir. En iyi sakkaroz konsantrasyonun, anter kültürü için 90 g/l olduğu belirtilmiş, bu çalışmada da anter kültürü için karbon kaynağı olarak sakkaroz, 90 g/l olarak kullanılmıştır. Yüksek sakkaroz konsantrasyonunun etkinliği, farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Keller ve ark., 1975, Powell ve Uhrig, 1987). Ishizaka ve Umatsu (1992) 'da yapmış oldukları çalışmada, % 3 sakkaroz içeren MS ortamından, % 94 oranında bitkicik elde ederek, bu ortamın ovül eksplantı için en iyi ortam olduğunu tespit etmişlerdir. Ishizaka ve Umatsu (1993) da

yaptıkları çalışmada, anterlerin kültüre alındıktan sonraki aşamada soğuk uygulamasının embriyo gelişiminde etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Yürütülen çalışmada da anterler, karanlıkta 2 gün 5 °C’de bekletilmiştir. En yüksek kallus oluşumu, anter eksplantından % 68.54 olarak gözlenmiştir. Daha ilerideki dönemlerde, embriyojenik kallusların gelişmesi de gözlenmiş ve yine anter eksplantından daha yüksek oranda (% 45.89) embriyojenik kallus elde edilirken, ovül eksplantında bu oran % 25.24 olarak bulunmuştur. Embriyo oluşum oranları değerlendirildiğinde ise en yüksek embriyo oluşumu, % 30.51 ile anter eksplantında görülürken, ovül’de % 9.00 oranında embriyo oluşumları gözlenmiştir. Daha sonra embriyolar çimlenmek üzere 30 g/l sakkaroz içeren yarı MS besiyerine aktarılmışlardır. Bazı araştırmacılar da yaptıkları çalışmalarda embriyoların, 30 g/l sakkaroz içeren yarı MS besi yerinde çimlendiklerini belirtmişlerdir (Ishizaka ve Umatsu, 1993; Prange ve ark., 2010).

C.cilicium, *C. hederifolium* ve *C. persicum* türleri arasında, kallus ve embriyo oluşumu açısından farklılık tespit edilmiştir. Bazı bitkilerde yüksek oranda kallus oluşumu ve ardından embriyojenik yapıların gelişmesi ve farklılaşması ile embriyo oluşumu görülürken, bazı eksplantlarda hiç embriyo oluşumu görülmemiştir. Görülen varyasyon sadece bitkiler arasında değil, aynı bitkiye ait eksplantlar arasında da tespit edilmiştir. Türler arasında embriyojenik kallusların gelişimi, anter eksplantında, *C. persicum*, *C. cilicium* ve *C. hederifolium*’da sırası ile % 65.37, % 64.00 ve % 8.31 olarak gözlenmiştir. Aynı zamanda, bu farklılık türler arasında ovül eksplantında da yine *C. persicum*, *C. cilicium* ve *C. hederifolium*’da sırası ile % 26.93, % 25.55 ve % 23.25 olarak bulunmuştur. En yüksek embriyo oluşumu ise tüm türlerin anter eksplantında gözlenmiştir. Türlerin anter eksplantından embriyo oluşumu, sırası ile *C. cilicium*, *C. persicum* ve *C. hederifolium*’da, % 48.66, % 38.74, % 4.14 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu türlerin ovül eksplantlarından da anter e göre daha düşük oranda embriyo oluşumu gözlenmiştir. Bu oranlar, en yüksek *C. cilicium*’da % 23.10 olarak, ardından en düşük *C. persicum*’da % 3.92 oranında saptanmış, ancak *C. hederifolium*’un ovüllerinden herhangi bir embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Bütün bitkilerde ve eksplant tiplerinde, embriyojenik olan ve embriyojenik olmayan kallus yapıları oluşmuştur. Oluşan kalluslar, renk ve yoğunluk

açısından farklı yapılar göstermişlerdir. Koyu kahve renginden açık sarıya, yumuşak yapıdan sert yapıya değişen özelliklerde kallus oluşumu görülmesine rağmen, embriyogenik kallusların genellikle açık kahverengi, yumuşak ve dağılgan yapıda oldukları tespit edilmiştir. Ovül eksplantından oluşan kallus yapıları ile ilgili aynı bulgular Winkelmann (2005) 'nın çalışmasında da rapor edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tez çalışmasında, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü serasında daha önceden toplanmış olan *C. hederifolium* ve *C. cilicium* ve ayrıca kampus alanında doğal olarak yetişen ticari olmayan *Cyclamen persicum* türüne ait bitkilerden çiçekler eksplant kaynağı olarak toplanmış ve bu türlere ait anter ve ovüller iki farklı eksplant tipleri olarak denenmiştir. Deneme sonucunda, farklı eksplant tiplerinden oluşan kallus, embriyojenik kallus ve embriyo yüzdeleri tespit edilmiştir. Ayrıca embriyojenik kallus yapı ve özellikleri ile embriyoların gelişim aşamaları incelenmiştir. Elde edilen verilere göre her iki eksplant tipinde de embriyojenik kallus ve embriyojenik yapıların oluşması ve gelişmesi gözlenirken, embriyo oluşumu, ovül eksplantında daha düşük oranda olmakla birlikte, *C. hederifolium*'un ovül eksplantından herhangi bir embriyo elde edilememiştir. En yüksek kallus, embriyojenik kallus ve embriyo oluşumu, anter eksplantından elde edilmiştir. Aynı değerlendirmeler bitki bazında yapıldığında ise çalışılan üç türün hepsinde kallus gelişimi ve embriyojenik yapıların gelişmesi gerçekleşirken, en iyi embriyo oluşumu *C. cilicium* ve *C. persicum*'un özellikle anter eksplantlarından elde edilmiştir. Bu türlerde belirli başarı oranını etkileyen faktörlerin başında ortam koşulları, eksplantların alındığı dönemler ve bitki materyallerinin taze olması gelmektedir. Ancak, *C. hederifolium*'un ovül eksplantından herhangi bir embriyo gelişimi gözlenmemiştir. Çalışmada embriyojenik kallusların genellikle açık kahverengi, yumuşak ve dağılgan yapıda oldukları tespit edilmiştir.

Sıklamen bitkisi, saksılı süs bitkisi olarak süs bitkileri ticaretine Dünya'da ve Türkiye'de önemli katkı sağlamaktadır. Ancak bu cinsin bir çok türü olmasına rağmen genellikle *C.persicum*'un ticareti yapılmaktadır. Ayrıca sıklamen bitkisinin ticareti doğadan direk sökümlü şeklinde olduğu için ve başka faktörlerin etkisi ile bu bitkinin nesli de tehlike altına girmektedir. Sıklamenin süs bitkileri içindeki konumu ve potansiyeli ve mevcut bitki tahribatı nedeni ile bu türler üzerine bilimsel çalışmaların yapılması, bu türlerin geliştirilmesi ve ekonomiye kazandırılması önem içermektedir. Son zamanlarda ise sıklamenin bazı yabancı türleri, araştırmacıların

dikkatini çekmektedir. Yabani türlerin özelliklerinden faydalanmak için bu türlerin doğrudan ıslah çalışmaları yapılarak yeni çeşitlerin geliştirilmesi söz konusu olabileceği gibi bu türlere ait özelliklerin çeşitli teknikler kullanılarak *Cyclamen persicum*'un genetik havuzuna katılması da düşünülmektedir.

Yapılan bu tez çalışması sonucu elde edilen bilgiler ışığında yapılması önerilen çalışmalar;

1. Bu çalışma kapsamında yetiştirilen embriyolar bitkiye dönüştürülerek, ploidi seviyelerinin tespit edilmesi yararlı olacaktır.
2. Sıklamenin farklı türlerinde de haploidizasyon çalışmaları gerekmektedir. Daha sonra bu haploid bitkiler, farklı kimyasallarla katlanarak dihaploid saf hatlar oluşturulup genetik havuz genişletilebilir.
3. Dihaploid saf hatlar kullanılarak, ileride kaliteli ve yeni çeşitler geliştirmeye yönelik ıslah çalışmaları için basamak oluşturulabilir.
4. Sıklamen, çok geniş bir genetik varyasyon göstermektedir. Bu nedenle farklı bitkiler farklı potansiyeller gösterebilecektir dolayısı ile daha geniş coğrafik alanlardan alınan bitkiler üzerinde çalışılmalıdır.
5. Bu çalışma kapsamında kullanılan bitkilerde farklı besiyerleri, farklı hormonların konsantrasyonları ve kombinasyonları denenebilir.
6. Anter kültürünün potansiyelini arttırılabilen gümüş nitrat, aktif karbon gibi farklı kimyasallar denelenebilir.

KAYNAKLAR

- ABAK, K. 1993. Biber Islahında Anther Kültüründen Yaralanma. Bitki Islahı Simp. Bildirileri, T B TAK TOAG Yay., 59-66. ANON M, 2012
- ALTAY, H., MÜFTÜOĞLU, N. M., 2004. The effects of varying applications of nitrogen, phosphorus and potassium on the size of *Cyclamen hederifolium* corms grown in peat medium. International Soil Congress (ISC) on ‘‘Natural Resource Management for Sustainable Development’’. June 7-10, 2004, 28-33, Erzurum - Turkey.
- BACH, A., MALIK, M., ZOLNECZKO, B., 1998. Organogenesis and somatic embryogenesis in cultures of *Cyclamen persicum* Mill. F-1 'medium'. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 40: 47-51.
- BAJAJ, Y.P.S., 1983. *In vitro* production of haploids. In: Handbook of Plant Cell Culture (eds: Evans, D.A., Sahrp, W.R., Ammirato, P.V., Yamada, Y.). Macmillan Publishing Company, Vol. 1., Chapter 6: 228-287.
- BHOJWANI, S.S., RAZDAN, M.K., 1983. Plant tissue culture. Theory and Practise. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 502 p.
- B LGE, E., 1982. Genetik. İstanbul Üniversitesi Yayınları. No: 2886, Fen Fak. Yay. No: 163–316 s.
- BOSSARD R., 1960. Culture Florales. 19, rue Hautefeuille, PARIS. crops. In: Plant Germplasm Conservation: Perspectives for the 2000. pp. 83–99
- BOZTOK,  ., 2002. Siklamen (*Cyclamen persicum*)’de    eklenme  zerine Giberellik asidin etkisi. Ege  niv. Ziraat Fak. Dergisi, 39(3): 1-8.
- CHAMBONNET, D., 1988. Production of haploid pepper plants. Bulletin Interne de la Station d’Amélioration des Plantes Maraich res d’Avignon-Montfavet, 1-10.
- CYCLAMEN SOCIETY 2008. <http://www.cyclamen.org/index> CS. Html (04.08/2013)
- ÇAĞLAR, G., ABAK, K., 1999. Farklı hıyar genotiplerinde ışınlanmış polenlerle uyartım yoluyla haploid embriyo ve bitki eldesi. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt II: 159–162.

- DAVIS, P. H., 1978. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, University Press, Edinburgh Vol. 6.
- DE GROOT, N. S. P., 1998. Floriculture worlwide trade and consumption patterns. World Conference on Horticultural Products, Rome, 1-20 june, 75-98.
- EKİM, T., 1990. Bitkiler, Türkiye'nin Biyolojik Zenginlikleri Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını, Ankara.
- EKİM, T., KOYUNCU, M., GÜNER, A., ERİK, S., YILDIZ, B., VURAL, M., 1991. Türkiye'nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerinde Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar, T. C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, İşletme ve Pazarlama Daire Başkanlığı, O. E. M. Eğitim Dairesi Başkanlığı Yayın ve Tanıtma Şube Müdürlüğü Matbaası, Ankara.
- EMİROĞLU, Ü., 1980. Türk tütün çeşitlerinde anther kültürü. Bitki Islahı Sempozyumu (22-25/5/1979). Ege Bölge Zirai Araştırma Enst. Yay. No: 17/41, 12-18.
- EMİROĞLU, Ü., 1982. Haploidi ve Bitki Islahındaki Önemi. Ege Ü.Z.F. Yayınları, Yardımcı Ders Kitabı. Yayın No: 450. Bornova, İzmir. 38 Sayfa.
- EMİROĞLU, Ü., GÜREL, A., 1993. Bitki ıslahında modern biyoteknoloji. Short Course, The Biotechnology Revaluation. February 8-12, 1993. Organized by Ege Univ. Biotech. Cent and Fac. of Agr. Dept. of Crop Sci., İzmir, 103-110.
- GEMESNE, J.A., BALOGH, P., FERENCZY, A., 2002. Effect of Optimal Stage of Female Gametophyte and Heat Treatment on in vitro Gynogenesis Induction in Cucumber (*Cucumis sativus L.*).
- GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKİM, T., BASER, K.H.C. 2000. Flora of Turkey (Supplament II), Vol.11, 656 p, Edinburgh.
- GÜRSAN, K., ERKAL, S., 1998. "Dünyada ve Türkiye'de Süs Bitkileri Üretim ve Ticaretindeki Gelişmeler", I. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, Bildiriler Kitabı, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, 1-11, Yalova.
- HERMSEN, J.G.T., RAMANA, M.S., 1981. Haploidy and plant breeding. Phill. Trans. R. Soc. Lond. B., Vol. 292: 449-507.

- HOHE, A., WINKELMANN, T., H.-G. SCHWENKEL, 2001. Development of embryo in *Cyclamen persicum* in liquid culture. Gartenbauwissenschaft, 66, 219–224.
- HOSEMANS, D., BOSSOUTROT, D., 1983. Induction of haploid plants from *in vitro* culture of unpollinated beet ovules (*Beta vulgaris* L.). Z. Pflanzenzüchtg, Berling, 91. 74-77.
- ISHIZAKA, H. AND UEMATSU, J., 1992. Production of interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* Mill and *C. hederifolium* Aiton by ovule culture. Japanese Journal of Breeding, 42 (2). 353-366.
- ISHIZAKA, H., UEMATSU, J., 1993. Production of plants from pollen in *Cyclamen persicum* Mill through anther culture. Japanese Journal of Breeding, 43(2). 207-218.
- ISHIZAKA, H., UEMATSU, J., 1995. Amphidiploids between *Cyclamen persicum* Mill and *C purpurascens* Mill induced by treating ovules with colchicine *in vitro* and sesquidiploids between the amphidiploid and the parental species induced by conventional crosses, Euphytica, 86(3): 211-218.
- ISHIZAKA, H., 1996. Interspecific hybrids of *Cyclamen persicum* and *C graecum*, Euphytica , 91(1): 109-117.
- ISHIZAKA, H., 1998. Production of microspore-derived plants by anther culture of an interspecific F-1 hybrid between *Cyclamen persicum* and *C purpurascens*, Plant Cell Tissue and Organ Culture, 54(1): 21-28.
- JALALI, N., NADERI, R., BABALAR, M., MIRMASOUMI, M., 2010a. Somatic embryogenesis in *Cyclamen* with two explants and combinations of plant growth regulators. Hort. Environ. Biotechnol. 51, 445–448.
- KARAKULLUKÇU, Ş., ABAK, K., 1993a. Patlıcanda anther kültürü üzerine araştırmalar. I. Elverişli tomurcuk gelişim döneminin belirlenmesi. Doğa Tr. J. Agric. Forestry, 17: 801–810.
- KARAKULLUKÇU, Ş., ABAK, K., 1993b. Patlıcanda anther kültürü üzerine araştırmalar. II. Şeker ve büyümeyi düzenleyicilerin etkileri. Doğa Tr. J. Agric. Forestry, 17: 811–820.

- KARAM, N.S., M. MAJATHOUB. 2000. *In vitro* shoot regeneration from mature tissue of wild *Cyclamen persicum* Mill. Scientia Horticulturae. 86(4): 323-333.
- KELLER W.A., RAJIATHY, J., 1975. *In vitro* production of plants from pollen in *Brrasica C.J. Genet. Cytol.* 17:655-666.
- KHUSH, G. S., VIRMANI, S. S., 1996. Haploids in plant breeding. *In vitro* Haploid Production in Higher Plants, In: S. M. Jain, S.K. Sopory& R.E. Veilleux (eds.), Vol. 1, 11-33
- KIVIHARJU, E., TUOMINEN, U., TORMALA, T., 1992. The effect of explant material on somatic embryogenesis of *Cyclamen persicum* Mill. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 28(2) : 187-194.
- KOYUNCU, M., EKİM, T., 1984. Türkiye'nin İhraç Ettiği Geofitler ve Bunların Ekonomik Önemi, V. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 15-17 Kasım, Ankara.
- KOYUNCU, M., 1994, Geofitler Bilim ve Teknik, TÜBİTAK Yayını, Cilt 27; Sayı 321, Pro- Mat Basın Yayını A. Ş., Ankara.
- KUCKUCK, H., KABABE, G., WENZEL, G., 1991. Fundamentals of plant breeding. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- KURTAR, E.S., 1999. Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) haploid embriyo uyartımı ve bitki oluşturma üzerine araştırmalar. Ç. Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bit. Anabilim Dalı. Doktora Tezi. 203 sf.
- LESPINASSE, Y., GODICHEAU, M., DURAN, M., 1983. Potential value and method of procuding haploids on apple tree, *Malus pumila* (Mill.) *in vitro* culture. Acta Horticulturae, 131. 223-230.
- MATHEW B., ÖZHATAY N., 2001. Türkiye'nin Siklamenleri, Türkiye'de Doğal Olarak Yetişen Siklamen Türlerinin Tanıtım Rehberi, Doğal Hayatı Koruma Derneği, İstanbul, s.32.
- MOHANNAD, A. M., KARAM, N.S., 2000. *In vitro* propagation of wild *Cyclamen persicum* Mill. from seedling tissue. 530: 243-251.
- MURASHIGE T., SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant, 15.473-497

- MÜFTÜOĞLU, N. M., ALTAY, H., TÜRKMEN, C., 2006b. Kazdağlarında Tanınması ve Korunması Gereken Bir Değer *Cyclamen hederifolium*. Kazdağları 2. Ulusal Sempozyumu, 22-25 Haziran 2006, 89-97, Çanakkale.
- NHUT, DT., THU, BTM., VINH, BVT., VAN BINH, N., LUAN, VQ., (2012). Thin cell layer technology in regeneration and micropropagation of *Cyclamen Persicum* Mill. Propagation of Ornamental Plants of 12(2): 89-95, 2012
- NITSCH, C., 1981. Production of isogenic lines: Basic Technical Aspects of Androgenesis. In: Plant Tissue Culture. Methods and Applications in Agriculture (ed: T.A. Thorpe), 241–252.
- ÖZATAY, N., 2000. Yabani Siklamenler. Sky Life : 1-2.
- PIERIK, R.L.M., 1989. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, 344 p. ROGERS, S., 2003. Tissue culture and wetland establishment of the freshwater monocots *Carex*, *Juncus*, *Scirpus*, and *Typha*. *In vitro* Cell Dev Biol-Plant 39: 1–5.
- POCHARD, E., DUMAS DE VAULX, R., 1979. Haploid parthenogenesis in *Capsicum annum* L. Reprinted from the biology and taxonomy of the Solanaceae (eds: Hawkins, G., Lester, Shelding, A.D.). Linnean Society Symp., Series No: 7, 455-472.
- POWELL, W., UHIRIG, H., 1987. Anter culture of solanum genotypes. Plant Cell Tiss. org.cult. 11;13
- PRANGE A.N.S., BARTSCH M., SEREK M, WINKELMANN T. (2010) Regeneration of different *Cyclamen* species via somatic embryogenesis from callus, suspension cultures and protoplasts. Scientia Horticulturae, 125.442–450.
- SANGWAN, R.S., SANGWAN-NORREL, B.S., 1990. Anther and pollen culture. In: Plant tissue culture: Appl. and Limit. (ed: Bhojwani, S.S.). Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, The Netherlands, Chapter 9: 220–242.
- SARI, N., ABAK, K., PITRAT, M., DUMAS DE VAULX, R., 1992. Kavunlarda (*Cucumis melo* L. var. *inodorus* Naud ve *C. melo* L. var. *reticulatus* Naud) partenogenetik haploid embriyo uyartımı ve bitki eldesi. Doğa Tr. J. Agric. Forestry, 16: 302–314.

- SARI, N., ABAK, K., PİTRAT, M., DUMAS DE VAULX, R., 1994. Induction of parthenogenetic haploid embryos after pollination by irradiated pollen in watermelon. HortScience, 29, 10: 1189-1190.
- SAVONA, M., B. RUFFONI, A. GIOVANNINI, M.M. ALTAMURA. 2007. *Cyclamen persicum* Mill cv. 'Halios': Somatic embryogenesis and phenotypic analysis of somatic embryo-derived plants. Proceedings of the 22nd International Eucarpia Symposium Section Ornamentals: Breeding for Beauty, Pt II . Acta Horticulturae. 743:91-97.
- SCHWENKEL, WINKELMANN, H., (1998). Plant regeneration via somatic embryogenesis from ovules of *Cyclamen persicum* Mill., Plant Tiss. Cult. Biotechnol. 4 (1): 28 - 34
- ŞEHİRALİ, S., ÖZGEN, M., 1998. Bitki Islahı. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yay. No: 1059, 261 s.
- TAKAMURA, T., MIYAJIMA, I., MATSUO, E., 1995. Somatic embryogenesis of *Cyclamen Persicum mill* Anneke from Aseptic Seedlings. Plant Cell Reports. 15(1-2): 22-25.
- T. TAKAMURA, SAKAMOTO, K., HORIKAWA, M., 2010. Effect of carbon source on in vitro plant regeneration in anther culture of *cyclamen* (*Cyclamen persicum* Mill.)
- YEUNG, E.C., THORPE, A.T., 1981. *In vitro* fertilization end embriyo culture. In: Plant Tissue Culture. Methods and Aplications in Agriculture (ed: Thorpe, A.T.), Acedemic Pres Inc. New York, 253–271.
- WENZEL, G., 1985. Strategies in unconventional breeding for disease resistance. Ann. Rev. Phytopat., 23: 149-172.
- WIDMER, R. E., 1980. Introduction to floriculture. Ed. Larson, R. Department of Horticultural Science North Carolina State University Raleigh, North Corolina.
- WINKELMANN T, SEREK, M., 2005. Genotypic differences in callus formation and regeneration of somatic embryos in *Cyclamen persicum* Mill. Euphytica 144:109–116

- WINKELMANN, T., PRANGE, A.N.S., SPECHT, J., SEREK, M., 2006. Morphological characterization of plants regenerated from protoplasts of *Cyclamen Persicum* mill. Propagation of Ornamental Plants. 8(1): 9-12.
- WINKELMANN, T., 2010. Clonal Propagation of *Cyclamen persicum* Via Somatic Embryogenesis *Protocols for In vitro Propagation of Ornamental Plants*, Methods in Molecular Biology, vol. 589
- YILDIRIM, M., AKÇAL, A., KAYNAŞ, K., 2009. The response of *Cyclamen hederifolium* to water stress induced by different irrigation levels. African Journal Of Biotechnology Volume: 8 Issue: 6 Pages: 1069-1073. Sempozyumu Bildiri Özetleri. 15-17 Ekim, İzmir. Sayfa:64.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İran’da doğdu. 2011 yılında Urumiyeh Üniversitesinden Bitki Koruma Bölümüünden mezun oldu. 2012 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı ve 2014 yılında ve halen aynı Anabilim Dalında Yüksek Lisansını devam etmektedir.