



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**FARKLI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN IN VITRO
KOŞULLARDA ÜRETİLEN AK ZAMBAK (*Lilium candidum* L.)
BİTKİLERİNİN BAZI ÖZELLİKLERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Veli Murat Can ÇELEBİ

Danışman: Doç. Dr. Yasin Bedrettin KARAN

TOKAT- 2023

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Yasin Bedrettin KARAN danışmanlığında hazırlamış olduğum “**Farklı Büyüme Düzenleyicilerinin In Vitro Koşullarda Üretilen Ak Zambak (*Lilium candidum* L.) Bitkilerinin Bazı Özelliklerine Etkileri**” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

25/08/2023

Veli Murat Can ÇELEBİ

JÜRİ KABUL VE ONAY



ÖZET
FARKLI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN İN VITRO KOŞULLARDA
ÜRETİLEN AK ZAMBAK (*Lilium candidum* L.) BİTKİLERİNİN BAZI
ÖZELLİKLERİNE ETKİLERİ

Çelebi, Veli Murat Can
Yüksek Lisans, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yasin Bedrettin KARAN
Ağustos 2023, XII + 51 sayfa

Orta Asya'dan Akdeniz bölgesine kadar geniş bir bölgede yayılış gösteren ak zambak bitkisi; soğanlı bitkiler içinde önem arz etmektedir. Ülkemiz florasında doğal yayılış alanlarına sahiptir. Ak zambak bitkisinin soğanlarının dikilerek çoğaltılması; üretim sürecini uzatmakta, maliyetleri artırmakta ve doğal yayılışını yavaşlatmaktadır. Uygun olmayan yöntemlerle doğadan toplanması, bilinçsizce soğanlarının sökülmesi doğada ak zambak plantasyonunun azalmasına neden olmaktadır. Bu çalışma ile sanayide, kozmetikte, tıp alanında kullanılan akzambak bitkisinin in vitro mikro çoğaltım yöntemiyle hızlı bir şekilde çoğaltıp, eksplant başına düşen sürgün sayısı, sürgün ağırlığı, sürgün büyüklüğü, bitki boyu, yaprak sayısı, yaprak ağırlığı, kök sayısı gibi verim ve verimle ilgili parametreler bakımından incelenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada, sitokinin olarak TDZ (Thidiazuron) ve oksin olarak NAA (Naftelen asetik asit), IBA (Indol Bütirik asit) kullanılmıştır. Farklı TDZ ve NAA dozları kullanılarak üç farklı muamele hazırlanmıştır. *Lilium candidum* bitkisi üzerinde yaptığımız doku kültürü çalışmasında 0.6 TDZ + 0.2 NAA eklenen kültür ortamında en yüksek sürgün sayısı görülmüş, 1 mg/L IBA ve 1,5 mg/L NAA eklenen kültür ortamında verimi daha yüksek bitkiciklerin yetiştiği görülmüştür. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinde, en fazla kök boyu 1 mg/L IBA eklenen ortamda, en fazla yaprak boyu ise 1 mg/L IBA dozunun ilave edildiği muamele ve 1 mg/L NAA dozunun ilave edildiği muameleden elde edilmiştir.

Bu çalışma, doku kültürü uygulamaları ile üretilen ak zambak bitkileri, bitkinin yayılışını hızlandıracak ve yetiştiriciliğine katkı sunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Ak Zambak, İn Vitro Mikroçoğaltım, Bitki Büyüme Düzenleyicileri, Verim

ABSTRACT

EFFECTS OF DIFFERENT PLANT GROWTH REGULATORS ON SOME CHARACTERISTICS OF WHITE LILY (*Lilium candidum* L.) PLANTS PRODUCED UNDER IN VITRO CONDITIONS

Celebi, Veli Murat Can

Master of Science Degree Thesis, Department Of Field Crops

Thesis Advisor: Assoc. Dr. Yasin Bedrettin KARAN

August 2023, XII + 51 pages

White lily plant, which is spread in a wide area from Central Asia to the Mediterranean region; It is important among bulbous plants. It has natural distribution areas in the flora of our country. Propagation of the white lily plant by planting its bulbs; It lengthens the production process, increases costs and slows down its natural spread. Collecting it from nature with inappropriate methods and unconsciously removing its bulbs cause the decrease in white lily plantations in nature. In the present study, the white lily plant, which is used in industry, cosmetics and medicine, was rapidly propagated by in vitro micropropagation method and yield and yield parameters such as the number of shoots per explant, shoot weight, shoot size, plant height, number of leaves, leaf weight, root number were examined. In the study, TDZ (Thidiazuron) was used as cytokinin and NAA (Naphthelene acetic acid) and IBA (Indole Butyric acid) were used as auxins. Three different treatments were prepared using different doses of TDZ and NAA. In the tissue culture study, we conducted on the *Lilium candidum* plant, the highest number of shoots was observed in the culture medium added to 0.6 TDZ + 0.2 NAA, it was observed that more productive plantlets grew in the culture medium to which 1.5 mg/L NAA was added. In in vitro white lily plants taken outdoors, the maximum root length was obtained in the medium with 1 mg/L IBA, and the maximum leaf length was obtained from the treatment with 1 mg/L IBA dose and the treatment with 1 mg/L IBA and 1,5 mg/L NAA dose. This study will accelerate the spread of white lily plants produced through tissue culture method and contribute to its cultivation.

Keywords: White Lily, In Vitro Micropropagation, Plant Growth Regulators, Yield

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim boyunca her türlü destek, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, akademik ve yaşantım üzerinde büyük emeği olan danışman hocam Doç. Dr. Yasin Bedrettin KARAN'a, yine bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, Prof. Dr. Kenan YILDIZ' a en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca tez çalışmamda yardımları olan Pervin Nafia ŞEN' e ve bölüm öğrencilerine de teşekkür ederim. Hayatımın her anında yanımda olan, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme minnet ve şükranlarımı sunarım.



Veli Murat Can ÇELEBİ
2023

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME	I
JÜRİ KABUL VE ONAY.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
ÖNSÖZ	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
KISALTMALAR	XI
1.GİRİŞ	1
1.2. Soğanlı Bitkilerde Çoğaltım Yöntemleri	5
1.3. Doku Kültürü ile Üretim Yöntemleri	6
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	8
2.1. Modern Tıp Alanında Çalışmalar.....	8
2.1.1. Bitkide ve Uçucu Yağında Bulunan Maddeler	9
2.2. İn Vitro Çoğaltım Alanında Çalışmalar	9
2.2.1. Bitki Büyüme Düzenleyiciler.....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal	14
3.2. Deneme Alanı.....	14
3.3. Çalışma Yöntemi.....	14
3.3.1. Alet ve Ekipman Hazırlığı	15
3.3.2. Soğan Eksplantlarının ve Kültür Ortamın Hazırlığı.....	17
3.3.3. Köklendirme Ortamına Alınması	20
3.3.4. Eksplantların Tam Kontrollü Sera Ortamına (Ex Vitro) Aktarılması.....	21
3.4. Gözlem Alınması	23
3.4.1. Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı (adet)	24

3.4.2. Eksplant Başına Düşen Sürgün Ağırlığı (mg).....	25
3.4.3. Eksplant Başına Düşen Sürgün Büyüklüğü (mm)	25
3.4.4. Bitki Ağırlığı (mg)	25
3.4.5. Bitki Boyu (cm).....	25
3.4.6. Yaprak Sayısı (adet).....	25
3.4.7. Yaprak Ağırlığı (mg).....	25
3.4.8. Yaprak Boyu (cm).....	25
3.4.9. Kök Sayısı (adet).....	25
3.4.10. Kök Boyu (cm).....	26
3.4.11. Kök Ağırlığı (mg)	26
3.4.12. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Kök Boyları (cm):.....	26
3.4.13. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak zambak Bitkilerinin Yaprak Boyları (cm): ..	26
3.5. Verilerin Analizi ve Değerlendirilmesi	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı (adet).....	27
4.2. Eksplant Başına Düşen Sürgün Ağırlıkları (mg)	28
4.3. Eksplant Başına Düşen Sürgün Büyüklüğü (mm)	30
4.4. Bitki Ağırlığı (mg)	31
4.5. Bitki Boyu (cm).....	32
4.6. Yaprak Sayısı (adet).....	34
4.7. Yaprak Ağırlığı (mg).....	35
4.8. Yaprak Boyu (cm).....	37
4.9. Kök Sayısı (adet).....	38
4.10. Kök Boyu (cm).....	40
4.11. Kök Ağırlığı (mg)	41
4.12. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Kök Boyları (cm):.....	43
4.13. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Yaprak Boyu (cm):	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR	48

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge No	Sayfa
Çizelge 1.1. Doğadan toplanarak ihracatı yasak olan çiçek soğanları.....	2
Çizelge 1.2. Ak zambak (<i>Lilium candidum</i>) bitkisinin bilimsel sınıflandırılması.....	5
Çizelge 3.1. Doku kültürü ortamında kullanılan TDZ ve NAA kombinasyonları.....	18
Çizelge 3.2. Köklendirmeye alınan eksplantlara hazırlanan IBA konsantrasyonları.....	20
Çizelge 4.1. Eksplant başına düşen sürgün sayılarına ait varyans analiz sonuçları.....	26
Çizelge 4.2. Eksplant başına düşen sürgün sayısına ait istatistiksel analizler.....	27
Çizelge 4.3. Eksplant başına düşen sürgün ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	28
Çizelge 4.4. Eksplant başına düşen sürgün ağırlığına ait istatistiksel analizler.....	28
Çizelge 4.5. Eksplant başına düşen sürgün büyüklüğüne ait varyans analiz sonuçları...	29
Çizelge 4.6. Eksplant başına düşen sürgün büyüklüğüne ait istatistiksel analizler.....	29
Çizelge 4.7. Bitki ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	30
Çizelge 4.8. Bitki ağırlığı ait istatistiksel analizler.....	31
Çizelge 4.9. Bitki boyuna ait varyans analiz sonuçları.....	32
Çizelge 4.10. Bitki boyuna ait istatistiksel analizler sonuçları.....	32
Çizelge 4.11. Yaprak sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	33
Çizelge 4.12. Yaprak sayısına ait istatistiksel analizler sonuçları.....	34
Çizelge 4.13. Yaprak ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	35
Çizelge 4.14. Yaprak ağırlığına ait istatistiksel analizler.....	35
Çizelge 4.15. Yaprak boyuna ait varyans analiz sonuçları.....	36
Çizelge 4.16. Yaprak boyuna ait istatistiksel analizler.....	37
Çizelge 4.17. Kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	38
Çizelge 4.18. Kök sayısına ait istatistiksel analizler.....	38
Çizelge 4.19. Kök boyuna ait varyans analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.20. Kök boyuna ait istatistiksel analizler.....	40
Çizelge 4.21. Kök ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.22. Kök ağırlığına ait istatistiksel analizler.....	41

Çizelge 4.23. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin kök boylarına ait varyans analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.24. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının kök boyuna etkileri (cm).....	43
Çizelge 4.25. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin yaprak boyuna ait varyans analiz sonuçları.....	43
Çizelge 4.26. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının kök ağırlığına etkileri (mg).....	44



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1.1. Ak zambak bitkisinin çiçekleri.....	5
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan ak zambak soğanları.....	14
Şekil 3.2-3.3. Çalışmada kullanılan otoklav makinası ve otoklav işlemi.....	15
Şekil 3.4-3.5. Doku kültürüne alınacak olan ak zambak soğanlarından pul yaprakların ayrılması ve seçimi.....	16
Şekil 3.6-3.7. Çalışma kullanılan ak zambak soğanlarının deterjanla yıkanması ve durulanması.....	17
Şekil 3.8-3.9. Eksplantın alındığı steril kabin ve eksplantın uygun besi ortama aktarılması.....	18
Şekil 3.10-3.11. Eksplantların alınması ve iklim odasına aktarılması.....	19
Şekil 3.12-3.13. İklim odasındaki bitkilerin büyüme aşamaları ve kallus oluşumu.....	20
Şekil 3.14-3.15. Sera ortamına dikilecek olan ak zambak bitkileri ve tüplerden alınan bitkilerin saksılara dikilmesi.....	20
Şekil 3.16-3.17. Sera ortamına dikilen in vitro ak zambak bitkilerinin 8 hafta sonraki görünüşleri.....	20
Şekil 3.18. Doku kültüründe yetiştirilen ak zambak bitkisinden alınan gözlemler.....	25
Şekil 4.1. Eksplant başına düşen sürgün sayısının değişimi (adet).....	27
Şekil 4.2. Eksplant başına düşen sürgün ağırlığının değişimi (mg).....	28
Şekil 4.3. Eksplant başına düşen sürgün büyüklüğünün değişimi (mm).....	30
Şekil 4.4. Bitki ağırlığı değişimi (mg).....	31
Şekil 4.5. Bitki boyu değişimi (cm).....	33
Şekil 4.6. Yaprak sayısı değişimi (adet).....	34
Şekil 4.7. Yaprak ağırlığı değişimi (mg).....	36
Şekil 4.8. Yaprak boyu değişimi (cm).....	37
Şekil 4.9. Kök sayısı değişimi (adet).....	39
Şekil 4.10. Kök boyu değişimi (cm).....	40
Şekil 4.11. Kök ağırlığı değişimi (mg).....	41
Şekil 4.12. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin kök boyları (cm).....	43
Şekil 4.13. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin yaprak boyları (cm).....	44

KISALTMALAR

LS: Linsmaier ve Skoog besi ortamı
MS: Murashige ve Skoog besi ortamı
WS: Wolter ve Skoog besi ortamı
WPM: Woody Plant Medium besi ortamı
DKW: Driver ve Kuruyuki besi ortamı
SH: Shenk ve Hildebrand besi ortamı
GD: Gresshoff ve Doy besi ortamı
DL: Durzan ve Lopushansk besi ortamı
BAP: 6-Benzil amino pürin
NAA: Naftalen asetik asit
TDZ: Thidiazuron
IBA: İndol-3-bütirik asit
IAA: İndol-3-asetik asit
GA3: Gibbellek asit
HCl: Hidroklorik asit
BA: 6-Benzil adenin
NOAA: Naftoksi asetik asit
FOAA: Fenoksi asetik asit
FAA: Fenil asetik asit
g/L: gram/Litre
mmol: Milimol
µm: Mikrometre
µM: Mikromolar

1.GİRİŞ

İnsanların ve insanlığın yaşam alanı olan Dünya, fazlaca genetik yapıları barındırmaktadır. Çeşitli sebeplerden dolayı tahribat artmakta, birçok tıbbi aromatik bitkiler arz-talep dengesinin bozulması ile yok olma sorunu ile karşı karşıyadır. *L. candidum* bitkisi de Dünya ve Türkiye doğasından kaybolmak üzeredir (Şahin, 1993).

L. candidum milattan önceki bin yıla dayanan bir geçmişe ve kültüre sahiptir. İnsanlar yaşamları boyunca; tıbbi, uçucu yağ, zambak suyu, süs bitkisi ve gıda alanında kullanmıştır. Romalıların dini ritüellerinde kullanıldığı ve Ak zambak bitkisi yetiştiriciliği yapıldığına dair bilgilere ulaşılmaktadır (Uzun, 1984). Ayrıca tarih boyunca halk hekimliğinde ve birçok alanda kullanılmıştır. Osmanlı'da jinekolojik rahatsızlıklar için kullanılan bitkiler arasındadır (Ögenler, 2018). Çin'de çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan yenilebilir önemli bir bitkidir (Jin ve ark., 2012). Yine modern tıpta az kullanılmasına rağmen yaraları iyileştirici, antioksidan, analjezik ve antienflamatuvar etkileri doğrulanmıştır (Vachalkova ve ark., 2000). Yapılan bazı çalışmalarda *L. Candidum* ekstratlarının antitümör etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Tokgün ve ark., 2012). Ayrıca kültür ve edebiyatta da önemli yer tutarken son 50 yılın dünya açısından önemli çiçek soğanlarındandır (Ziolkowski, 2018). Düşük hacimli ve yüksek değerli olan zambak çeşitleri Hollanda'da başta olmak üzere birçok ülkede önem görmekte ve yetiştirme alanları hızla artmaktadır (Betties ve White, 1993).

Türkiye, tıbbi aromatik bitkiler açısından önem arz eden ülkeler arasında olduğu gibi birçok bitki için gen merkezi de sayılmaktadır. Ak zambak bitkisi çoğunlukla Güneybatı Anadolu Bölgesi, Muğla, Balıkesir bölgelerinde belirlenmiştir (TÜBİVES 2012; Davis 1978,1984). Ak zambak bitkisinin doğadan düzensiz bir şekilde toplanması ve soğanların sökülmesi bu bitkinin yayılmasına engel oluşturmuş, doğal florada giderek azalmasına neden olmuştur. Ülkemizde tıbbi bitkilere verilen önemin artmasıyla bitkilerde çeşitlendirmeye yönelik ıslah çalışmaları artmış; soğanlı tıbbi ve aromatik bitkiler (salep, göl soğanı, yılan bıçağı, zambak ve ters lale gibi) de yeni kültür bitkileri olarak değerlendirilmektedir (Sağlam ve ark., 2016). Ak zambak, ülkemiz açısından endemik bitki özelliği taşımasa da bilinçsizce sökülmesinden dolayı, Ulusal ve Uluslararası “zarar görebilir” tehlike kategorisine alınmıştır. Ayrıca Türkiye Kırmızı Kitabı'nda çeşitli tehlike kademelerine bazı *Lilium* türleri alınmış olup, doğadan sökülmesi yasaklanmıştır

(Çizelge 1.1). Fakat ak zambak bitkisinin yasaklanan türler içinde bulunmaması nedeniyle tahribat devam etmektedir. Bunun yanı sıra, 2019 yılında “Biyokaçakçılık” üzerine yapılan bir çalışmada endemik bulunan bitki ve hayvanların gerekli izin ve onay alınmadan toplatılıp yurt dışına kaçırılması ülkemizdeki endemik, tıbbi ve aromatik bitkiler için tehdit unsuru olduğu belirtilmiştir. 150’den fazla alkaloid içeren ve tıbbi bitki olma özelliği taşıyan zambak türleri de gün geçtikçe sayılarının azalmasının yanı sıra doğadan uygunsuz toplanılması ve biyokaçakçılık etmeniyle karşı karşıyadır (Dayıoğlu ve ark., 2019).

Çizelge 1.1. Doğadan toplanarak ihracatı yasak olan çiçek soğanları (Kaynak: Anonim, 2010)

<i>Allium</i> (Yabani soğan) türlerinin hepsi
2- <i>Crocus</i> (Çiğdem) türlerinin hepsi
3- <i>Fritillaria</i> türleri (<i>F. persica</i> , <i>F. imperialis</i> hariç)
4- <i>Lilium</i> (Zambak) türleri (<i>L.candidum</i> ve <i>L. martagon</i> hariç)
5- <i>Muscari</i> (Muskari) türlerinin hepsi
6- <i>Sternbergia</i> (Kara çiğdem) türleri (<i>S.lutea</i> hariç)
7- <i>Tulipa</i> (Lale) türlerinin hepsi
8- <i>Eminium</i> türlerinin hepsi
9- <i>Biarum</i> türlerinin hepsi
10- <i>Nympheaceae</i> (Nilüfer) familyasına dahil türlerin hepsi
11- <i>Orchidaceae</i> (Salep) familyasına dahil türlerin hepsi
12- <i>Arum</i> (Yılanyastığı) türlerinin hepsi (<i>Arum italicum</i> , <i>Arum dioscorides</i> hariç)
13- <i>Pancratiun maritimum</i> (Kum zambağı)
14- <i>Hyacinthus orientalis</i> (Şark sümbülü)
15- <i>Gentiana lutea</i> (Censiyan)
16- <i>Cyclamen</i> (Sıklamen) türleri (<i>C. coum</i> , <i>C. cilicium</i> ve <i>C. hederefolium</i> hariç)
17- <i>Galanthus</i> (Kardelen) türleri (<i>G. elwesii</i> ve <i>G. woronowii</i> hariç)
18- <i>İris</i> (Süsen) türleri
19- <i>Paeonia</i> (Şakayık) Türleri
20- Diğer yumrulu ve soğanlı türler

Kimyasal yapısında bulundurduğu organik asitler, glikozitler, alkaloidler, tanenler, sabit ve uçucu yağlardan dolayı *L. Candidum*'un kullanım alanını giderek artırmaktadır. Uçucu yağ, kozmetik, tıp, antiseptik ve gıda açısından giderek önem kazanmakta yenilebilir süs bitkisi özelliğini de taşımaktadır. Ak zambak bitkisi; tıbbi-aromatik, süs bitkisi ve dış mekan süs bitkisi alanlarında belirli bir potansiyele sahiptir (Özcan, 2019). Bu açıdan önlemler artırılmalı, ak zambak bitkisi üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmalıdır.

Liliaceae familyasından *Lilium* cinsi dünyada 100 tür içermekle beraber yayılış alanı açısından kuzey yarıkürede, ılıman kuşakta görülmektedir. Ülkemizde ise Karadeniz iklimine sahip olan bölgelerde rastlanmaktadır. Buna nazaran *L. candidum* Akdeniz bölgesi ve Akdeniz iklimine sahip bölgelerde yayılış göstermektedir. Doğal florada az bulunması, pahalı hammadde olması *L. candidum*'un araştırmalarını sınırladığı gibi bu alanda araştırma maliyetlerini de arttırmaktadır (Daneshvar-Royandazagh ve ark., 2014). Batı Anadolu'da yetiştiriciliği yapılırsa da çoğaltım zorlukları, üretim maliyetleri *L. candidum*'un kültür yetiştiriciliğini zorlu hale getirmekte ve yetiştiriciler hammadde ihtiyacını karşılaması güç hale gelmektedir. Bu gibi sorunlar tıbbi ve aromatik bitki yetiştiriciliğinde yeni arayışları beraberinde getirmiştir. Bu açıdan biyoteknolojik gelişmeler ve doku kültürü çalışmalarına verilen önem giderek artmıştır.

Ak zambak bitkisi eşeyli ve eşeysiz çoğaltımı yapılmakta olup, çiçek ve soğan üretiminin gerçekleştirilmesi güç ve zaman almaktadır. Bu bitki üzerinde yapılan biyoteknolojik çalışmalar, çoğaltımı ve kültüre alınmasında önemli yer tutmaya başlamıştır. Doku kültürü, vejetatif çoğalmada alternatif bir yöntemdir. Hastaliksız bitki üretmek, genetik gelişim sağlamak ve başarılı melezler elde etmek için yaygın bir şekilde doku kültürü uygulamaları kullanılmaktadır. Bu yöntemler; küreselleşen dünyada, birçok sorunun çözümünde kullanılmakta, tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen sekonder metabolitleri daha kullanışlı, kaliteli bir hale getirmektedir.

Günümüzde tıbbi ve aromatik bitkilere olan önemin artması, verimli ve kaliteli ürün elde etme gereğini de beraberinde getirmiştir. Yine bu bitkilerin çoğaltımında yeni biyoteknolojik yöntemlerin uygulanması ve modernize yetiştiriciliğin gelişmesi için yapılan çalışmalar giderek artmıştır. Yılmaz ve Çiftçi (2021), bu durumu şu şekilde ifade etmektedir: “Tıbbi ve aromatik bitkilerin rutin yaşam koşullarındaki gerekliliği ve önemi hiçbir zaman azalmayacak ve akademik camiâ içerisindeki popülerliğini daima

koruyacaktır” (Yılmaz ve Çiftçi, 2021). 2012 yılında yapılan bir çalışmada *Lilium* cinsine dahil olan 8 takson incelenmiş, önemli bir kültür bitkisi sayılarak ekonomik olarak değer kazanması için doku kültürü çalışmalarıyla desteklenmesi gerektiği belirtilmiştir. Ve bu çalışmada *L. candidum*’un palinolojik ve morfolojik özelliklerine göre Türkiye’de ki taksonlarının incelenmesi gerektiği belirtilmiştir (Demirel, 2012).

Yaptığımız çalışmada *Lilium candidum*’un doku kültürü ile hızlı ve verimli bitkicikler üretilmesi, elde edilen bitkilerin sera ortamına alınıp en uygun koşullarda yetiştirilmiştir. Bu doğrultuda çalışmamız doku kültürü ve biyoteknolojik çalışmalar ile in vitro koşullarda mikroçoğaltım yapılarak, hızlı üretim sağlamak, pazarlanabilir soğan eldesine katkı sağlamak ve doku kültürü ile çoğaltılan *L.candidum*’un verim ve verimle ilgili parametreler açısından araştırılmasına katkı sağlayacaktır.

1.1. *Lilium candidum* L.

L. candidum çok yıllık, soğanlı odunsu bir bitkidir. *Liliacea* familyasındandır (Çizelge 1.2). Geniş, oval, pullu ve sarı soğanlara sahiptir (Eisenreichova, 2004). Halk tarafından ak zambak, mis zambağı, beyaz zambak olarak bilinir. Kökleri sarımsı beyaz ve tüylüdür. Kar beyazı renkli, güzel kokuludur. Renginden dolayı eski çağlarda saflığı ve temizliği simgeleyen nadir bitkilerdendir (Şekil 1.1). Ak zambak bitkisi 2-12 yapraklıdır (Davis, 1988). Bir *Lilium* soğanında yaklaşık 50 pul bulunmakta, dikildiğinde önce aşağı yönde kök kısmı oluşmaktadır. Toprak altı aksamı olarak ak zambak soğanları; dayanıklı olan kabuksuz 3-5 cm boyutlarındadır. Daha sonra diğer aksamlar gelişmekte olup 40-50 cm uzamaktadır. Çiçeklerinde üçlü çanak yapraklar görülmektedir (Gürsan, 2014). Çiçekleri Mayıs-Haziran aylarında açmakta, 11-12 cm büyüklüğüne ulaşmaktadır. Dünyada yaklaşık 100 *Lilium* türü bulunmakta, Avrupa, Çin, Kuzey Amerika ve Kafkasya’da yayılış göstermektedir (Karakaş, 2021). Ülkemizde Doğu ve Batı Anadolu’da doğal florada yetişmekte, az da olsa kültür yetiştiriciliği yapılmaktadır. Tıbbi ve aromatik sayılan ak zambak aynı zamanda gıda ve süs bitkileri alanında da oldukça önem görmektedir. Yine bitkinin yapraklarından elde edilen uçucu yağlar ve sekonder metabolitler birçok alanda kullanılmaktadır.

Çizelge 1.2. Ak zambak (*Lilium candidum*) bitkisinin bilimsel sınıflandırılması

Şube	Angiosperma
Alt Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Monocotyledoneae
Familya	Liliacea
Alt Familya	Liliidae
Cins	<i>Lilium</i>
Tür	<i>Lilium candidum</i>



Şekil 1.1. Ak zambak bitkisinin çiçekleri

1.2. Soğanlı Bitkilerde Çoğaltım Yöntemleri

Ak zambak bitkisi soğanları ile yayılış göstermektedir. Toprak altı aksamda bulunan ak zambak soğanları, şubat mart aylarında çimlenmeye başlar ve yeni küçük soğanların çıkmasını teşvik eder. Yeni çıkan soğanlar kat kat ve oval görünümündedir. Gelişme göstermiş ak zambak soğanı pul yaprak soğanlarından oluşmaktadır. Bir ak zambak soğanında yaklaşık 50 adet pul yaprak soğanı bulunmaktadır (Kahraman, 2014).

Soğanlı bitkilerde; yavru soğanlarla çoğaltma, gelişmiş ocakların bölünmesiyle çoğaltma, yavru kormlarla çoğaltma, hava soğanları ile çoğaltma, soğan pullarıyla çoğaltma, tohumdan çoğaltma ve çapraz kesim yöntemi ile çoğaltma yapılmaktadır. Ak zambak bitkisinde daha çok soğan pullarıyla çoğaltım yapılmaktadır. Bu yöntem ile çoğaltım yapıldığında çiçek oluşumu 3-5 yıl sürebilmektedir (Karaoğlu, 2010). Ak zambak yetiştiriciliği bu anlamda gerilemekte, doğal florada azalmaktadır. Bu anlamda yeni uygulama ve yöntemlerin yetiştiriciliğe büyük katkısı olacak, neslinin tükenme tehlikesi olan ak zambak bitkisinin çoğaltılması hususunda faydalı olacaktır.

1.3. Doku Kültürü ile Üretim Yöntemleri

Bitki doku kültürü yöntemi; çoğaltımında zorluk yaşanan, nesli tükenmekte olan ve ticari değeri yüksek olan bitkilerin hızlı çoğaltımında kullanılan üretim yöntemidir. Bitkilerin çeşitli kısımlarından alınan eksplantların (doku parçası) sterilize edilip, steril besi ortamına alınıp, belirli şartlar (uygun sıcaklık, ışık, nem) altında kültüre alınmasıdır. Alınan doku parçalarının gelişim göstermesi için alınan makro ve mikro besinlerin bulunduğu besi ortamları, WS, MS, WPM, DKW, SH, GD, DL, LS ortamlarıdır. Bitkilerin gelişim düzeyini artırmak için oksinler, giberellinler, etilenler ve absisik asitler kullanılmaktadır. Doku kültürü ortamında ise oksinler ve sitokininler tercih edilen büyüme gruplarındandır (Phillips, 2019).

Doku kültürü ve in vitro teknikleri; hızlı üretim ve hastalıklara, kuraklığa, herbisitlere ve soğuğa dayanıklı bitki eldesi gibi olanaklar sunmaktadır. Bunun yanında daha dayanıklı bitkiler üretilebilir, genetik çeşitlilik korunup saklanabilir, haploid bitkiler üretilebilir gençleştirme yapılabilir. Günümüzde organ kültürü, embriyo kültürü, hücre ve protoplast kültürü ile gen aktarımı kullanılmaktadır (Dinçer ve ark., 2016).

Mikroçoğaltım; eksplant seçimi ve sterilizasyon, kültür başlangıcı, oluşan sürgünlerin çoğaltılması, sürgünlerin gelişiminin devamında köklendirilmesi ve dış ortama alıştırması evresi olarak 5 aşamada yapılmaktadır. Doku kültürü ile çoğaltım uygulamalarının avantaj ve dezavantajları göz önünde bulundurulmalı ve dikkat edilmesi gereken hususlardır. Doku kültürü vejetatif olarak çoğaltması güç olan bitkilerin çoğaltılması, üretilen bitkiye yeni özellikler kazandırılması, küçük alan ve düşük enerjide stok bitkilerin korunması ve çoğaltılması gibi avantajlar sunarken, özel bir alana ihtiyaç

duyulması, kontaminasyon ve üretilen bitkilerin dış ortama alışmama gibi dezavantajları da mevcuttur (Aydın ve ark., 2021).

Bu çalışma ile akzambak bitkisinin soğanlarından, steril şartlarda farklı bitki büyüme düzenleyicilerle modifiye edilmiş besi ortamlarından elde edilen in vitro bitkilerin verim ve verimle ilgili parametreler bakımından incelenerek, en iyi verim elde edilen ortamın belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Modern Tıp Alanında Çalışmalar

L.candidum tarihten beri halk hekimliğinde kullanılan tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Enflamatuvar rahatsızlıkların etkilerini azaltmada, yanık ve iltihap tedavilerinde kullanılırken yaraları iyileştirici, antioksidan, analjezik ve antienflamatuvar etkilerinin varlığı doğrulanmıştır (Vachalkova ve ark., 2000). *L.candidum* 'un bu alanda kullanımının olması modern tıp için fikir verici ve araştırmacılara yeni çalışma olanakları sunmaktadır. Aromaterapi, fitoterapi de uçucu yağı kullanılmaktadır. Kalp atışlarını düzenlediği, göz hastalıklarına iyi geldiği, kulak iltihaplarını azalttığı ve uykusuzluk sorununa iyi geldiği belirtilmiştir (Anonim, 2017). Örümcek sokması tedavisinde, kök ve yaprakları kullanılırken reçel, çay, soğan suyu gibi çeşitli kullanımları mevcuttur (Patil ve ark., 2021).

L. candidum'un tıbbi faydaları üzerine yapılan birçok çalışma mevcuttur. 1998 yılında yapılan bir çalışmada zambak yapraklarının süte batırılması ve soğanlarının kaynatılmasıyla elde edilen karışımın göğüs hastalıklarında kullanıldığı, çiçeklerinden yapılan yağların mastitis tedavisinde kullanıldığı ve alkolde bekletilen yapraklardan yara iyileştirici ürünler elde edildiği belirtilmiştir (Kuroda ve ark., 1998). Yanıklar, cilt hastalıkları, mide rahatsızlıkları, kas ağrıları ve jinekolojik sorunlarda kullanılmakta, bitkide çok sayıda başka sitotoksik, antitümör, hepatoprotektif ve antienflamatuvar etkiler gösteren önemli biyoaktif maddelerin olduğu bildirilmektedir (Akpınar, 2023). 2013 yılında yapılan bir çalışmada *Lilium candidum*'dan elde edilen ekstraktların meme kanseri hücrelerinde bulunan MCF7 hücreleri üzerinde sitotoksik etkileri olduğu ve bu ekstraktların anti tümör etkisinin H22 tümör taşıyan farelerde, tümör büyümesini inhibe eden polisakkaritlerden olabileceği belirtilmiştir (Han ve ark., 2013). Tokgün (2012)'ün yaptığı benzer bir çalışmada da *L. candidum*'dan elde edilen ekstratların insanda meme kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etkilere sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Tokgün ve ark., 2012). Günümüzdeki çalışmalarda ise yanık ve ülserlere iyi geldiği ve yaraların iyileşmesinde ki etkisi kanıtlanmıştır (Rasoulinezhad ve ark., 2019). *L.candidum*'dan elde edilen ekstratların insanda meme kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etkilere sahiptir (Tokgün ve ark., 2012). Bu çalışmalar *Lilium candidum*'un önemli tıbbi ve aromatik bitki olduğunu göstermektedir.

2.1.1. Bitkide ve Uçucu Yağında Bulunan Maddeler

L.candidum'un etkileri modern tıpta da kabul edilmiştir. İçeriğinde bulunan birçok biyoaktif madde, bitkinin çiçek ve soğanlarından elde edilmektedir. Bitkilerin kimyasal içerikleri sınıflandırıldığında iki ana grup karşımıza çıkmaktadır. Bu gruplar primer ve sekonder metabolitlerdir. Primer metabolitler, beslenme ve üremeye katıldığından ana ürün sayılmakta, sekonder metabolitler ise bitki yaşamı için elzem olmaması sebebiyle yan ürün olarak görülmektedir (Bakır, 2020). Sekonder metabolitlerin bazıları ilaç, baharat, boya olarak kullanımı mevcuttur. Metabolitlerin üretiminde bitki hücre ve doku kültürü uygulamalarının geleneksel yöntemlere nazaran daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir (Mulagal ve Tsay, 2004).

Tıbbi ve aromatik bitkilerle yapılan biyoteknolojik üretim tekniklerinin en yaygın yöntemlerinden birisi sekonder metabolit ve hücre kültürüdür. İn vitro şartlarda elde edilen sekonder metabolitlerin çevresel etkilere karşı dirençli olması, uygulama alanlarının kontrollü olması ve döngü içinde olan şartlardan az yararlı olanın daha fazla yararlı ürün çıktıklarına dönütü mümkün olmakta buna da biyodönüşüm adı verilmektedir (Yılmaz, 2021).

L.candidum'un içeriğinde ise, karotenoidler, flavonoidler, steroidler (beta-sitosterol), tanenler, polisakkaritler, steroidal ve pirol alkaloidler (lilalin, jatrophane) organik asitler ve aminoasitler bulunmaktadır (Haladova ve ark., 1987). *L.candidum* lif kaynağı olduğu gibi yapraklarının işlenmesi ile elde edilen bütanol özütü, pirolin ve saponinler kozmetik sanayinde de kullanılmaktadır (Kahraman, 2017). Tıp alanında önem arz eden uçucu yağın içeriğinde ise linalol, feniletil alkol, sinamik asit, flavonoidler, vanilin, terpineol, palmitik asit, benzoik asit, jatrophane ve karotenoidler bulunmaktadır bunun yanında demir, fosfor, kalsiyum ve B1, B2, C vitaminleri bulunmaktadır (Anonim, 2017).

2.2. İn Vitro Çoğaltım Alanında Çalışmalar

Zambak alanında doku kültürü uygulamaları 1950 yıllarından günümüze kadar devam etmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde, *L.candidum*'un botanik, morfolojik, anatomik evrimsel gelişimi, fitotoksik, sitotoksik ve genotoksik, moleküler ve genetik ve antioksidan çalışmaları hakkında ağırlıklı bilgiler verildiği görülmüş

(Mammadov, 2017), doku kültürü çalışmaları hakkında verilen bilgiler ise beklenen seviyede değildir.

L.candidum'a giderek artan ilgi, araştırmacıları doku kültürü çalışmalarına yönlendirmekte, üretimini daha az maliyete indirmek ve çoğaltımını hızlandırmak için doku kültürü çalışmaları giderek ilgi odağı olmaya başlamıştır. Uygun doku kültürü ortamına alınan *L.candidum*, yetiştirme ortamı, steril çalışma, uygun ışık ve büyüme düzenleyici ortamlarının yanında kaliteli eksplant alınması koşulu ile, başarılı şekilde kallus elde edilmektedir. Doku kültürünün başarısında hastalısız ana materyal önemlidir.

1968 yılında *Lilium*'un doku kültürüne alındıktan sonra kallus üretimi ve bitki jenerasyonun başarılı olduğu görülmüştür (Sheridan, 1968). *Lilium*'dan alınan eksplanttan kallus oluşumu uzun süre alsa da kallus oluşumundan sonra kolay ve güçlü bitkiler elde edilmesi daha az süre gerektirir (Arzate-Fernandez ve ark., 1997). 2005 yılında Khawar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farklı soğan pul yaprakları ve yaprakçık eksplant kaynaklarını kullanmış ve besi ortamı olarak farklı dozlarda NAA ve BAP konsantrasyonları hazırlanmış bitkicikler köklendirilmiştir. Normal tarla koşullarında 1.5 yılda elde edilen ak zambaklar bu sayede 2 ayda elde edilmiş ve yapılan denemelerde kullanımının başarılı olduğu belirtilmiştir (Khawar ve ark., 2005).

Soğanlı bitkilerin in vitro hızlı çoğaltım yöntemleri çoğaltılması üzerine yapılan çalışma kapsamında *L.candidum*'da dahil edilmiş, ülkemizde biyoçeşitliliğin sürdürülebilirliği açısından doku kültürü yöntemlerinin kullanılması önerilmiş, alternatif bir yöntem olarak belirtilmiştir (Karaoğlu, 2010).

Kesme çiçek, tıbbi ve aromatik bitki olarak kullanıldığı belirtilen *Lilium candidum* soğanlarındaki pul yapraklarıyla yapılan çalışmada 0.1 mg/L NAA ve 0.1 mg/L BA hormonlarıyla hazırlanan MS besi ortamında geliştirilen soğancıklarda oluşum evreleri gözlenmiş, eksplant başına ortalama 2.9 soğancık elde edilmiştir. Elde edilen bitkiciklerin orta ve taban kısımlarında köklenme görülmüştür (Burun ve Sahin, 2013)

2013 yılında kum zambağı adıyla bilinen tıbbi ve aromatik bitki olan *Pancratium maritimum* L. bitkisinin in vitro ve in vivo koşullarda üretilmesi amaçlanmış, alınan eksplantlar 6.5 agar g/L ve çeşitli dozlarda BAP ve NAA, 30g/L sakkaroz içeren MS

ortamlarına alınmıştır. 1.0 mg/L BAP-0.1 mg/L NAA içeriğindeki MS ortamına alınan eksplantların kallus oluşumu izlense de soğan elde edilememiştir (Kanmaz, 2013).

Kozmetik ve tıp hammadde sanayinde kullanılan *L.candidum* soğanlarının biyoteknolojik yöntemlerle çoğaltıp, hammadde ihtiyacı için yapılan İn vitro mikroçoğaltım çalışmasında, yılda 3 kez soğan üretilbileceği belirlenmiş, bitkinin soğanlarında bulunan pul yapraklarıyla yapılan çalışmada 0.2 mg/L NAA ve 0.6 mg/L TDZ içeren MS ortamında en yüksek sayıda soğancık elde edildiği görülmüştür (Daneshvar-Royandazagh, ve ark., 2014).

2015 yılında yapılan çalışmada, *Lilium martagon* L. soğan pulcuklarının IBA ile birlikte IAA, GA3 ve NAA hormonları kullanılarak köklenme üzerine çalışma yapılmış olup, 3000 ppm IBA, 1000 ppm IAA uygulamasındaki köklenmenin önem düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Turhan, 2015).

Liliaceae familyasında yapılan doku kültürü çalışmalarının çoğu soğan ve bitki çapı genişlemesine yönelik olduğu belirtilmektedir (Daneshvar-Royandazagh ve ark., 2016). Tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliğinin ülkemizde önemli bir oranda olması ve bu çeşitliliğin korunması için in vitro çoğaltımın yaygınlaştırılması, koruma altına alınması gerekmektedir. Doku kültürü ile üretimi yapılan göl soğanı, hodan, yüksükotu, afyon çiçeği gibi tıbbi aromatik bitkilerin sürdürülebilirliği için doku kültürü çalışmalarının önemli olduğu bahsedilmiştir (Sezgin ve Kapdan, 2019).

2019 yılında yapılan bir çalışmada, barış zambağı olarak bilinen *Spathiphyllum wallisii* bitkisi, 1mg/L BAP MS ortamında hazırlanıp in vitro ortamda yetiştirilmiştir. Yetiştirilen bitkilerde bitki boyu, bitki eni ve yaprak genişliğinde önem seviyesinde farklılık ortaya çıktığı belirtilmiştir (Şenel ve Haspolat, 2019).

Doku kültürüne alınan *L.candidum* soğan pullarının BAP ve NAA hormonlarının farklı konsantrasyonlarının etkilerinin incelendiği çalışmada NAA ortamına alınan soğanlardaki çıkışın daha üstünlük gösterdiği belirlenmiş, farklı dozlarda ki IBA, IAA ve NAA'nın etkisi *L.candidum*'un yeşil sürgünlerinin köklenmesi üzerinde fayda sağladığı belirtilmiştir (Patil ve ark., 2021).

Sekonder metabolitler (alkaloidler, terpenoidler, fenolikler), tıbbi ve aromatik bitkiler açısından önem arz etmektedir. Hammaddeye ulaşım ve ürün taleplerinin artması üretim

alanlarının genişlemesini, yeni üretim yöntemleri arayışını da beraberinde getirmektedir. Tıbbi aromatik bitkilerden elde edilen sekonder metabolit ürünlerin in vitro koşullarda yetişen hücre kültürlerinden elde edilmesi daha avantajlıdır. Üretimin basit ve daha güvenli olması ve biyokimyasalların izolasyonunun daha hızlı ve etkin olmasının yanı sıra, tarla koşullarında yaşanabilecek olumsuz durumlar sonucu ortaya çıkan bileşikler in vitro koşullarda engellenebilmesi önemli avantajlar sağlamaktadır. Doku kültürüyle üretilen bitkilerin sekonder metabolit üretmesine sebebiyet veren uyarıcıları kontrol etmek amacıyla kullanılabildiği gibi büyük hacimlerde tanımlanmış standardize edilmiş biyokimyasal da üretilebilir. (Çalışkan ve ark., 2019).

2021 yılında yapılan bir çalışma sonucunda, doku kültürü tekniklerinin yüksek değerli moleküllerin üretiminde önemli alternatif bir sistem olduğu belirtilmiştir. Bu yöntemlerle birçok bitkinin farmasötik özellikleri ortaya konulmuş, sahip oldukları önemli özelliklerinin miktar ve çeşitleri artırılmaya çalışılmıştır (Yel, 2021). Yine 2021 yılında yapılan bir çalışmada biyoteknolojik yöntemlerle üretilen bitkiler klasik ıslahın etkinlik oranını artıracığı, yeni çeşit geliştirilmesine katkı sunacağı, tıbbi ve aromatik bitkiler üzerinde yapılan klasik ıslah çalışmalarına ek olarak bu tekniklere yönelen araştırmacıların son derece başarılı sonuçlar edildiği belirtilmiştir (Yılmaz, 2021).

2.2.1. Bitki Büyüme Düzenleyiciler

Bitki bünyesinde oluşan veya dışarıdan verilen, oluştuğu yerden bünyesinde başka yerlere taşınan, yaşamsal faaliyetlerde kullanılan bileşikler olan bitki büyüme düzenleyiciler doku kültürü uygulamalarında önemli rol oynamaktadır. Bitki büyüme düzenleyiciler çoğaltımı sağlamak, çimlenmeyi artırmak, zararlılara ve hastalıklara karşı üstün dayanıklılık sağlamak, olgunlaşmayı hızlandırmak ve doku kültürü çalışmalarında sürgün, kök ve yumru çıkmasını geliştirmek amacıyla kullanılır. Bu düzenleyiciler; oksinler, sitokinin, etilen, absisik asit ve gibberellin hormonlarıdır. En çok kullanılan oksinler; IBA, NAA, NOAA, FOAA, FAA hormonlarıdır. Adventif kök gelişimini sağlamak amacıyla kullanılan oksinler doku kültürü uygulamalarında kullanılan önemli hormonlardandır.

Bitki dokularında hücre bölünmesinde önemli rol oynayan sitokininler aynı zamanda yaşlanmayı geciktirir. En çok kullanılan TDZ ve BA hormonlarıdır. Doku kültüründe organ oluşumu ve gelişimini teşvik eder. IBA hormonu ise doku kültüründe tercih

edilmekte yumrulaşmayı teşvik etmektedir (Kumlay ve Eryiğit., 2021). Örneğin, 2014 yılında *Lilium candidum* mikroçoğaltımında yapılan bir çalışmada 0.6 mg/L TDZ 0.2 mg/L NAA içeren ortamda başarılı sonuçlar alındığı belirtilmiştir (Daneshvar-Royandazagh ve ark., 2014). Yine 2012 yılında *Lilium longiflorum* bitkisiyle yapılan doku kültürü çalışmasında, NAA ve IBA hormonları kullanılmış olup; en ağır soğancıklar, en fazla filizlenme ve yüksek soğancık oluşumunu desteklediği belirtilmiştir (Mir ve ark., 2012).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada bitki materyali olarak *Liliaceae* (Zambakgiller) familyasına ait olan ve ülkemizin birçok doğal florasında bulunan *Lilium candidum* soğanları kullanılmıştır (Şekil 3.1). Tokat Valiliği İl Özel İdaresi Genel Sekreterliği tarafından 2020 yılında tamamlanan 2020/4 Nolu “Ak zambak’ta İn Vitro Mikroçoğaltım” başlıklı projeden ak zambak soğanları temin edilmiştir. *Lilium candidum* soğanları üzerinde bulunan pul yapraklarının LS besisi ortamında in vitro ortamda elde edilen in vitro bitkiler kullanılmıştır ve kültüre alınmıştır.



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan ak zambak soğanları

3.2. Deneme Alanı

Temin edilen materyaller, 2021 vejetasyon yılında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Endüstri Bitkileri Doku Kültürü Laboratuvarında ve Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkez Müdürlüğüne bağlı polikarbon seralarda yürütülmüştür.

3.3. Çalışma Yöntemi

Çalışmada, eksplant kaynağı olarak, ak zambak soğan pul yaprakları kullanılmıştır. Ak zambak soğanları besisi ortamına alınmadan önce 6 hafta süresince kese kağıdına sarılıp + 4°C’de bekletilmiştir (Daneshvar-Royandazagh, 2016). Çalışma eksplantların seçimi ve

sterilizasyonu, soğan eksplantlarının ve kültür ortamının hazırlanması, bitkilerin köklendirme alanına alınması ve dış ortama aktarılmasıyla 5 adımda tamamlanmıştır. 4 tekerrürlü Tesadüf Parselleri deneme deseni kullanılmıştır.

3.3.1. Alet ve Ekipman Hazırlığı

Çalışmanın tamamlanması sürecinde steril kabin temizlenmiş, %70 lik ethanol ile silinmiş olup 15 dakika UV ışığında çalıştırılmıştır. Devamında steril kabinde kullanılan besi ortamları, kurutma kapları, bistüri, pens, magenta kapları alüminyum folyo ile sarılıp, 120°C, 10 psi basınç altında 20 dakika süresince otoklav edilmiştir (Şekil 3.2-3.3). Bu işlemler yapılırken otoklav bandı kullanılmış, sterilizasyon sonunda renk değiştirdiğinden dolayı besi ortamlarının ve gerekli alet, ekipmanların sterilize olup olmadığı kontrol edilmiştir (Karan ve Özdemir, 2021).



Şekil 3.2-3.3. Çalışmada kullanılan otoklav makinası ve otoklav işlemi

Doku kültürü ortamının steril ve hassas olması seçilecek eksplantların da hastaliksız, yüksek canlılık ve rejenerasyon kapasitesine sahip materyaller olmasına özen gösterilmiştir. Ak zambak soğanlarını oluşturan pul yaprakları birbirinden ayrılıp hastaliksız ve canlı olan pullar seçilmiştir (Şekil 3.4-3.5).

Toprak altında yetiştirilen ak zambak soğanlarının yüzeyinde bakteri ve diğer hastalık kaynaklarının barındırması sebebiyle alınan eksplantlarda yüzey sterilizasyonu

yapılmıştır (Karaoğlu, 2010). Daha sonra *L. candidum* soğanları yarım saat boyunca musluk suyu altında yıkanarak üzerindeki çamur, toprak kalıntıları gibi yabancı maddelerden arındırılmıştır. 2-3 damla ticari deterjan ile yıkandıktan sonra musluk suyu altında iyice durulanmıştır. Durulanan soğanlar magenta kapları içerisinde 3 saniye süreyle %70'lik etanol çözeltisine batırılıp çıkarılmış, önceki gerçekleştirilen doku kültürü çalışmalarından yola çıkarak % 50'lik ticari çamaşır suyunda (Sodyum hipoklorit) 10 dk sterilizasyona tabi tutulmuştur. Sterilizasyonu yapılan soğanlar 3 kez 5'er dk otoklavlanmış distile steril saf su ile durulanmıştır (Şekil 3.6-3.7). Eksplantlar mikro çoğaltım için hazır hale getirilmiştir.



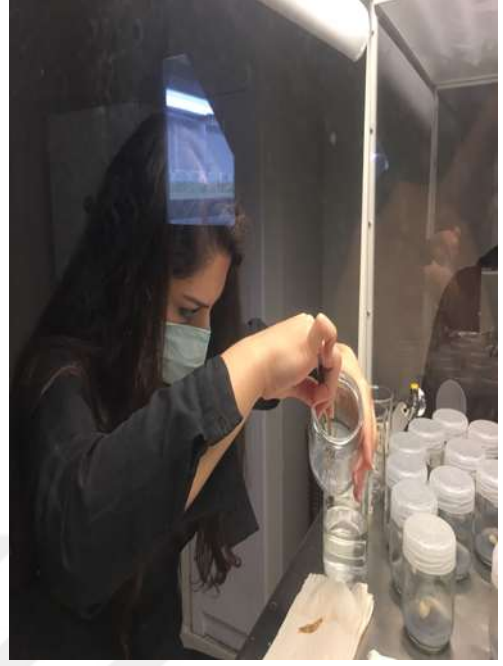
Şekil 3.4-3.5. Doku kültürüne alınacak olan ak zambak soğanlarından pul yaprakların ayrılması ve seçimi



Şekil 3.6-3.7. Çalışma kullanılan ak zambak soğanlarının deterjanla yıkanması ve durulanması

3.3.2. Soğan Eksplantlarının ve Kültür Ortamının Hazırlığı

İn vitro çalışmalarının yapılacağı steril kabinin iç haznesi %70'lik etil alkol ile temizlendikten sonra kabin içerisi 15 dakika sürecinde UV ışığına maruz bırakılmıştır (Şekil 3.8). Sterilizasyonu yapılan eksplantlar, steril kabin içerisinde dış pul yaprakları kesilip atıldıktan sonra sağlıklı kısımlarından 1-2 cm çapında ayrılmıştır. Ak zambak soğanlarındaki pulcuklar 5-10 mm boyutlarında kesilerek çoğaltım yapılacak olan kültür tüplerine alınmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.8-3.9. Eksplantın alındığı steril kabin ve eksplantın uygun besi ortama aktarılması

Besi ortamı olarak Caissson Labs. firmasından temin edilen LS mineral tuzları ve vitaminleri kullanılmıştır. Bitki besin ortamı 8 g/L agar, 34.73 g/L LS mineral tuzu ve 1 litre nano saf su ile beher içinde karıştırılarak manyetik karıştırıcı üzerine alınmıştır. Homojeniteyi sağlamak için manyetik kulplajla karıştırma ve ısıtma işlemine tabi tutulmuş, Ph 5.7-5.8 arasında olacak şekilde ayarlanmıştır. Ortamın pH dengelemesi HCl yardımıyla yapılmıştır.

Bitki büyüme düzenleyicileri doku kültüründe önemli faktörlerden biridir. Sitokinin olarak TDZ (Thidiazuron) ve oksin olarak NAA (Naftalen asetik asit), IBA (Indol Bütirik asit) kullanılmıştır. Farklı TDZ ve NAA dozları kullanılarak üç farklı muamele hazırlanmıştır (Çizelge 3.1). Hazırlanan çözeltiler bitki agarı ile katı hale getirilip, ak zambak pulcuklarından aksiller ve adventif soğan oluşumunu teşvik etmek amacıyla ihtiyaca göre NAA ve IBA gibi bitki büyüme düzenleyiciler eklenmiştir (Skorić ve ark., 2012). Eklenmiş olan düzenleyiciler %70'lik etanolda çözülmüştür. Hazırlanan ortam 121°C de 10 psi basınç altında 20 dakika süresince otoklavda tutularak sterilize edilmiştir. Sterilize edildikten sonra otoklavdan çıkan ortam tüplere eşit olarak dağıtılıp ve tüplerin ağızları alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Kültürler iklim odasında 16 saat aydınlık olmak üzere beyaz led ışık altında 1200–1300 lux/m² ışık şiddetinde, 24 °C altında

bekletilmiştir (Şekil 3.10-3.11). Kalluslardan elde edilen bitkiler tüp içerisinde gözlemlenmiştir (Şekil 3.12-3.13)

Ortam	TDZ (mg/L)	NAA (mg/L)
1	0.6	0.1
2	0.6	0.2
3	0.6	0.6

Çizelge 3.1 Sürgün oluşumunda kullanılan TDZ ve NAA kombinasyonları



Şekil 3.10-3.11. Eksplantların alınması ve iklim odasına aktarılması



Şekil 3.12-3.13. İklim odasındaki bitkilerin büyüme aşamaları ve kallus oluşumu

İklim odasında gelişmelerini tamamlayan bitkiler her iki ayda köklendirme ortamına alınmıştır. Köklendirme ortamına alınan bitkilerden araştırmaya yönelik veriler elde edilmiştir.

3.3.3. Köklendirme Ortamına Alınması

Steril ve kontrollü ortamlarda yetiştirilen in vitro ak zambak bitkilerinin sürgünlerden kök oluşumu elde etmek için köklendirme ortamı için hazırlanan besi ortamında kültüre alınmıştır. Alınan kesitler 45 mm genişliğinde 90 mm uzunluğunda olan kavanozlara, 6 farklı ortamda hazırlanan ilgili besi ortamları 50 ml olacak şekilde otomatik dispenser ile dağıtılmıştır. Daha sonra otoklavda steril edilen kavanozların içerisinde steril kabin içerisinde steril edilen kesitler, her bir kavanozda 4 adet olacak şekilde kültüre alınmıştır. Eksplant alımı sırasında pens ve bisturi sterilizasyonunda %70'lik etil alkol ve steri 350 boncuk sterilizer kullanılmıştır. Her deney seti için 16 kavanoz kullanılmıştır. Kavanozlar iklim odasında 24°C'de (2000-3000 lüks ışıkta 16 saat gün/8 saat gece) büyüme odasında 6 hafta tutulmuşlardır. 6. haftanın sonunda, verilerin incelenmesi için 60 adet bitki incelenmiştir. Bitkiler 15'er adet olacak şekilde 4 gruba ayrılmış, her grup bir tekrerr olarak kabul edilmiştir (Karan ve Özdemir, 2021).

Bu aşamada ortama eklenen IBA ve NAA kombinasyonları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Köklendirme ortamına alınan bitkilerden 6 hafta sonra veriler alınmış, sonrasında ise tam kontrollü polikarbon serada saksılara dikilmişlerdir.

Çizelge 3.2. Köklendirme ortamı olarak hazırlanan besi ortamında kullanılan IBA ve NAA dozları

Ortam 1	LS Medya + 0,5 mg/L IBA	Ortam 4	LS Medya + 0,5 mg/L NAA
Ortam 2	LS Medya + 1,0 mg/L IBA	Ortam 5	LS Medya + 1,0 mg/L NAA
Ortam 3	LS Medya + 1,2 mg/L IBA	Ortam 6	LS Medya + 1,5 mg/L NAA

3.3.4. Eksplantların Tam Kontrollü Sera Ortamına (Ex Vitro) Aktarılması

Steril ve kontrollü ortamlarda yetiştirilen in vitro ak zambak bitkilerinin dış ortama alınması ve alıştırılması bitki yetiştirmek için önem taşımaktadır. İn vitro ortamına alınan eksplantlarda 6 hafta sonra istenilen ve yeterli sayıda kök oluşumu gözlenmiş olup (Şekil 3.14), saksılara almadan önce adaptasyon sürecini hızlandırmak, nem kaybını indirmek için büyüme odasından alınmış, tüplerden çıkarılmış ve besi ortamından dikkatlice arındırılmıştır (Kalyoncu, 2007). Farklı bitki büyüme düzenleyicilerin kullanımından elde edilen in vitro ak zambak bitkileri tam kontrollü polikarbon serada torf, perlit, vermikulit 1:1:1 oranında hazırlanmış olan karışımı içeren saksılara dikilmişlerdir (Şekil 3.15). Saksılara dikim işlemi yapıldıktan sonra sulama işlemi gerçekleştirilmiş, hazırlanan torf, perlit ve vermikulit karışımı nemini kaybettikçe sulama işlemi aksatılmadan yerine getirilmiştir. 8 hafta boyunca 22°C sıcaklığındaki polikarbon serada bakım işlemleri aksatılmadan yapılan in vitro ak zambak bitkilerinin tamamı canlı kalmış (Şekil 3.16-3.17), 8 hafta sonra kök ve yeşil aksam uzunluklarına ait veriler alınmıştır.



Şekil 3.14-3.15. Sera ortamına dikilecek olan ak zambak bitkileri ve tüplerden alınan bitkilerin saksılara dikilmesi

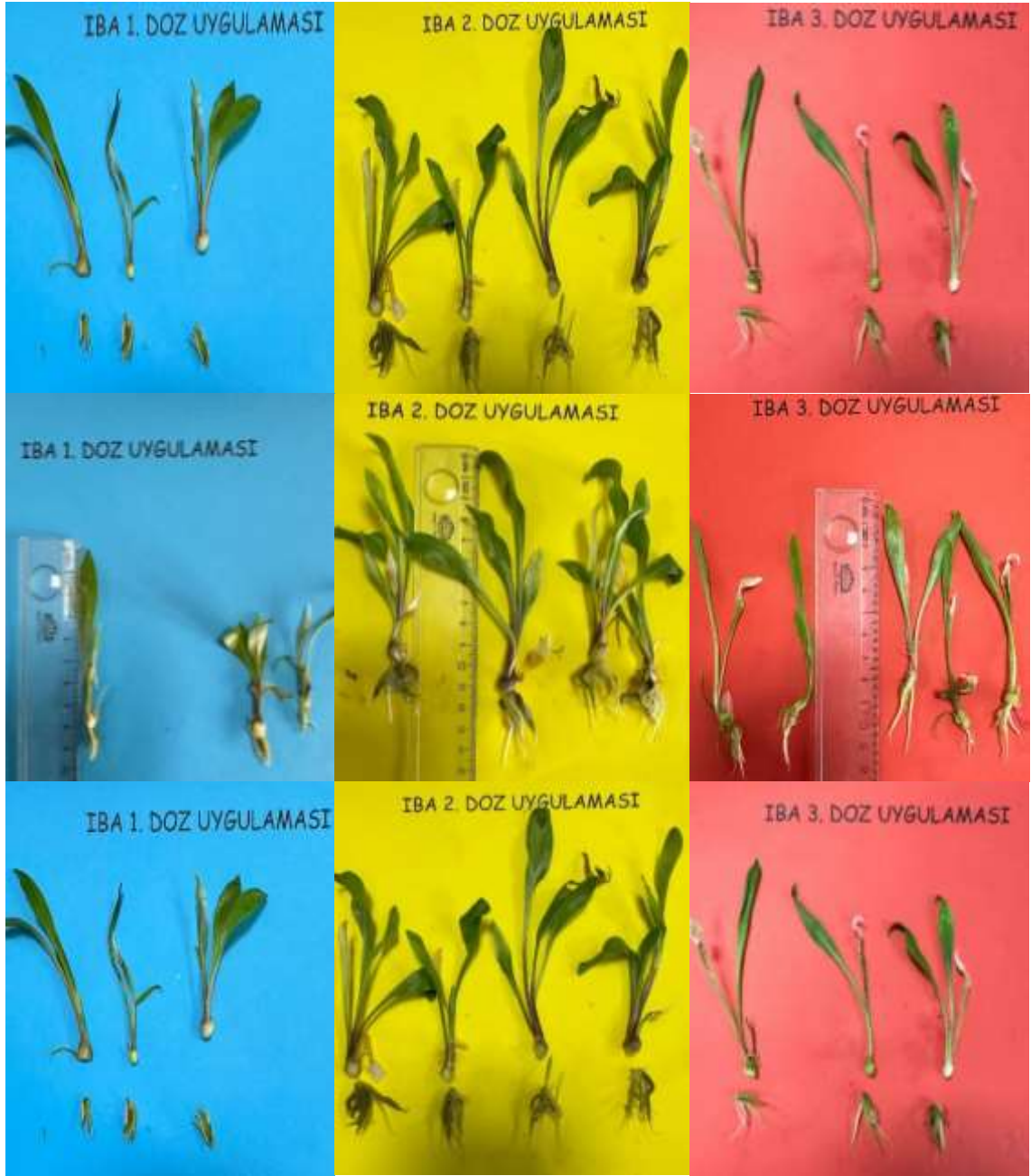


Şekil 3.16-3.17. Sera ortamına dikilen in vitro ak zambak bitkilerinin 8 hafta sonraki görünüşleri

3.4. Gözlem Alınması

Çıkışı gerçekleşen ak zambakların eksplant başına düşen sürgün sayısı, eksplant başına düşen sürgün ağırlığı ve eksplant başına düşen sürgün büyüklüğü; köklendirme ortamında yetişen ak zambakların da bitki ağırlığı, bitki boyu, yaprak sayısı, yaprak ağırlığı, yaprak boyu, kök sayısı, kök boyu ve kök ağırlığı, cetvel, kumpas ve hassas terazi yardımıyla kayıt altına alınmıştır (Kahraman, 2014, Karan ve Özdemir, 2021). Alınan gözlem örnekleri Şekil 3.18’de verilmiştir.





Şekil 3.18. Doku kültüründe yetiştirilen ak zambak bitkisinden alınan gözlemler

3.4.1. Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı (adet)

İn vitro ortama sürgün oluşumu için alınan *Lilium candidum* soğan eksplantlarında gözlemlenen sürgünler sayılarak adet olarak belirlenmiştir.

3.4.2. Eksplant Başına Düşen Sürgün Ağırlığı (mg)

İn vitro ortama sürgün oluşumu için alınan *Lilium candidum* soğan eksplantlarında gözlemlenen sürgünlerin bazal plakadan kesilip hassas terazide ölçümleri yapılarak mg olarak belirlenmiştir.

3.4.3. Eksplant Başına Düşen Sürgün Büyüklüğü (mm)

İn vitro ortama sürgün oluşumu için alınan *Lilium candidum* soğan eksplantlarında gözlemlenen sürgünlerin bazal plakadan sürgün ucuna kadar kısmın cetvelle ölçülmesiyle mg olarak belirlenmiştir.

3.4.4. Bitki Ağırlığı (mg)

İn vitro şartlarda köklendirme ortamında yetiştirilen bitkilerin sera ortamına alınmadan önce mevcut ağırlıkları hassas terazi yardımıyla tartılmış, mg olarak elde edilmiştir.

3.4.5. Bitki Boyu (cm)

İn vitro şartlarda kültür ortamında köklendirilen bitkiciklerin kökten en uç seviyedeki yaprak uzantısına kadar olan kısmının cetvel yardımıyla ölçülmüş, cm olarak ifade edilmiştir.

3.4.6. Yaprak Sayısı (adet)

İn vitro şartlarda kültür ortamında köklendirilen bitkiciklerin sera ortamına alınmadan önce tüm yapraklar sayılmış, adet olarak belirlenmiştir.

3.4.7. Yaprak Ağırlığı (mg)

İn vitro şartlarda elde edilen bitkilerin yaprak ağırlıkları hassas terazi yardımıyla tartılmış, mg olarak elde edilmiştir.

3.4.8. Yaprak Boyu (cm)

İn vitro şartlarda elde edilen bitkilerin yaprak boyları cetvel yardımı ile ölçülmüş, cm olarak belirlenmiştir.

3.4.9. Kök Sayısı (adet)

Elde edilen in vitro bitkilerin ana soğanı üzerinde bulunan tüm kökleri sayılarak adet olarak belirlenmiştir.

3.4.10. Kök Boyu (cm)

Elde edilen in vitro bitkilerin ana soğanı üzerinde bulunan tüm kökleri, kök ucundan bazal plakaya kadar olan en alt kök uzantısına kadar cetvel yardımıyla ölçülerek cm olarak belirlenmiştir.

3.4.11. Kök Ağırlığı (mg)

İn vitro şartlarda elde edilen bitkilerin ana soğan üzerinden çıkan tüm kökler, kesilerek hassas olan terazide tartılmış, mg olarak belirlenmiştir.

3.4.12. Dış Ortama Alınan In Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Kök Boyları (cm):

Tam kontrollü polikarbon serada yetiştirilmeye alınan in vitro ak zambak bitkilerine ait köklerin boyları 6 hafta sonra metre yardımıyla ölçülmüş, veriler cm biriminden kaydedilmiştir.

3.4.13. Dış Ortama Alınan In Vitro Ak zambak Bitkilerinin Yaprak Boyları (cm):

Tam kontrollü polikarbon serada yetiştirilmeye alınan in vitro ak zambak bitkilerine ait yaprak boyları 6 hafta sonra metre yardımıyla ölçülmüş, veriler cm biriminden kaydedilmiştir.

3.5. Verilerin Analizi ve Değerlendirilmesi

Sürgün oluşumu ve köklendirme besi ortamları ile tam kontrollü polikarbon sera şartlarında saksılara dikilen ak zambak bitkileri 4 tekerrürlü olacak şekilde denemeye alınmıştır. Ak zambak bitkisi soğan pullarından yapılan kültürlerden elde edilen verilen SPSS 15 programı vasıtası ile varyans analizine tabi tutulmuş, ortalamalara ait farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Deney gruplarında gözlemlenen verilerin ortalamaları hesaplanarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarında gerçekleşen bu çalışmada *Lilium candidum*'un in vitro koşullarda elde edilen sürgün ve kök rejenerasyonlarından gözlem alınmış ve incelenmiştir. Farklı besi ortamlarında yetiştirilen *Lilium candidum*'un in vitro üretiminden elde edilen bitkilerden alınan gözlemlere ait veriler hesaplanmış ve analizleri yapılmıştır.

4.1. Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı (adet)

Aynı dozda TDZ içeren LS ortamına ilave edilen farklı NAA konsantrasyonlarının eksplant başına düşen sürgün sayısı üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.1'de verilmiştir. NAA dozlarının eksplant başına düşen sürgün sayısı üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Eksplant başına düşen sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları

Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı(adet)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	2	280.58	140.42	439.21**
Hata	9	2.8	0.3	
Genel	11	283.72		

**:%1 düzeyinde önemlidir.

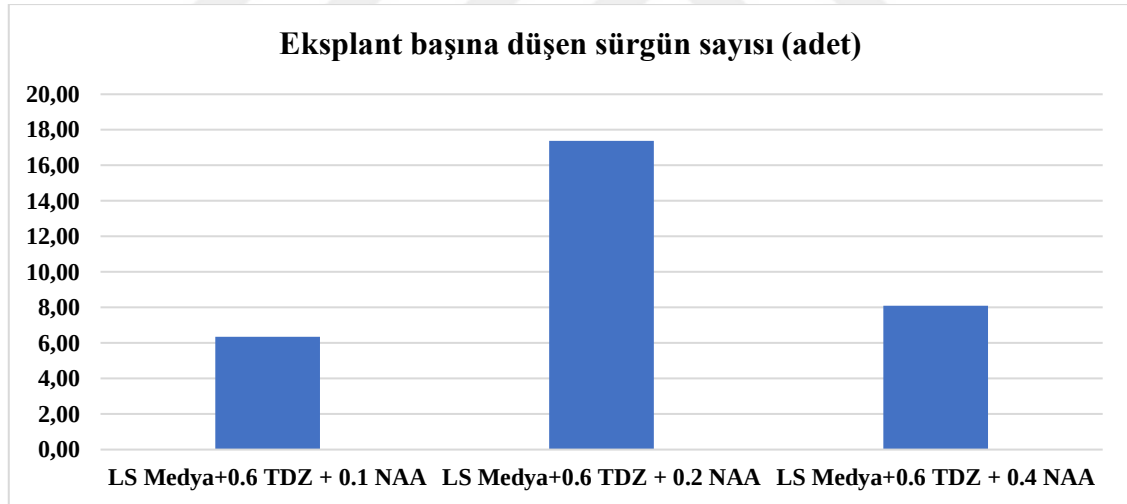
LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA ortamında 6.35 adet, LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA ortamında 17.375 adet ve LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.4 mg/L NAA ortamında 8.1 adet sürgün sayılmış; LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA bulunan ortamda yapılan çalışma eksplant başına düşen sürgün sayısı açısından anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.2). En düşük sürgün sayısı LS medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA besi ortamından (6.35 adet) elde edilmiştir (Şekil 4.1). 2012 yılında *Lilium* çeşidinde yapılan doku kültürü çalışmasında en yüksek sürgüne 0.5 mg/L ve 1 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA ortamında ulaşıldığı belirtilmiştir (El-Naggar ve ark., 2012). 2014 yılında yapılan bir çalışmada 0.6 mg/L TDZ ve 0.6 mg/L NAA da en az soğancık olduğu belirtilmiştir (Daneshvar-Royandazagh, 2014). 2014 yılında yapılan *Lilium* çeşitleri arasında yapılan başka bir çalışmada ise MS medya + NAA (0.3 mg/L) + BAP (0.03 mg/L) ve farklı karbonhidratlar kullanılarak hazırlanan besi ortamında ortalama 2.50

sürgün sayısı çıktığı belirtilmiştir (Mojtahedi ve ark., 2014). Khan ve ark.'nın (2015) *Lilium* türleriyle yapmış olduğu doku kültürü çalışmaları sonucu BAP (mg/L) + NAA (mg/L) uygulamalarının eksplant başına düşen sürgün sayısı açısından başarılı olduğu bildirilmiştir (Khan ve ark., 2015). Yine 2020 yılında *Lilium longilorum* bitkisinin soğan pul yapraklarıyla yapılan çalışmada sürgün sayılarının 1 mg/L NAA + 1 mg/L BAP içeren besin ortamında sürgün çıkışının gözlemlendiği belirtilmiştir (Deswiniyanti ve Lestari., 2020).

Çizelge 4.2. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının eksplant başına düşen sürgün sayısı (adet)

Ortam	Eksplant başına düşen sürgün sayısı (adet)
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.1 NAA	6.35 c
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.2 NAA	17.37 a
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.4 NAA	8.10 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0,05$).



Şekil 4.1. Eksplant başına düşen sürgün sayısının değişimi (adet)

4.2. Eksplant Başına Düşen Sürgün Ağırlıkları (mg)

Aynı dozda TDZ içeren LS ortamına ilave edilen farklı NAA konsantrasyonlarının eksplant başına düşen sürgün ağırlıkları üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.3'te verilmiştir. NAA dozlarının eksplant başına düşen sürgün ağırlıkları üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Eksplant başına düşen sürgün ağırlığına ait varyans analiz sonuçları

Eksplant Başına Düşen Sürgün Ağırlığı(mg)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	2	23 654.16	11 827.08	140.33**
Hata	9	758.50	84.27	
Genel	11	24 412.66		

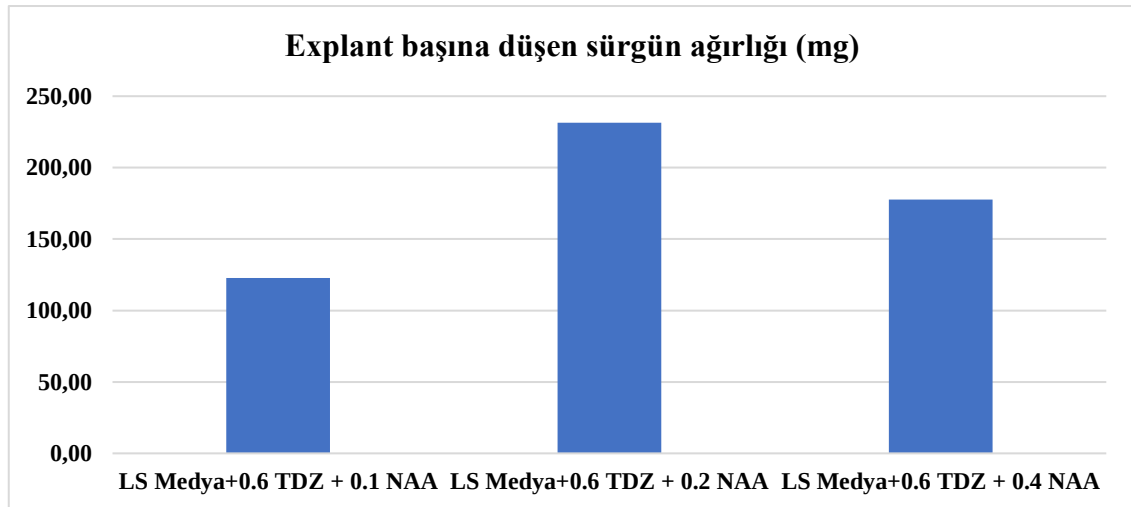
**:%1 düzeyinde önemlidir.

LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA ortamında 122.75 mg, LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA ortamında 231.5 mg ve LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.4 mg/L NAA ortamında 177.75 mg olarak ölçülmüş; LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA bulunan ortamda yapılan çalışma eksplant başına düşen sürgün ağırlıkları açısından anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.4). En küçük eksplant başına düşen sürgün ağırlığı LS medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA besi ortamından (122.75 mg) elde edilmiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.4. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının eksplant başına düşen sürgün ağırlığı (mg)

Ortam	Explant başına düşen sürgün ağırlığı (mg)
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.1 NAA	122.75 c
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.2 NAA	231.50 a
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.4 NAA	177.75 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).



Şekil 4.2. Eksplant başına düşen sürgün ağırlığının değişimi (mg)

4.3. Eksplant Başına Düşen Sürgün Büyüklüğü (mm)

Aynı dozda TDZ içeren LS ortamına ilave edilen farklı NAA konsantrasyonlarının eksplant başına düşen sürgün sayısı büyüklüğü etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.5'te verilmiştir. NAA dozlarının eksplant başına düşen sürgün büyüklüğü üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Eksplant başına düşen sürgün büyüklüğüne ait varyans analiz sonuçları

Eksplant Başına Düşen Sürgün Büyüklüğü(mm)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	2	6.04	3.02	32.39**
Hata	9	0.84	0.09	
Genel	11	6.88		

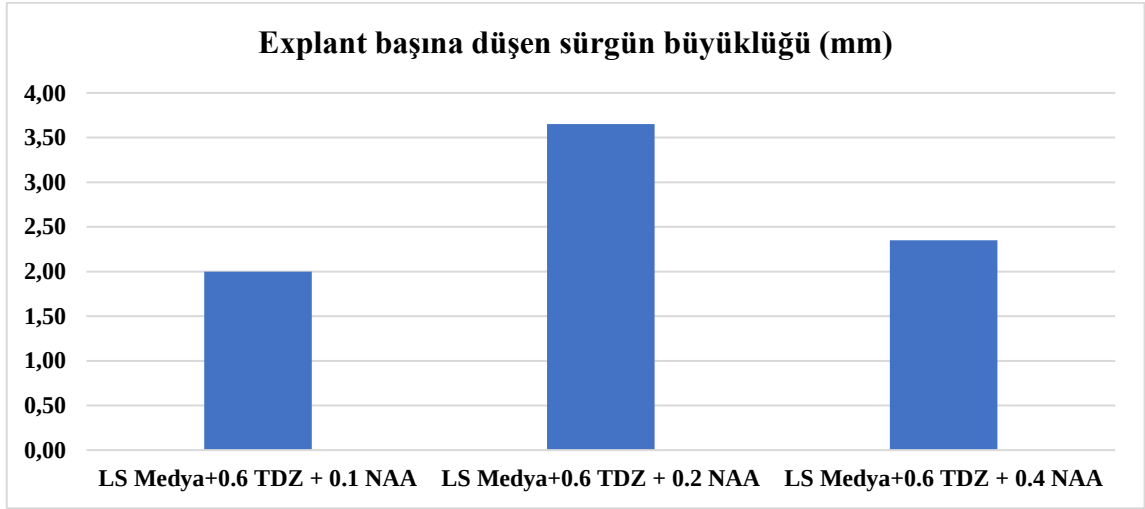
**:%1 düzeyinde önemlidir.

LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA ortamında 2 mm, LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA ortamında 3.65 mm ve LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.4 mg/L NAA ortamında 2.35 mm olarak ölçülmüş; LS Medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.2 mg/L NAA bulunan ortamda yapılan çalışma eksplant başına düşen sürgün büyüklükleri açısından anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.6). En küçük eksplant başına düşen sürgün büyüklüğü LS medya + 0.6 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA besi ortamından (2.00 mm) elde edilmiştir (Şekil 4.3). 2012 yılında *Lilium longilorum* bitkisi üzerinde yapılan doku kültüründe farklı dozlarda NAA ve BAP eklenen besin ortamında, 2 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA ortamında maksimum sürgün uzunluğu ve sürgün ağırlığı elde edildiği belirtilmiştir (Mir ve ark., 2012). Yine *Lilium candidum* üzerine 2021 yılında yapılan çalışmada en yüksek ortalama sürgün kök boyu, 0.5mg/l IBA + 0.5 mg/L IAA + 0.1 mg/L NAA eklenen besin ortamında olduğu bildirilmiştir (Patil ve ark., 2021).

Çizelge 4.6. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının eksplant başına düşen sürgün büyüklüğü (mm)

Ortam	Explant başına düşen sürgün büyüklüğü (mm)
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.1 NAA	2.00 b
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.2 NAA	3.65 a
LS Medya + 0.6 TDZ + 0.4 NAA	2.35 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 4.3. Eksplant başına düşen sürgün büyüklüğünün değişimi (mm)

4.4. Bitki Ağırlığı (mg)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından (Çizelge 3.4) elde edilen bitki ağırlığı üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.7’de verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının bitki ağırlığı üzerine etkisi ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Bitki ağırlığı ait varyans analiz sonuçları

		Bitki Ağırlığı (mg)		
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	3 408 855	681 771	144,4**
Hata	18	84 985	4 721,47	
Genel	23	3 493 840		

**: %1 düzeyinde önemlidir.

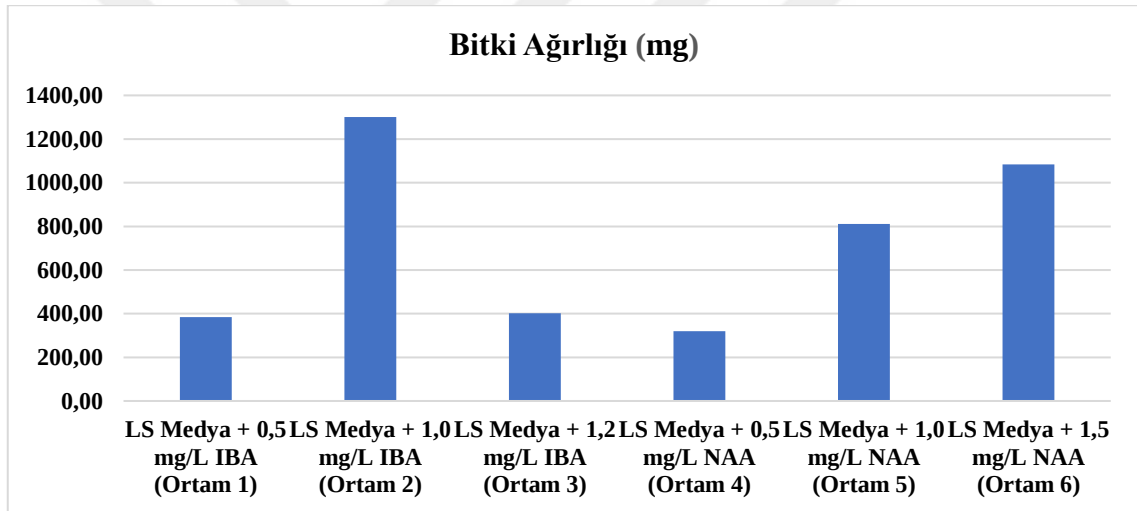
En fazla bitki ağırlığı besi ortamına 1 mg/L IBA dozunun ilave edildiği muameleden (Ortam 2) elde edilmiştir (Şekil 4.4). Bunu 1 083.50 mg bitki ağırlığı ile 1.5 mg/L NAA (Ortam 6) dozunun ilave edildiği muamele takip etmiştir. Ortam 1, Ortam 3 ve Ortam 4’ten (Çizelge 3.4) elde edilen bitki ağırlıkları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.8). En düşük bitki ağırlığı LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından (319.75 mg) elde edilmiş, LS Medya + 1,2 mg/L IBA medya ortamı ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. 2012 yılında *Lilium* çeşidinde yapılan doku kültürü çalışmasında en yüksek bitki ağırlığına 0.25 mg/L NAA + 1 mg/L BA ortamında ulaşıldığı belirtilmiştir (El-Naggar, 2012). Yine 2012 yılında yayımlanan, *Lilium*

longiflorum üzerine yapılan doku kültürü çalışması sonucu en ağır soğancık 2.0 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA katkılı MS ortamında gelişmiştir (Mir, 2012).

Çizelge 4.8. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının bitki ağırlıklarına etkileri (mg)

Ortam	Bitki Ağırlığı (mg)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	384.50 d
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	1 301.50 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	402.50 d
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	319.75 d
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	811.75 c
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	1 083.50 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).



Şekil 4.4. Bitki ağırlığı değişimi (mg)

4.5. Bitki Boyu (cm)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen bitki boyu üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.9'da verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının bitki boyu üzerine etkisi ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.9. Bitki boyuna ait varyans analiz sonuçları

Bitki Boyu (cm)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	180.39	36.08	21.94**
Hata	18	29.61	1.65	
Genel	23	209.99		

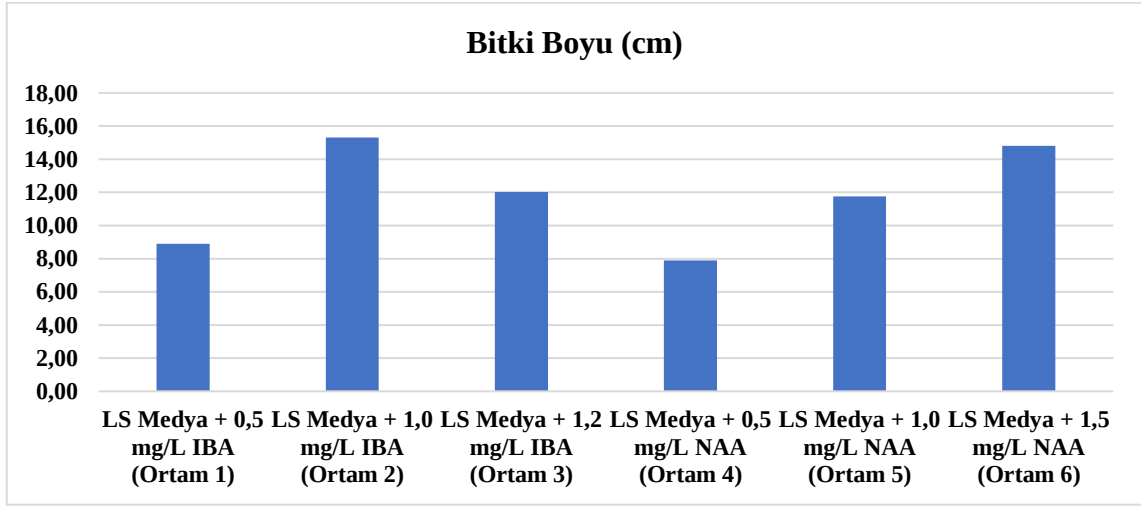
ÖD: Önemli değil. *:%5 düzeyinde, **:%1 düzeyinde önemlidir.

En fazla bitki boyu besi ortamına 1 mg/L IBA dozunun ilave edildiği muameleden (Ortam 2) elde edilmiştir. Bunu 14.80 cm bitki boyu ile 1.5 mg/L NAA (Ortam 6) dozunun ilave edildiği muamele takip etmiştir. Ortam 1 ve Ortam 4'ten elde edilen bitki boyları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.10). En düşük bitki boyu LS Medya + 0,5 mg/L NAA besi ortamından (7.90 cm) elde edilmiş (Şekil 4.5), LS Medya + 0,5 mg/L IBA (8.90 cm) medya ortamı ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. 2012 yılında yayımlanan, *Lilium longiflorum* üzerine yapılan doku kültürü çalışması sonucunda en uzun bitki boyu (12 cm) 2.0 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA katkılı MS ortamında gelişmiştir (Mir, 2012).

Çizelge 4.10. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının bitki boyuna etkileri (cm)

Muamele	Bitki Boyu (cm)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	8.90 c
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	15.32 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	12.02 b
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	7.90 c
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	11.75 b
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	14.80 a

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).



Şekil 4.5. Bitki boyu değişimi (cm)

4.6. Yaprak Sayısı (adet)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen yaprak sayısı üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.11’de verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının yaprak sayısı üzerine etkisi ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Yaprak sayısına ait varyans analiz sonuçları

Yaprak Sayısı (adet)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	16.70	3.34	8.30**
Hata	18	7.25	0.40	
Genel	23	23.95		

**:%1 düzeyinde önemlidir.

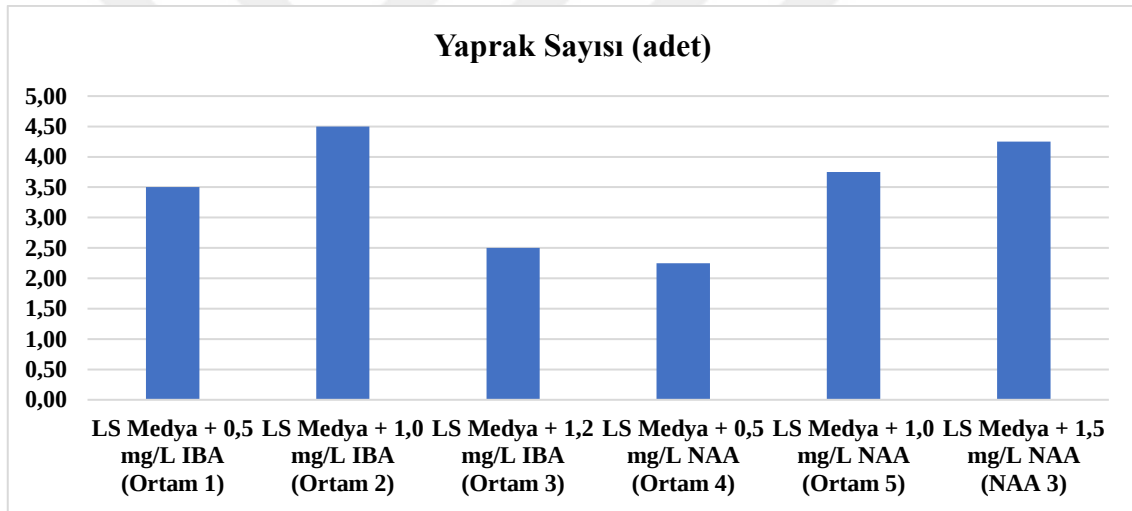
En fazla yaprak sayısı besi ortamına 1 mg/L IBA dozunun ilave edildiği muameleden (Ortam 2) elde edilmiştir. Bunu 4.25 adet yaprak sayısı ile LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6) dozunun ilave edildiği muamele takip etmiştir. Ortam 3 ve Ortam 4’ten elde edilen yaprak sayıları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.12). En düşük yaprak sayısı LS Medya + 0,5 mg/L NAA besi ortamından (2.25 adet) elde edilmiş (Şekil 4.6), LS Medya + 1,2 mg/L IBA (2.5 adet) medya ortamı ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. 2009 yılında *Lilium davidii* ile yapılan doku kültürü çalışmasında 0.5 mg/L TDZ + 1.0 mg/L NAA eklenen ortamda en yüksek yaprak sayısı (3.83 adet) elde edildiği belirtilmiştir (LingFei ve ark., 2009). Yine 2014 yılında *Lilium candidum*’la yapılmış olan bir çalışmada da 0.02 mg/L NAA eklenen ortamda; 1.41 adet

ve 0.01 mg/L NAA eklenen ortamda ise 1.45 adet yaprak oluştuğu bildirilmiştir (Gürsan, 2014).

Çizelge 4.12. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının yaprak sayısına etkileri (adet)

Muamele	Yaprak Sayısı (adet)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	3.50 a
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	4.50 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	2.50 b
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	2.25 b
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	3.75 a
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	4.25 a

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 4.6. Yaprak sayısı değişimi (adet)

4.7. Yaprak Ağırlığı (mg)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen yaprak ağırlığı üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.13'te verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının yaprak ağırlığı üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Yaprak ağırlığına ait varyans analiz sonuçları

Yaprak Ağırlığı (mg)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	15 621.41	3 124.28	852.21**
Hata	18	65.99	3.67	
Genel	23	15 687.40		

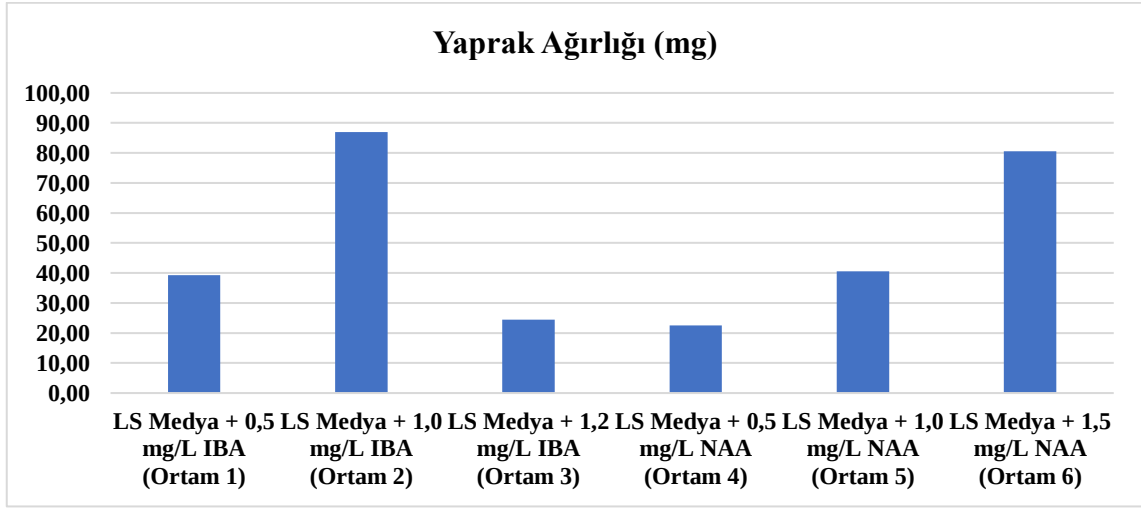
**:%1 düzeyinde önemlidir.

En fazla yaprak ağırlığı 86.95 mg ile LS besi ortamına 1 mg/L oranında IBA dozunun ilave edildiği muameleden (Ortam 2) elde edilmiştir. Bunu 80.57 mg yaprak ağırlığı ile LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6) dozunun ilave edildiği muamele takip etmiştir. Ortam 3 ve Ortam 4'ten elde edilen bitki ağırlıkları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.14). En düşük yaprak ağırlığı LS Medya + 0,5 mg/L besi ortamından (22.57 mg) elde edilmiş (Şekil 4.7), LS Medya + 1,2 mg/L IBA (24.42 mg) medya ortamı ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır.

Çizelge 4.14. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının yaprak ağırlığına etkileri (mg)

Muamele	Yaprak Ağırlığı (mg)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	39.27 c
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	86.95 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	24.42 d
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	22.57 d
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	40.55 c
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	80.57 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 4.7. Yaprak ağırlığı değişimi (mg)

4.8. Yaprak Boyu (cm)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen yaprak boyu üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.15'te verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının yaprak boyu üzerine etkisi ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.15. Yaprak boyuna ait varyans analiz sonuçları

Yaprak Boyu (cm)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	72.11	14.42	27.37**
Hata	18	9.48	0.52	
Genel	23	81.6		

**:%1 düzeyinde önemlidir.

En fazla yaprak boyu Ortam 2 olarak kodlanmış LS Medya + 1,0 mg/L besi ortamından elde edilmiştir. Bunu sırasıyla 10.35 cm ile yaprak boyu ile LS Medya + 1,5 mg/L NAA besi ortamı (Ortam 6) ve 8.75 cm ile LS Medya + 1,2 mg/L IBA'dan (Ortam 3) elde edilmiştir. Ortam 2 ve Ortam 6'dan elde edilen yaprak boyu değerleri aynı istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır (Çizelge 4.16).

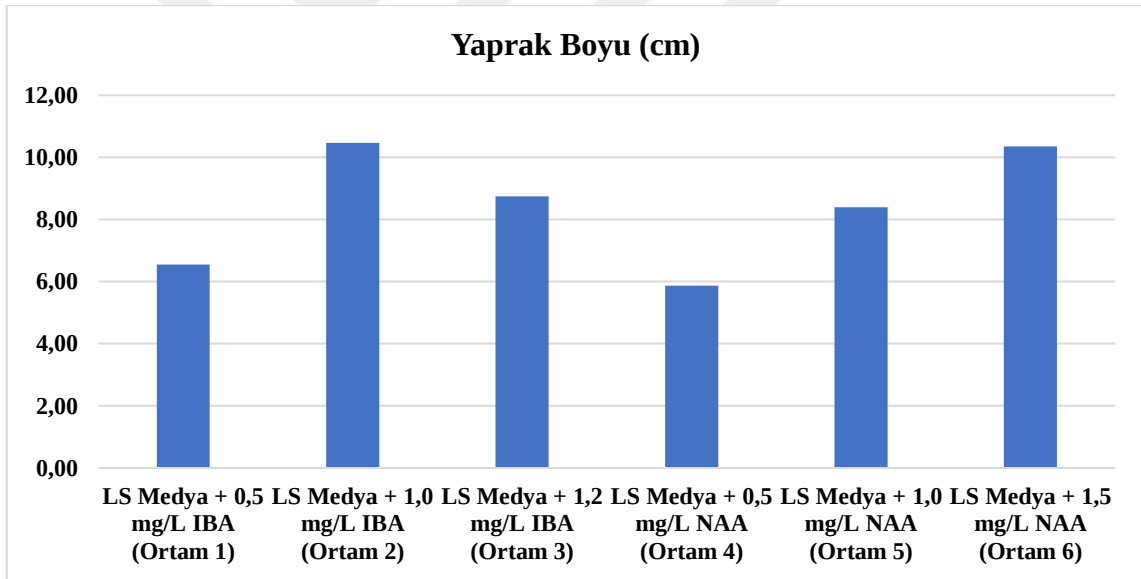
En düşük yaprak boyu LS medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından (5.87 cm) elde edilmiş (Şekil 4.8), LS medya + 0,5 mg/L IBA (6.55 cm) medya ortamı ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. 2015 yılında *Lilium martagon* soğanları üzerinde yapılan doku kültürü çalışması sonucunda 3000 ppm IBA + 1000 ppm NAA uygulamasında en yüksek gövde boyu elde edildiği bildirilmiştir (Turhan, 2015). 2014 yılında *Lilium*

çeşitleri ile yapılan başka bir çalışmada ise MS medya + NAA (0.3 mg/L) + BAP (0.03 mg/L) ve farklı karbonhidratlar kullanılarak hazırlanan besi ortamında ortalama en yüksek 5.27 cm yaprak boyu elde edildiği bildirilmiştir (Mojtahedi ve ark., 2014).

Çizelge 4.16. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının yaprak boyuna etkileri (cm)

Muamele	Yaprak Boyu (cm)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	6.55 c
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	10.47 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	8.75 b
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	5.87 c
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	8.40 b
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	10.35 a

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).



Şekil 4.8. Yaprak boyu değişimi (cm)

4.9. Kök Sayısı (adet)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen kök sayısı üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.17’te verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının kök sayısı üzerine etkisi ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.17. Kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Kök Sayısı (adet)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	30.20	6.04	7.37**
Hata	18	14.75	8.81	
Genel	23	44.95		

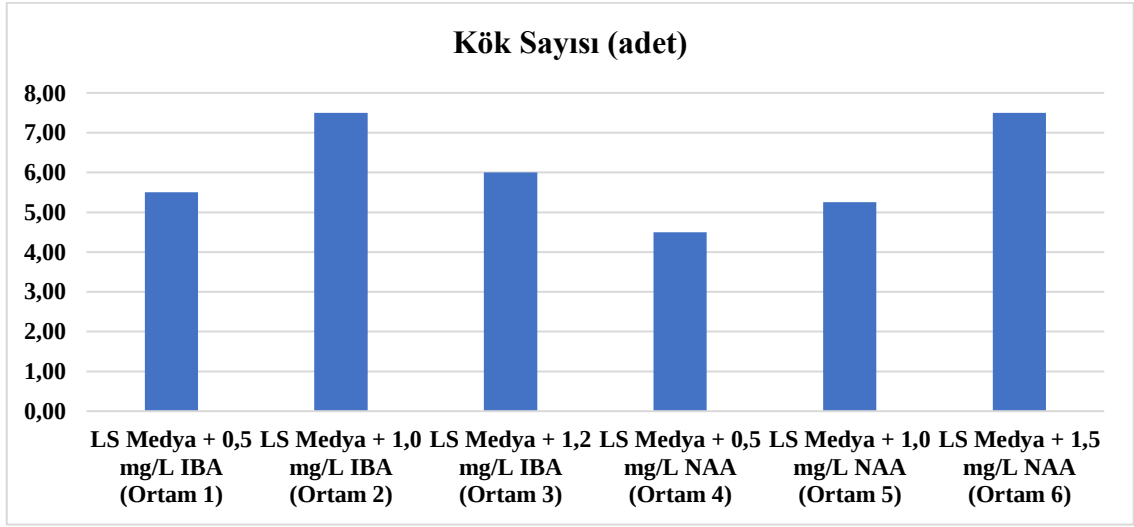
**:%1 düzeyinde önemlidir.

En fazla kök sayısı besi ortamına 1 mg/L IBA dozunun ilave edildiği muameleden (Ortam 2) ve 1.5 mg/L NAA eklenen muameleden (Ortam 6) elde edilmiştir. Bunu 5.50 adet ile LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1), 5.25 adet ile LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5) dozunun ilave edildiği muamele takip etmiştir. Ortam 1, Ortam 3, Ortam 4 ve Ortam 5 olarak kodlanan muamelelerden elde edilen kök sayısı istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.18). En düşük kök sayısı LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından (4.5 adet) elde edilmiş (Şekil 4.9), LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1) eklenen medya ortamı ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Patil ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sürgün başına önemli ölçüde maksimum kök sayısı 0.5 mg/L IBA + 0.5 mg/L IAA + 0.1 mg/L NAA ortamında 1.3 adet olarak bulunmuştur (Patil ve ark., 2021). 2010 yılında bazı *Lilium* türleriyle yapılan bir çalışmada 6-BA, NAA, IAA ve IBA hormonlarının köklenme üzerindeki başarısı bildirilmiştir (Chen ve ark., 2010).

Çizelge 4.18. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının kök sayısına etkileri (adet)

Muamele	Kök Sayısı (adet)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	5.50 bc
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	7.50 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	6.00 b
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	4.50 c
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	5.25 cb
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	7.50 a

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).



Şekil 4.9. Kök sayısı değişimi (adet)

4.10. Kök Boyu (cm)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen kök boyu üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.19’da verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının kök boyu üzerine etkisi ($P < 0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.19. Kök boyu ait varyans analiz sonuçları

Kök Boyu (cm)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	17.17	3.43	59.89**
Hata	18	1.03	0.05	
Genel	23	18.20		

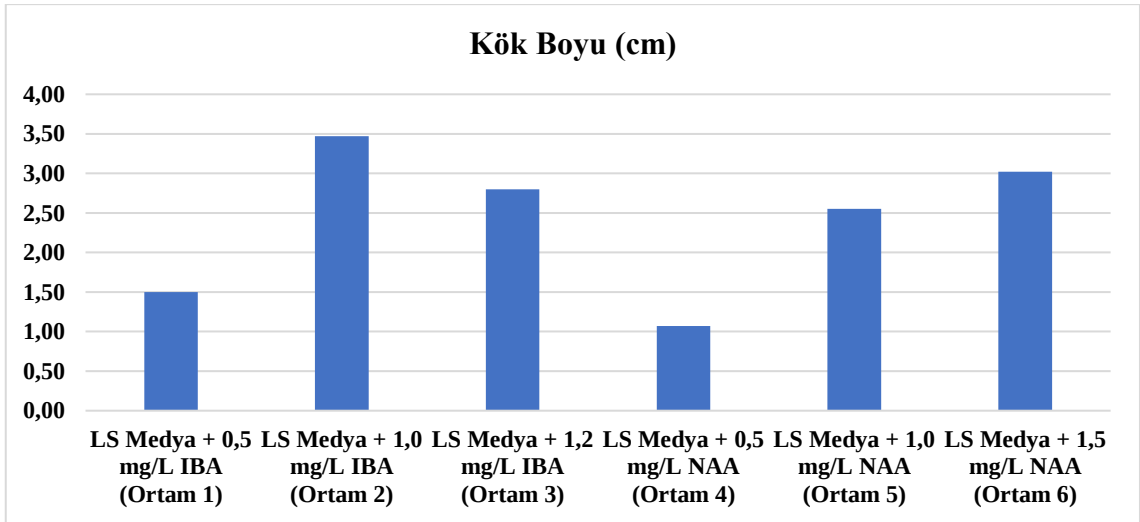
**:%1 düzeyinde önemlidir.

En uzun kök boyu besi ortamına LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2) ilave edildiği muameleden (3.47 cm) elde edilmiştir. Bunu 3.02 cm ile kök boyu ile LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6) ortamı takip etmiştir. Ortam 3, Ortam 5 ve Ortam 4 olarak kodlanan medya ortamlarından elde edilen kök boyları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.20). En düşük kök boyu LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından (1.07 cm) elde edilmiş (Şekil 4.10), LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1) medya ortamından elde edilen kök boyları (1.5 cm) ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. 2021 yılında ak zambak ile yapılan bir çalışmada 0.5 mg/L IBA + 0.5 mg/L IAA + 0.1 mg/L NAA ortamlarında kök boyu 2.5 cm bulunmuştur (Patil ve ark., 2021).

Çizelge 4.20. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının kök boyuna etkileri (cm)

Muamele	Kök Boyu (cm)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	1.50 d
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	3.47 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	2.80 bc
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	1.07 e
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	2.55 c
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	3.02 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 4.10. Kök boyu değişimi (cm)

4.11. Kök Ağırlığı (mg)

LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen kök ağırlığı üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.21’de verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının kök ağırlığı üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.21. Kök ağırlığına ait varyans analiz sonuçları

		Kök Ağırlığı (mg)		
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	10 251.65	2 050.33	52.59**
Hata	18	701.81	38.98	
Genel	23	10 953.46		

**:%1 düzeyinde önemlidir.

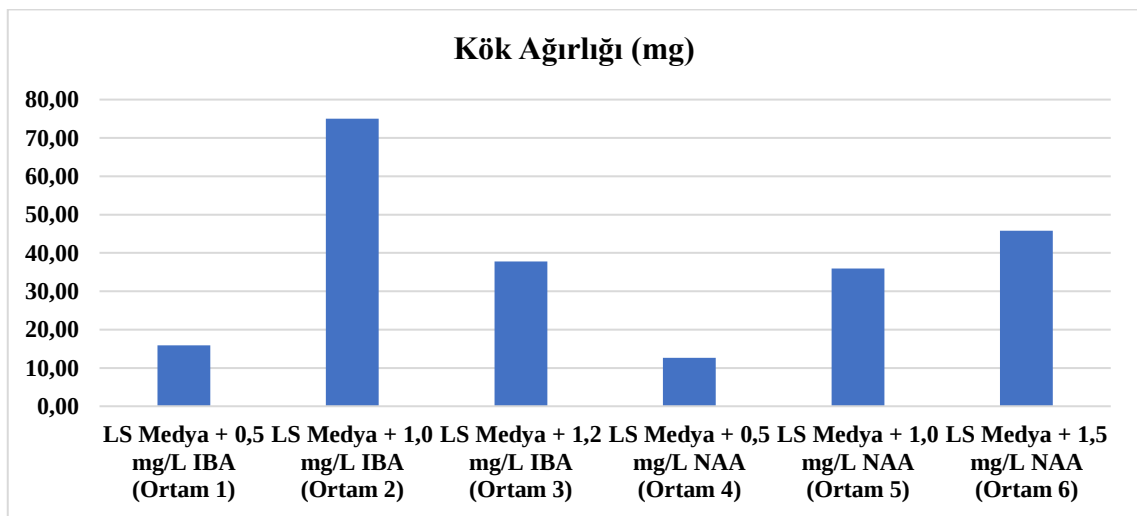
En fazla kök ağırlığı LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2) eklenen muameleden (75 mg) elde edilmiştir. Bunu 45.75 mg bitki ağırlığı ile LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6) muamele takip etmiştir. Ortam 1 ve Ortam 4 olarak kodlanan besi ortamlarından elde edilen kök ağırlıkları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.22). En düşük kök ağırlığı ise LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından (12.62 mg) elde edilmiş (Şekil 4.11), LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1) besi ortamından elde edilen kök ağırlığı (15.87 mg) ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır.

2015 yılında tıbbi ve aromatik bitkilerle ilgili yapılan çalışmada birçok sekonder metabolitin sentez ve depolama organı olması, geleneksel yöntemlerde karşılaşılan birçok sorunu ortadan kaldırması amacı ile in vitro tekniklerin önem arz ettiği belirlenmiştir (Demirci ve ark., 2015). Yine 2021 yılında yapılan bir çalışmada IBA dozlarının arttıkça kök ağırlıklarının arttığına dair bilgi verilmiştir (Selim ve Kahraman, 2021).

Çizelge 4.22. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının kök ağırlığına etkileri (mg)

Muamele	Kök Ağırlığı (mg)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	15.87 d
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	75.00 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	37.80 bc
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	12.62 d
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	35.97 c
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	45.77 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).



Şekil 4.11. Kök ağırlığı değişimi (mg)

4.12. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Kök Boyları (cm):

İn vitro ortamda yetiştirilip seraya aktarılan bitkilerin, aynı dozda TDZ içeren LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen kök boyları üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.23'te verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin kök boyları üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.23. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Kök Boylarına ait varyans analiz sonuçları

Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak zambak Bitkilerinin Kök Boyları (cm)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	228.05	45.61	362.88**
Hata	18	2.26	0.13	
Genel	23	230.32		

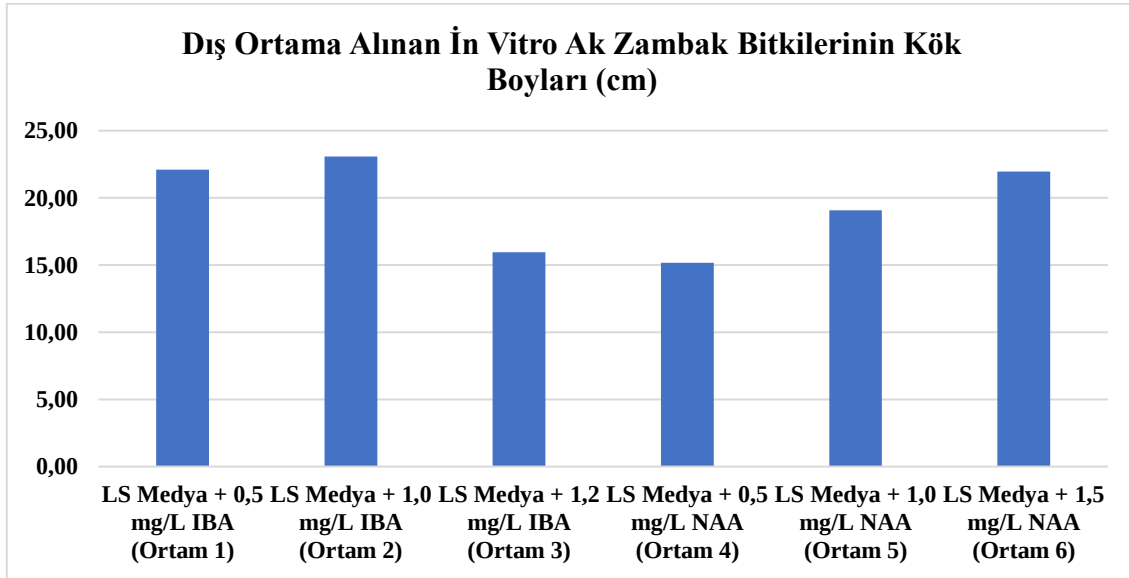
**:%1 düzeyinde önemlidir.

Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin en fazla kök boyu 23.07 cm ile LS Medya + 1,0 mg/L IBA eklenen muameleden (Ortam 2) elde edilmiştir. Bunu 22.10 cm ve 21.95 cm kök boyu ile Ortam 1 ve Ortam 2 olarak kodlanan muameleler takip etmiştir. LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1) ve LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6) medya ortamlarından elde edilen kök boyları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.24). En düşük kök boyu LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından (15.17 cm) elde edilmiştir (Şekil 4.12). 2021 yılında kardelen (*Galanthus woronowii*) soğanları üzerinde yapılan bir çalışmada 1.0 mg/L IBA içeren besi ortamında en yüksek kök boyu ortalaması bulunduğu belirtilmiştir (Öztürk, 2021).

Çizelge 4.24. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının kök boyuna etkileri (cm)

Muamele	Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Kök Boyları (cm)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	22.10 b
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	23.07 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	15.95 d
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	15.17 e
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	19.07 c
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	21.95 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).



Şekil 4.12. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin kök boyları (cm)

4.13. Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Yaprak Boyu (cm):

İn vitro ortamda yetiştirilip seraya aktarılan bitkilerin, aynı dozda TDZ içeren LS ortamına ilave edilen farklı IBA ve NAA konsantrasyonlarından elde edilen yaprak boyu üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.23'te verilmiştir. IBA ve NAA dozlarının dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin yaprak boyu üzerine etkisi ($P<0,01$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.25. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin yaprak boyuna ait varyans analiz sonuçları

Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Yaprak Boyları (cm)				
Varyasyon kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Muamele	5	69.25	13.85	83.66**
Hata	18	2.98	0.16	
Genel	23	72.23		

**:%1 düzeyinde önemlidir.

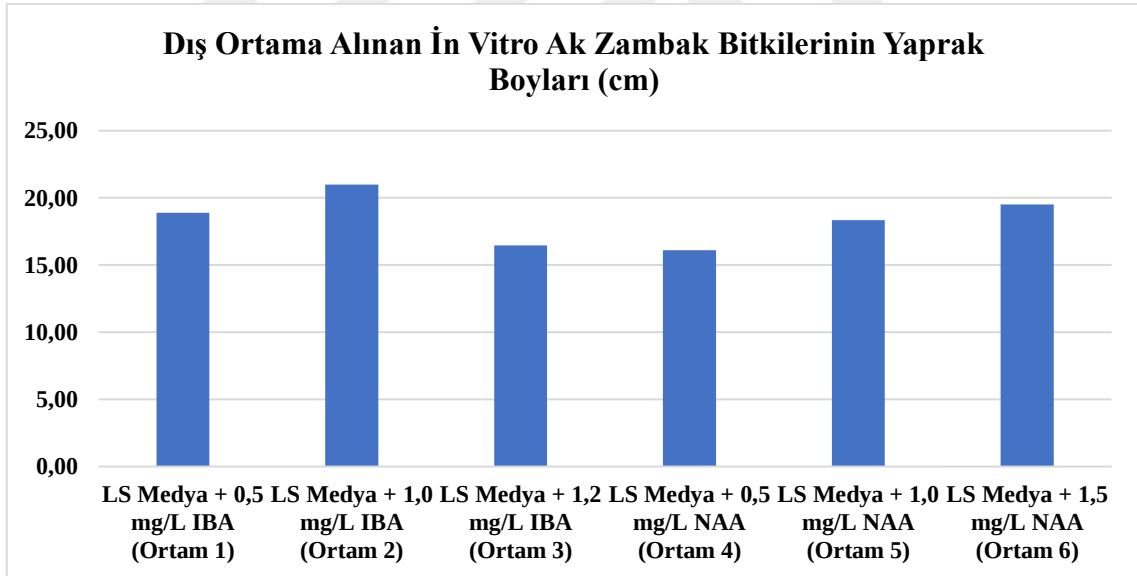
Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin en fazla yaprak boyu 21 cm ile LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2) besi ortamından elde edilmiş, 18.9 cm ile LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1) eklenen muamele ile aynı istatistiksel grup içerisinde yer almıştır.

Bunu 19.50 cm yaprak boyu ile LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6) besi ortamı takip etmiştir. Ortam 3, Ortam 4 ve Ortam 5 olarak kodlanan besi ortamlarından elde edilen yaprak boyları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.26). En düşük yaprak boyu 16.10 cm ile LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4) besi ortamından elde edilmiştir (Şekil 4.13).

Çizelge 4.26. Farklı bitki düzenleyicileri kullanılarak elde edilen besi ortamlarının yaprak boyuna etkileri (cm)

Muamele	Dış Ortama Alınan İn Vitro Ak Zambak Bitkilerinin Yaprak Boyları (cm)
LS Medya + 0,5 mg/L IBA (Ortam 1)	18.90 a
LS Medya + 1,0 mg/L IBA (Ortam 2)	21.00 a
LS Medya + 1,2 mg/L IBA (Ortam 3)	16.45 d
LS Medya + 0,5 mg/L NAA (Ortam 4)	16.10 d
LS Medya + 1,0 mg/L NAA (Ortam 5)	18.35 d
LS Medya + 1,5 mg/L NAA (Ortam 6)	19.50 b

Aynı sütunda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).



Şekil 4.13. Dış ortama alınan in vitro ak zambak bitkilerinin yaprak boyları (cm)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye florasında kendiliğinden yetişen ak zambak bitkisinin doğadan bilinçsiz ve kontrolsüz sökümler sonucu yayılışının azalması, yaptırımlarının olmaması, çoğaltım aşamasının da pahalı ve uzun zaman alması, araştırmacıları yeni yetiştirme yöntemleri arayışlarına yöneltmiştir. Primer ve sekonder metabolitler açısından da önemli olan bu bitkinin tarımsal alanda önem göstermesi sebebiyle birim alandan alınan ürünlerin daha kaliteli, hastalıklardan ari olması ve ticari pazarda yer alması bu konuda önemlidir.

Normal koşullarda uzun bir süreçte yetiştirilen ak zambak bitkisi, doku kültürü yöntemleri ile çok daha kısa sürede yetiştirilebilir. Bu tür tespitlerin neticesinde doku kültürü uygulamaları sayesinde çoğaltım materyali üretilip hammadde arayışı azalacak, verim ve verimle ilgili parametreler bakımından nitelikli, hastalıktan ari bitkiler yetiştirilebilecek, bitki gen kaynakları korunup sürdürülebilir hale gelebilecek ve dışa bağıllığı azaltacaktır. Ayrıca ülkemiz açısından endemik bitki özelliği taşıyorsa da bilinçsizce sökülmesinden kaynaklı olarak, Ulusal ve Uluslararası “zarar görebilir” tehlike kategorisine alınmış, Türkiye Kırmızı Kitabı’nda çeşitli tehlike kademelerinde bulunan soğanlı bitkiler arasında hariç tutulmuştur. Çeşitli yaptırımların getirilmesi ve uygunsuz doğadan sökümünün önüne geçilmelidir.

Ekonomik değeri yüksek, tıbbi aromatik ve süs bitkisi olarak kullanılan *Lilium* cinslerinin in vitro koşullarda doku kültürü ve mikro çoğaltım çalışmaları 1950’den günümüze giderek artmış, birçok çalışmada da başarı elde edilmiştir. 1998 yılında Nhut’un *Lilium longiflorum* bitkisi üzerinde yapmış olduğu doku kültürü çalışmasında MS ortamında kültüre alınmış ve sürgünler elde edilmiş ve köklendirilmede her boğumda yavru soğancıkların oluştuğu bildirilmiştir. Çalışmamız da TDZ ve NAA tuzlarının farklı konsantrasyonlarda hazırlanan karışımlarla başarı sağlanmış olup 0.2 mg/L NAA ve 0.6 mg/L TDZ tuzlarının eklendiği ortamda eksplant başına düşen en fazla sürgün sayısı 17.37 adet, eksplant başına düşen en yüksek sürgün ağırlığı 231.5 mg ve eksplant başına düşen en yüksek sürgün boyu ise 3.65 mm olarak önemli ölçüde üstünlük sağlamıştır. Köklenme ortamı için IBA ve NAA tuzlarının farklı konsantrasyonlarından hazırlanan karışımlarda 1 mg/L IBA ve 1.5 mg/L NAA eklenen ortamlar üstünlük göstermiş olup 1 083.5-1 301.5 mg bitki ağırlığı, 14.80-15.32 cm bitki boyu, 4.25-4.5 adet yaprak sayısı,

70.57-86.95 mg yaprak ağırlığı, 10.35-10.47 cm yaprak boyu, 7.5 adet kök sayısı, 3.02-3.47 cm kök boyu ve 45.0-75.0 mg kök ağırlığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, bitki ağırlığı, bitki boyu, yaprak ağırlığı, yaprak boyu, kök sayısı, kök boyu ve kök ağırlığı gibi verim ve verimle ilgili parametreler bakımından en yüksek değerler Ortam 2'den elde edilmişken bunu sırayla Ortam 6, Ortam 3, Ortam 5, Ortam 1 ve Ortam 4 takip etmiştir. Yine dış ortama alınan ak zambak bitkilerinin kök boyu ve yaprak boyu bakımından en yüksek değerler sırasıyla Ortam 2, Ortam 6, Ortam 1, Ortam 3, Ortam 5 ve Ortam 4'ten elde edilmiştir. Bu verilerden farklı olarak en yüksek yaprak sayısı Ortam 2'de görülürken bunu Ortam 6, Ortam 5, Ortam 1, Ortam 4 ve Ortam 3 takip etmiştir.



KAYNAKLAR

- Akpınar H. (2023). *Lilium candidum*'un Fitokimyasal Özellikleri ve Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi (Master's thesis, Üsküdar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Anonim, 2010. Türkiye'den ihraç edilen soğanlı bitkiler. <http://www.tugem.gov.tr>; 07.07.2022
- Anonim, 2017 White Lily. <http://www.home-remedies-for-you.com/herbs/white-lily.html>; 02.05.2017
- Arzate-Fernandez, A. M., Nakazaki, T., Okumoto, Y., & Tanisaka, T. (1997). Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anther in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.). Plant Cell Reports, 16(12), 836-840.
- Aydın, E., & Dayan, S. (2021). Tehlike altındaki *Bellevia edirnensis* özhatay & mathew'in doku kültürü üzerine araştırmalar (Master's thesis, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Bakır, Ö. (2020). Sekonder metabolitler ve rolleri. Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi, 2(4), 39-45.
- Betties, D.T., White, J.W., 1993. *Lilium* hybrids and species. In: De Hortogh AA, Le M (eds.) Physiology of flower bulbs. Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo, pp 423-254.
- Burun, B., & Sahin, O. (2013). Micropropagation of *Lilium candidum* L.: a rare and native bulbous flower of Turkey. Bangladesh Journal of Botany, 42(1), 185-187.
- Chen, L.-j., Zhang, X.-g., Ma, S., Zhong, M., Guo, Z.-f., & Ming, J. (2010). Study on the Rapid Propagation of *Lilium* orientalis and *Lilium Longiflorum*. (B. a. University, Dü.) Institute of Vegetables and Flowers of Chinese Academy of Agricultural Sciences(110-161;2).
- Çalışkan, T., Hatipoğlu, R., & Kırıcı, S. (2019). Production of plant secondary metabolites from cell and organ cultures under in vitro conditions. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 7(7), 971-980.
- Daneshvar Royandazagh, S., Pehlivan, E. C., Teykin, E. E., & Çiftçi, H. S. (2014). *Lilium candidum* L.'da in vitro mikroçoğaltım ile kozmetik sanayisine ham madde temini. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 1(Özel Sayı-2), 1911-1916.
- Daneshvar Royandazagh, S., & Pehlivan, E. C. (2016). *Lilium candidum* L.'da In vitro Mikroçoğaltım ve Alkaloidler/In vitro Micropropagation of *Lilium candidum* L. and Alkaloids. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 13(3), 100.
- Demirci, T., Özdamar, P., & Baydar, N. G. (2015). Tıbbi ve aromatik bitkiler ile sebzelerde kök kaynaklı sekonder metabolitlerin üretiminin artırılmasına yönelik in vitro uygulamalar. Turkish Journal Of Agriculture-Food Science And Technology, 3(5), 261-270.

- Deswiniyanti, N., & Lestari, N. (2020). in vitro propagation of *Lilium longiflorum* bulbs using NAA and BAP plant growth regulator treatment. The 2019 International Conference on Biotechnology doi:10.18502/ikls.v5i2.6437
- Dinçer, D., Bekçi, B., & Bekiryazıcı, F. (2016). Türkiye'deki doğal bitki türlerinin üretiminde doku kültürü tekniklerinin kullanımı. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5, 295-302.
- Dayıoğlu, H., Yılmaz, A., & Başaran, G. (2019). Türkiye'de Biyokaçakçılık. Journal of the Institute of Science & Technology of Dumlupınar University/Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, (43).
- Demirel, M. S. (2012). Türkiyede yayılış gösteren doğal *Lilium L.(liliaceae)* taksonlarının morfolojik ve palinolojik özellikleri (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- El-Naggar, H., Osman, A., & Sewedan, E. (2012). In vitro propagation and organogenesis of *Lilium 'Prato'*. African Journal of Biotechnology, 11(82), 14771-14776.
- Gürsan, D. (2014). Bazı zambak (*lilium spp.*) türlerinin in vitro çoğaltımı (Master's thesis, Uludağ Üniversitesi).
- Haladova M, Buckova A, Eisenreichova E, Uhrin D, Tomko J (1987) Jatropha in *Lilium candidum* L. Chem Papers 41: 835-837.
- Jin L, Zhang Y, Yan L, Guo Y, Niu L (2012) Phenolic compounds and antioxidant activity of bulb extracts of six *Lilium* species native to China. Molecules 17(8): 9361-9378.
- Karakaş, H. (2021). Farklı Besin ortamlarında kültüre alınan *Lilium candidum* L.'nin mikroçoğaltımı ve Kriyoprezervasyonu için Biyoteknolojik yöntemlerin Oluşturulması (Master's thesis, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi).
- Karan, Y. B., & Özdemir, Ş. (2021). Farklı Besi Ortamlarının Tatlı Patateste in Vitro Çoğaltım Üzerine Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(9), 1647-1652.
- Kalyoncu D. 2007 Bazı yabancı *Tulipa* türlerinde In Vitro soğancık üretimi ve tarla şartlarına adaptasyonu. Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Kanmaz, E. (2013). Kum zambağı (*Pancratium maritimum* L.)'nın in vivo ve in vitro koşullarda tohumla üretimi üzerine bir çalışma (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Karaoğlu, C. (2010). Soğanlı bitkiler ve in vitro hızlı çoğaltım. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 19(1-2), 24-29.
- Khan, S., Jaskani, M. J., Iqbal, M. Z., & Rafiq, A. (2015). Rapid multiplication of ornamental bulbous plants of *Lilium orientalis* and *Lilium longiflorum*. International Journal of Modern Agriculture, 4(4), 57-61.

- Khawar, K. M., Cocu, S. A. T. I., Parmaksiz, I., Sarihan, E. O., & Ozcan, S. (2005). Mass proliferation of Madonna lily (*Lilium candidum* L.) under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 37(2), 243.
- Kumlay, A. M., & Eryigit, T. (2011). Growth and development regulators in plants: plant hormones. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 1(2), 47-56.
- Kuroda, M., Sashida, Y., Hatakeyama, Y. 1998. New Steroidal constituents from the bulbs of *Lilium candidum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 46(11): 1829-1832.
- LingFei X, FengWang M and Dong L. 2009. Plant regeneration from in vitro cultured leaves of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. unicolor) *Scientia Horticulturae* 119 : 458–61
- Mir, J., Ahmed, N., Itoo, H., & Sheikh, M. (2012). in vitro propagation of *Lilium* (*Lilium longiflorum*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 82(5), 455-458.
- Mojtahedi, N., Koobaz P. Fathi M., Dabirashrafi O., Azadi P., Khosravi S. 2014. "Maturing, enlarging and breaking dormancy of in vitro *Lilium* bulblets", *Int J Hortic Sci Technol*, 1, 101– 109.
- Patil, A. M., Gunjal, P. P., & Das, S. (2021). In vitro micropropagation of *Lilium candidum* bulb by application of multiple hormone concentrations using plant tissue culture technique. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 8(2), 244-253.
- Öztürk, G. (2021). Kardelenin (*Galanthus woronowii*) in vitro rejenerasyonu. *MAS Journal of Applied Sciences*, 6(4), 1027-1033.
- Phillips, G. C. vd. (2019). "Plant tissue culture media and practices: an overview." 55(3): 242-257.
- Rasoulinezhad S, Yekta NH, Fallah E (2019) Promising pain-relieving activity of an ancient Persian remedy (mixture of white *Lily* in sesame oil) in patients with chronic low back pain. *J Family Med Prim Care* 8(2): 634
- Sağlam, A. C., Yaver, S., & Çinkılıç, L. (2016). Tıbbi Aromatik Bitkiler Eğitim Ve Koleksiyon Bahçesi.
- Selim, C. & Kahraman, E. (2021). Farklı IBA (İndol-3-Bütirik Asit) Dozlarının Endemik *Phlomis chimerae* Boiss. Türü Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine Etkileri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 23(1), 1-8.
- Sezgin, M., & Kapdan, E. (2019). Propagation of Some Medicinal and Aromatic Plants in Turkey by Biotechnological Methods.
- Sheridan, W. F. (1968). Tissue culture of the monocot *Lilium*. *Planta*, 82(2. H), 189-192.
- Şahin, A. (1993). U. S. B. B. Ekolojik denge ve yok olan değerlerimiz. *Çevre Dergisi*, 9, 15-20.

- Şenel, Ü., & Haspolat, G. (2019). Barış Zambakında (*Spathiphyllum wallisii*) İn Vitro Fenotipik Değişiklikler.
- Tokgün O, Akca H, Mammadov R, Aykurt C, Deniz G (2012) *Convolvulus galaticus*, *Crocus antalyensis*, and *Lilium candidum* extracts show their antitumor activity through induction of p53-mediated apoptosis on human breast cancer cell line MCF-7 cells. *J Med Food* 15(11):1000-1005
- Turhan, H. (2015). Türk zambağı (*Lilium martagon L.*) soğanlarında IBA (Indole butirik asit)nın yavru gövde oluşumu ve köklenmeye etkisi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Vachalkova A, Eisenreichova E, Haladová M, Mucaji P, Józová B, et al. (2000) Potential carcinogenic and inhibitory activity of compounds isolated from *Lilium candidum L.* *Neoplasma* 47(5): 313-318
- Yılmaz, A., & Çiftçi, V. (2021). Türkiye’de defne (*Laurus nobilis L.*) bitkisinin durumu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (22), 325-330.
- Yel, O. (2021). Gümüş nanopartikül (AgNP) uygulamalarının *Pistacia lentiscus L.* sürgün kültürlerinde antioksidan ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri (Master's thesis, Batman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü).
- Ziolkowski EJ, Lily III (2018) Literature and Music. In: de Gray W (ed). *Encyclopedia of the Bible and Its Reception*. 16: 678-683.

ÖZGEÇMİŞ

