



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***COTINUS COGGYRIA* 'ROYAL PURPLE'İN
MİKROÇOĞALTIM TEKNİKLERİ
KULLANILARAK ÜRETİMİ**

Ayşe AYHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Ay-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Ayşe AYHAN tarafından hazırlanan *Cotinus coggygia* 'Royal Purple'ın Mikroçoğaltım Teknikleri Kullanılarak Üretimi adlı tez çalışması 02/09/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR

.....

Danışman

Prof. Dr. Muhammad ASIM

.....

Üye

Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAĞI

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. S. Savaş DURDURAN
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

AYŞE AYHAN

Tarih:

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****COTINUS COGGYGRIA ‘ROYAL PURPLE’İN MİKROÇOĞALTIM
TEKNİKLERİ KULLANILARAK ÜRETİMİ****Ayşe AYHAN****Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı****Danışman: Prof. Dr. Muhammad ASIM****2020, 38 Sayfa****Jüri****Prof. Dr. Muhammad ASIM****Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR****Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI**

Bu çalışmada, önemli bir süs ve tıbbi bitkisi olan *C. coggygria* (Royal Purple)'nin *in vitro* koşullarda hızlı ve çoklu üretimi amaçlanmıştır. *C. coggygria*'nın yüzey sterilizasyonu için %70 lik etil alkol ve %25 ticari çamaşır suyu kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda elde edilen steril bitkilerin koltuk altı meristem eksplantları *in vitro* koşullarda çoğaltım için kullanmak üzere farklı oranda BAP + IBA veya NAA içeren MS ile WPM temel besin ortamlarına 4 hafta boyunca kültüre alınmıştır. MS bazlı denemelerde %100 sürgün rejenerasyonu 1,00 mg/L BAP, 2,00 mg/L BAP veya 2,00 mg/L BAP + 0,05 mg/L NAA + 0,05 mg/L IBA içeren ortamlarda gözlemlenirken eksplant başına maksimum sürgün sayısı (3,25 adet) 2,00 mg/L BAP içeren MS ortamda gözlemlenmiştir. WPM bazlı denemelere bakıldığında ise maksimum rejenerasyon oranı ve eksplant başına maksimum sürgün sayısı (2,37) 1,00 mg/L BAP + 0,10 mg/L IBA içeren ortamlarda izlenmiştir. Elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi farklı oranda NAA ve IBA içeren MS ortamında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlarına göre maksimum kök rejenerasyon oranı (%66,0) 2,00 mg/L NAA ve 2,00 mg/L IBA içeren MS ortamında gözlemlenmiştir. Köklendirilen sürgünler dış koşullara alıştırılması için saksılara aktarılmış ve 6 haftanın sonunda bitkilerin dış koşullara başarılı adaptasyonu gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasında *C. coggygria* 'Royal Purple' bitkisinin ticari ve hızlı üretimi için mükemmel bir protokol sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *In vitro* üretim, Kök rejenerasyonu, Koltuk altı meristem eksplantı, Oksin, Sitokinin, Sürgün rejenerasyonu

ABSTRACT**MS THESIS****PRODUCTION OF *COTINUS COGGYGRIA* 'ROYAL PURPLE' USING
MICROPROPAGATION TECHNIQUES****AYŞE AYHAN****THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY THE DEGREE OF MASTER OF
SCIENCE MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS DEPARTMENT****Advisor: Prof. Dr. Muhammad ASIM****2020, 38 Pages****Jury****Prof. Dr. Muhammad ASIM****Prof. Dr. Khalid MAHMOOD****Assoc. Prof. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI**

This study aims the rapid and multiple regeneration of an important ornamental and medicinal plant *C. coggygia* (Royal purple) under in vitro conditions. For the sterilization of *C. Coggygia*, 70% alcohol and 25% commercial bleach was used. Nodal segments explants isolated from in vitro sterilized plants were cultured on MS or WPM basal medium supplemented with BAP+ IBA or NAA for 4 weeks. Shoot regeneration frequency of 100% was achieved on MS basal medium containing 1.00 mg/L BAP, 2.00 mg/L BAP or 2.00 mg/L BAP + 0.05 mg/L NAA + 0.05 mg/L IBA. Whereas, maximum shoot counts (3.25) were observed on MS medium enriched with 2.00 mg/L BAP. Maximum shoot regeneration frequency and shoot counts (2.37) from WPM basal medium was observed on medium supplemented with 1.00 mg/L BAP + 0.10 mg/L IBA. Rooting of in vitro regenerated shoots were done on MS medium having different concentrations of NAA or IBA. The results revealed maximum rooting frequency of 66.0% from MS medium containing either 2.00 mg/L NAA or 2.00 mg/L IBA. The rooted plantlets were transferred to pots for acclimatization and observed successful adaptation after 6 weeks. This study presents the complete and easy protocol for the rapid and commercial propagation of *C. coggygia* (Royal purple).

Key Words: Auxin, Cytokinin, In vitro production, Nodal meristem explant, Rooting, shoot regeneration

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenim sürecimde, çalışmalarım esnasında ilgisini ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Muhammad ASIM'a, sonsuz teşekkürler sunarım.

Ayrıca, yüksek lisans öğrenciliğim boyunca her konuda destekçim olan, hayallerim konusunda beni destekleyen canım annem Yedigâr AYHAN ve canım babam Halil AYHAN'a, çalışmalarım süresince her koşulda maddi ve manevi desteği ile arkamda olduğunu bildiğim erkek kardeşim A. Can AYHAN'a, çalışmalarım boyunca bana gerekli desteği ve sabrı gösteren sevgili arkadaşlarım M. Ceren OKCUOGLU, M. Melih BUL ve Nuran Gül BORAZAN'a,; yüksek lisans çalışmalarım sırasında benden desteğini esirgemeyip, önerileri ile çalışmamda katkıda bulunan Alpaslan Şevket ACAR'a ve yine bu süreçte sabırla yanımda olan ADA BİYOTEKNOLOJİ ailesi ve ekip arkadaşım Ayşegül PAKÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

AYŞE AYHAN
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	v
TEZ BİLDİRİMİ	vi
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
ÖNSÖZ	3
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	6
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	7
SİMGELER VE KISALTMALAR	8
1. GİRİŞ.....	9
1.1. Dünyada ve Türkiye’de Süs Bitkilerinin Genel Durumu	9
1.2. <i>C. cogygria</i> (Royal Purple)	10
1.3. Bitki Biyoteknolojisi.....	11
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Bitki Materyali	17
3.1.2. Mikroçoğaltım İçin Kullanılan Eksplantlar	17
3.1.3. Büyüme Düzenleyicilerin Çözücüler ve Saklama Koşulları	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Besin Ortamı ve Kültür Koşulları	18
3.2.2. Bitki materyali yüzey sterilizasyonu için kullanılan kimyasallar	18
3.2.3. <i>In vitro</i> koşullarda <i>C. cogygria</i> (Royal Purple)’nın mikroçoğaltımı	20
3.2.4. Köklendirme ve Adaptasyon	21
3.2.5. Gözlem ve Ölçümler	22
3.2.6. Elde edilen verilerin istatistiki analizleri	22
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	23
4.1. <i>C. cogygria</i> ‘Royal Purple’ bitkisinin <i>In vitro</i> Çoğaltım Çalışmaları.....	23
4.1.1. Farklı konsantrasyonlarda BAP-NAA-IBA içeren modifiye edilmiş MS Ortamların Sürgün Rejenerasyonuna Etkileri	23
4.1.2. Farklı Konsantrasyonlarda BAP, NAA ve IBA İçeren modifiye edilmiş WPM Ortamın Sürgün Rejenerasyonuna Etkileri	26
4.2. <i>C. cogygria</i> ‘Royal Purple’ bitkisinin <i>In vitro</i> Köklendirme Çalışmaları	29
4.3. <i>C. cogygria</i> ‘Royal Purple’ Bitkisinin Alıştırma Çalışmaları.....	31

5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	38



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 Bitki Büyüme düzenleyicilerin çözücüleri ve saklama koşulları.....	18
Çizelge 3.2 MS (Murashige ve Skoog 1962) ve WPM ortamında (Lloyd ve McCown 1981) ortamında bulunan kimyasallar ve konsantrasyonları.....	20
Çizelge 3.3 Denemelerde kullanılan modifiye edilmiş Murashige ve Skoog (1962) (MS) ortamları ve kodları.....	20
Çizelge 3.4 Denemelerde kullanılan modifiye edilmiş Woody Plant Medium (WPM) ortamları ve kodları.....	21
Çizelge 3.5 Köklendirme amacıyla kullanılan modifiye edilmiş MS köklendirme ortamları ve kodları	22
Çizelge 4.1 Farklı BAP, NAA ve IBA içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	25
Çizelge 4.2 Farklı BAP, NAA ve IBA içeren MS ortamında <i>C. Coggyria</i> 'Royal Purple' bitkisinin sürgün rejenerasyonu.....	25
Çizelge 4.3. Farklı BAP, NAA ve IBA içeren modifiye edilmiş WP ortamlarında sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	27
Çizelge 4.4. Farklı BAP, NAA ve IBA içeren modifiye edilmiş WPM ortamlardan elden edilen sürgün rejenerasyon sonuçların ortalamalarının Duncan testi sonuçları.....	28
Çizelge 4.5 Farklı IBA ve NAA dozlarının <i>C. coggyria</i> 'Royal Purple' sürgünlerinin <i>in vitro</i> köklendirmesine ait varyans analizi.....	30
Çizelge 4.6 Köklendirme denemelerine ait kök rejenerasyon oranları.....	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

Şekil 4.1 Farklı BAP, IBA ve NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamlarda *C. coggygia* 'Royal Purple' bitkisinin *in vitro* sürgün rejenerasyonu**26**

Şekil 4.2 Farklı BAP, IBA ve NAA içeren WPM ortamlarda sürgün rejenerasyonu**29**

Şekil 4.3 2,00 mg/L IBA ve 2,00 mg/L NAA içeren $\frac{1}{2} \times$ MS kültür ortamında *C. coggygia* sürgünlerinin *in vitro* koşullarda köklendirilmesi.....**32**

Şekil 4.4 *in vitro* köklendirilmiş *C. coggygia* 'Royal purple' ın dış koşullara alıştırmış görüntüsü.....**33**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Cm	Santimetre
Dk	Dakika
g, mg	Gram, miligram
HCl	Hidroklorik Asit
l, ml,	Litre, mikro litre,
M, µM	Molar, mikro molar,
N	Normal
Sn	Saniye

Açıklama

Kısaltmalar

2,4-D	2, 4-Diklorofenoksi Asetik Asit
AC	Aktif Kömür
Atm	Atmosfer Basıncı
AgNO₃	Gümüş Nitrat
BAP	6-Benzilaminopurin
DICA	Sodium dichloroisocyanurate
GA₃	Giberellik Asit
IBA	Indol 3 Butirik Asit
KIN	Kinetin
K.O.	Kareler Ortalaması
MS	Murashige ve Skoog Temel Besin Ortamı
mT	Meta-topolin
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NaOH	Sodyum Hidroksit
NN	Nitsch & Nitsch Temel Besin Ortamı
QL	Quoirin & Lepoivre 1977 Temel Besin Ortamı
NAA	α- Naftalin Asetik Asit
PBT	Plant Biotechnology
PLB	Protokorm Benzeri Cisimler
S.D.	Serbestlik Derecesi
TDZ	Thidazuron (Fenil-3-1,2,3-thidiazol-5-il) üre
V.K.	Varyasyon Kaynakları
WPM	Woody Plant Medium Temel Besin Ortamı

1. GİRİŞ

1.1. Dünyada ve Türkiye’de Süs Bitkilerinin Genel Durumu

Kentsel alt yapının hızlı değişimiyle birlikte süs bitkilerine olan talep hızla artmaktadır. Süs bitkileri bahçeler, özel arazi ve kamusal alanlarda kullanılan günümüz mimarisinin ayrılmaz bir unsuru haline gelmektedir (Pacholczak ve ark., 2012). Süs bitkilerini tanımlamak gerekirse, estetik, fonksiyonel ve ekonomik amaçlarla üretilen, çoğaltımı yapılan bitkiler olarak tanımlanabilmektedir. Süs bitkisi kavramı çok genel bir kavram olmakla birlikte, kendi içinde 4 ana grupta incelenebilmektedir;

- 1-Kesme çiçekler
- 2- İç mekân süs bitkileri
- 3-Dış mekân süs bitkileri
- 4-Doğal çiçek soğanları (Özyavuz, 2005).

Süs bitkilerinin doğal yaşamda üstlendiği görev ise; insan ile doğal alan arasında bağ kurmak, biyolojik konfor gibi ihtiyaçları karşılamak olarak sayılabilmektedir (Anonim, 2020). Dünya’da ve Türkiye’de süs bitkilerinin pazarı son 40 yılda bir hayli gelişmiştir. Gelişmiş ülkeler bu konuyla alakalı yeni teknolojileri üretimde kullanırken, gelişmekte olan ülkeler doğal kaynaklardan ve ekolojik avantajlarından faydalanarak ülke ekonomilerine katkı sağlamaktadır (Özyavuz, 2005). Dünyada günümüzde yaklaşık 550.000 ha alanda süs bitkisi üretimi yapılmaktadır. Bu değer toplam süs bitkileri üretim alanının %39’unu oluşturmaktadır. Dünya çapında ulaştığı 8,3 milyar dolarlık ihracatı ve 8,4 milyar dolarlık ithalatı ile gelişen bir yatırım alanı haline gelmektedir. Ülkemiz ise dünya kesme çiçek üretiminde yaklaşık %0,2’lik bir paya sahip olduğu bilinmektedir (Anonim, 2016)

Ülkemizde de şehirlerin büyüyüp, gelişmesi ile, estetik görüntülere duyulan ihtiyaç ve çevre bilinci artmaktadır ve süs bitkisi üretimine olan talepte de artış meydana gelmektedir (Anonim, 2020). Türkiye, çevresel faktörler konusunda birçok süs bitkisi türünü yetiştirmeye uygun alt yapıya sahiptir. Türkiye’de İzmir, Sakarya, Yalova, Antalya başta olmak üzere 55 ilde süs bitkisi üretimi yapılmaktadır. Ülkemizin bu zenginliğini kullanabilmek ve üretim çeşitliliği sağlayabilmek için

devlet-özel sektör iş birlikleri geliştirilerek AR-GE yatırımlarının ve çalışmalarının arttırılması sektörün geleceği açısından önemli olacaktır (Anonim, 2020).

1.2. *C. coggyria* (Royal Purple)

C. coggyria; *Anacardiaceae* ailesine ait Güney Avrupa, ile Himalaya ülkelerinde yetişen çok yıllık, güneş seven, çok yıllık bir çalıdır (Pijut, 2008). Ülkemizde Akdeniz Bölgesi, Trakya ve Kahramanmaraş-Gaziantep civarlarında yetiştirilmektedir ve halk arasında ‘Duman Ağacı’ olarak da bilinmektedir (Kaymaz, 2018). Farklı pH değerlerinde topraklara kolaylıkla uyum sağlayabildiğinden geniş yayılım alanına sahiptir (Pijut, 2008). *C. coggyria* cinsinin üyesi olan bitkiler, zararlı ve hastalığa dayanıklı, kuraklık toleransına sahip, nispeten soğuğa dayanıklı bitkiler olarak bilinmektedir (Tripp,1994).

Alternatif tıpta iltihap söktürücü, kanama durdurucu, yara iyileştirici ve diyareye karşı kullanılabilir. Ayrıca yaprakları yaralı bölgelere sarılarak, mide yaraları için de çayı demlenip içilebilir. Yapılan çalışmalarda bitkinin kanser, mikrobiyal enfeksiyonlar üzerinde etkilerinin bulunduğu ve yara iyileşmesine yardımcı olduğu gözlemlenmiştir (Kaymaz, 2018). Doğal olarak yetişen ağaçların yaprakları ve genç dalları, başta Bulgaristan olmak üzere parfümeride de kullanılabilir. Kökleri deri ve kumaşların boyanmasında kullanılabilir (Demirci ve ark., 2003).

Farmakolojik ve endüstriyel özelliklerinin yanı sıra, *C. coggyria* bitkisinin türleri ve çeşitleri süs tasarımı için çok önemlidir (Rovina ve ark., 2010). *C. coggyria* yaprak konusundan zengin, mor çiçek kütlelerine sahip, çalı görünümlü bir ağaçtır (Pijut, 2008). *C. coggyria* yaprakları, sıcaklık, ışık ve toprak içeriği gibi çeşitli çevresel faktörlere göre yeşilden koyu bir şarap moruna doğru renk değiştirir (Oren-Shamir ve ark., 1997). *C. coggyria* sonbaharda parlak sarı, turuncu ve kırmızımsı mor bir renge dönüşür ve bu özelliği ile kış manzaralarında tercih edilen bir bitki olarak bilinmektedir.

Çimlenmesi genellikle toprak yüzeyinde veya yüzeye yakın tabakada meydana gelmektedir (Gültekin ve ark., 2007). *C. coggyria* konvansiyonel olarak çoğaltıldığı zamanlarda tohumdan ve bitkisel köklü kesimlerden çoğaltılabilmektedir (Tripp,

1994). Tohum üretiminin birçok faktöre bağlı olduğu bilinmektedir. Bu faktörlerden biri de uygun ekim zamanının belirlenmesi olarak söylenebilir (Gültekin ve ark., 2007). Çelikler mümkün olduğunca erken mevsimlerde yapılmalıdır. Fakat bitkilerin canlılığı, renk parlaklığı ve kalitesi açısından çelikleme zamanı gibi etkenler iyi ayarlanmalıdır (Tripp, 1994).

Önemli doğal türlerimizden biri olan boyacı sumağının devamlılığının sağlanabilmesi ve ağaçlandırma çalışmalarında kullanılması, onun tohum özelliklerinin belirlenmesi, çimlenme probleminin çözülmesi ve fidan üretim tekniklerinin geliştirilmesine bağlı olduğu söylenebilmektedir (Gültekin ve ark., 2007). Genel olarak yüksek tohum dormansisi ile süs bitkilerinin çoğunun geleneksel çoğaltım yolları ile zordur. Bu nedenle, ekim materyali sayısı sınırlıdır ve çoğu zaman talep, tedarikleri aşmaktadır (Prakash, 2008).

1.3. Bitki Biyoteknolojisi

Bitki biyoteknolojisi; bitkilerin verimini, kalitesini arttırmak, hastalıktan arı bitki üretimini sağlamak, çevresel stres faktörlerinin etkilerini engellemek veya yok etmek için kullanılan, moleküler, hücresel ve doku kültürü teknolojilerinin kullanıldığı bir sistemdir (Onay ve ark., 2012). Birçok ülkede, bitki kaynaklarını, özellikle nadir ve nesli tükenmekte olan türleri korumak için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Bitki materyalinden hızlı klonlama için büyük bir potansiyel sunduğu için bitki doku kültürü en önemli koruma tekniklerinden biri olarak bilinmektedir. Bunun dışında ıslah, genetik ve biyoteknolojik araştırmalar ve endüstriyel hammaddelerin elde edilmesi gibi farklı amaçlar için gerekli bitki materyali üretiminde önemli rol oynamaktadır (Hasancebi ve ark., 2011). Bitki biyoteknolojisinin günümüzde ticari alanda kullanımını iki başlık altında incelemek mümkündür.

1-Bitkilerin ıslah ile çoğaltılması ve klonlanması

2-Farmasötik sanayisinde kullanılacak sekonder metabolit üretimi
(Onay ve ark., 2012).

Bitki biyoteknolojisi; üretiminin artırılması, bitki ıslah, çevresel faktörlerin bitki üzerindeki etkisinin azaltılması ve daha fazla besin hammaddelerin üretmesine olanak sağlamaktadır (Onay, 2012).

Bu çalışmanın amacı, *C. coggryria* (Royal Purple) bitkisinin *in vitro* koşullarda rejenerasyon potansiyelinin belirlenmesi olmuştur.



2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bitki biyoteknolojisi, yararlı veya faydalı bitki / bitki ürünleri geliştirmek için bitkilerin taranması ve genetik manipülasyonu için çok sayıda bilimsel araç ve tekniği içermektedir. Bu araç ve tekniklerin yeterliliği nanoteknolojik müdahaleler ile artırılabilir. Ayrıca, bu teknikleri bitkilerin verimini, kalitesini arttırmak, hastalıktan arı bitki üretimini sağlamak, çevresel stres faktörünün etkilerini engellemek veya yok etmek için kullanılmaktadır. Bitki biyoteknolojisinde diğer teknikler ile hücre, doku ve organ kültürü teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Onay ve ark., 2012).

Birçok ülkede, bitki kaynaklarını, özellikle nadir ve nesli tükenmekte olan türleri korumak için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Bitki doku kültürü en önemli koruma tekniklerinden biridir. Bunun dışında ıslah, genetik ve biyoteknolojik araştırmalar ve endüstriyel hammaddelerin eldeşi gibi farklı amaçlar için gerekli bitki materyali üretiminde önemli rol oynamaktadır (Hasancebi ve ark., 2011). Ayrıca, üretiminin artırılması, bitki ıslahı, çevresel faktörlerin bitki üzerindeki etkisinin azaltılması ve daha fazla besin hammaddesi üretmesine olanak da sağlamaktadır (Onay, 2012).

Bitkilerin yüzey sterilizasyonu mikroçoğaltımın en önemli basamaklarından birisidir. Başarılı bir yüzey sterilizasyonu sürecin başarısını önemli derecede etkilediği bilinmektedir. Yüzey sterilizasyonu bitkinin dış ortamdan aldığı bakteri, fungus gibi dışsal kontaminasyonu en aza indirmeye ve mümkünse tamamen temizlemeye yönelik bir basamaktır. Önemli olan kısım, etkili sterilizantları, doğru konsantrasyonda, doğru etki süresinde ve doğru kullanım sırasında etkili şekilde kullanmaktır. Popüler olarak kullanılan sterilizantlar, etanol, kalsiyum veya sodyum hipoklorit civa klorür ve hidrojen peroksittir (Orlikowska, 2016).

Vinterhalter ve ark. (1988) *Dracaena fragrans* üzerinde yaptıkları çalışmada genç gövde parçalarından 0.25-0,50 mg/L 2,4D içeren MS ortamda kallus elde etmiştir. Kallus dokusundan sürgün farklılaşması için 0,50-1,00 mg/L BAP ve 0,50-2,00 mg/L IBA veya 0,10-0,20 mg/L NAA içeren MS ortam kullanılmıştır. Sürgün uzamasını BAP inhibe ederken IBA ve NAA oksinleri tarafından uyarılmıştır. 0,50

mg/L IBA içeren ortamlar ise köklendirme için en etkili bulunmuştur. Köklerin uzaması ışıkla uyarılıp, karanlıkla inhibe edilmiştir.

Purohit ve ark. (1994) Nadir bulunan bitkisi *Chlorophytum borivilianum* üzerinde yaptıkları çalışmada *in vitro* klonal çoğaltım ve köklenmeyi incelemişlerdir. Eksplant olarak genç sürgün elde etmek için 5,00 mg/L BAP içeren MS ortam kullanılmıştır. Sürgün sayısı 3 hafta arayla yapılan alt kültürler sonucu 4 kat arttığı görülmüştür. Elde edilen tüm sürgünler $\frac{3}{4}$ MS ve 2,00 mg/L IBA içeren ortamlarda köklendirmeye alınmıştır. Bütün bu işlemlerin sonunda %67 oranında köklenmiş bitki elde edilmiştir.

Babu ve ark. (2000) *Murraya koenigii* (köri yaprağı ağacı) üzerinde yaptıkları çalışmalarda 1,00 mg/L BA ve 1,00 mg/L Kinetin içeren WPM ortamda kültürlenmiş olgun köri yaprağı sürgünlerinin köklenmesini incelemişlerdir. Çalışmada köklenmeyi WPM ortamı 0,25 mg/L NAA destekleyerek sağlamışlar ve köklenen bitkilerin %90'ını *ex vitro* ortama almadan önce pişkinleştirme odalarına aktarmışlardır.

Onay (2000) *Pistachio* üzerinde yaptığı çalışmada BA içeren MS ortam eksplant olarak ise olgun ağaçlardan alınan sürgünleri kullanmıştır. Maksimum sürgün oluşumu 2,00 mg/L BAP içeren MS ortamında gözlenmiştir. Mikro sürgünlerin köklendirilmesi için IBA ile desteklenmiş MS ortam kullanılmış, köklenen bitkiler adaptasyon sağlanmıştır.

Babu ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada *Cinnamomum camphora* (kafur ağacı) ağacının sürgün uçlarından aldıkları eksplantları BAP ve Kinetin ile desteklenmiş WPM ortamında kültüre almışlardır. Daha sonra elde edilen sürgünler aktif kömür (AC) ve IBA ile desteklenmiş WPM ortamında köklendirilmiş ve *ex vitro* ortama %90 adaptasyon sağlayarak güçlü bir rejenerasyon sistemi sağlamıştır.

Blanco ve ark. (2004) *Dracaena deremensis* üzerinde yaptıkları çalışmada konvansiyonel çoğaltımı zor olan bitkinin mikro çoğaltım ile daha hızlı üretilmesini hedeflemişlerdir. Farklı konsantrasyonda oksin ve sitokinin ile desteklenmiş MS ortamı kullanılan bu çalışmada en iyi sonucu 1,00 mg/L NAA ve 1,00 mg/L KIN içeren MS ortamdaki elde etmiş olup, MS ortamda köklenme elde edilmiştir.

Tilkat ve ark. (2005) Khinjuk fıstığı'nın (*Pistacia Khinjuk Stocks*) *in vitro* çoğaltımı için etkili bir yöntem geliştirmişlerdir. Eksplant olarak aseptik çimlendirilmiş khinjuk fıstığı sürgünleri kullanılmıştır. En iyi sonuçları; 30 g/L sükröz,

100 mg/L askorbik asit, 1,00 mg/L BA ve 7 g/L agar içeren Gamborg vitaminleri ile desteklenmiş MS ortamı üzerinde gözlemlenmiştir. En etkili köklendirme ise 0,50 mg/L IBA ile içeren MS ortamında elde edilmiştir.

Metivier ve ark. (2007) *C. coggyria* bitkisinin *in vitro* koşullarda kök rejenerasyonunu incelediği çalışmada; *in vitro* ortamda elde edilen mikro sürgünlerin çeşitli oksinlerle (IAA, IBA, NAA ve 2,4D) çoklu ve tekli kombinasyonlarını denemişlerdir. Elde edilen sonuçlarına göre; 10 µM IBA ile diğer uygulamalardan daha az kallus oluşumu ve %100 kök rejenerasyonu sağlanırken diğer uygulamalara kıyasla daha erken kök rejenerasyonu gerçekleştirilmiştir. 2,4 D'nin tekli kombinasyonunda kök rejenerasyonu gözlenmemiştir.

Prakash ve ark. (2007) yaptığı çalışmada *Searsia dentata*'nın *in vitro* rejenerasyonu için bir yöntem özetlenmiştir. Koltuk altı meristem eksplantlar 0,10 mg/L, 1,70 mg/L, 2,30 mg/L ve 2,80 mg/L BAP ile %3 sükröz içeren MS ortamında kültürlenmiştir. 2,80 mg/L BAP ile desteklenen MS ortamda koltuk altı meristem eksplantlardan ortalama 5.3 sürgün elde edilmiştir. Sürgün ucu eksplantları için ise 1,80 mg/L BAP ve 0,90 mg/L NAA içeren MS ortamında eksplant başına maksimum sürgün elde edilmiştir. *In vitro* rejenere sürgünler %3 sükröz ve 2,00 mg/L IBA içeren tam konsantrasyon MS ortamında köklendirilmiştir.

Maira ve ark. (2010) bu çalışmada, *Anthurium andreanum cv Rubrun*'un *in vitro* koşullarda mikro çoğaltım için etkili bir protokol açıklanmaktadır. Bitki tohumlar, 0,50 mg/L BAP ile içeren MS ortamında çimlendirilmiştir. Daha sonra 2,00 mg/L BA ve 0,50 mg/L NAA içeren MS ortamında alt kültüre alınmıştır. Mikro kesimlerden elde edilen dört haftalık sürgünlerin, gövde tabanında kallus proliferasyonu izlenmiştir. Kallus dokusundan sürgün ve bitkiciklerin gelişimi izlenmiştir.

Ruffoni ve ark. (2010) yılında germplazm muhafazasını sağlamak için yaptıkları çalışmada Yaban mersini bitkisinin seçilen genotiplerinin sürgünlerini 0,50 mg/L BA ve 0.20 mg/L IAA içeren MS ortamda kültüre almışlardır. Elde edilen sürgünleri 0,50 mg/L IAA veya 0,50 mg/L IBA içeren ortamda köklendirdiklerini bildirmişlerdir.

Sinha ve ark. (2010) yapılan çalışmada *Phalaenopsis* juvenil yapraklar parçaları eksplant olarak kullanmışlardır. Eksplantları, %2 sükröz, %10 Hindistan

cevizi suyu, 2 g/L pepton, 1g/L aktif kömür içeren jelrite ile katılaştırılmış, 2.00 mg/L BAP, 0,50 mg/L NAA içeren 1/2 ×MS ortama kültüre almışlardır. Eksplantlar üzere protokorm benzeri cisimlerin oluşumu izlenmiştir. 12 hafta sonra bu cisimleri 8 hafta boyunca alt kültüre alınmıştır protokorm benzeri cisimlerin kümeleri %2 sükröz, %10 Hindistan cevizi suyu, 2 g/L pepton, 150 mg/L glutamin ve 1 g/L aktif kömür içeren 1/2 × MS ortamında kültüre alınarak çoğaltılmıştır.

Wong ve ark. (2010) *Scaevola'* bitkisinin mikro çoğaltımı için yaptıkları çalışmada 1× MS ortam kullanmışlar ve çoklu sürgün elde etmişlerdir. Elde edilen sürgünler köklendirilmiştir.

Armiyanti ve ark. (2010) *Michelia champaca* L. üzerinde yaptıkları çalışmada somatik embriyogenesisi ve kallus oluşumunu gözlemlemişlerdir. En iyi sonuçları 2,00 mg/L NAA ve GA₃ içeren MS ortamda elde etmişlerdir.

Panda ve ark. (2010) *Semecarpus anacardium* üzerinde yaptıkları çalışmada eksplant olarak sürgün ucu meristemleri, 1,00 mg/L BAP ve 1,00 mg/L KIN içeren %0,2 fitajel ile katılaştırılmış, %0,2 aktif kömür içeren 1/2 × WPM ortamı kullanılmıştır. Elde edilen sürgünler 0,50 mg/L IBA içeren 1/2 × WPM sıvı ortamı içinde köklendirilmiştir.

Mao ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada ise Orman Gülü bitkisinin mikro çoğaltım teknikleri ile çoğaltımı üzerinde çalışmışlar ve farklı sitokininlerin etkilerini gözlemlemişlerdir. En iyi sonuçları 39.96 µM isopentyladenin ve 4.90 µM IBA içeren ortamlarda elde etmişlerdir.

Benmahioul ve ark. (2012) *Pistacia vera* L. üzerinde yaptıkları çalışmada mikro çoğaltım için etkili bir protokol geliştirmişlerdir. En yüksek sürgün oluşumu Gamborg (B5) vitaminleri içeren MS ortamında, 4,00 mg/L BAP ve 2,00 mg/L meta-topolin (mT) hormonlarının etkisinde gözlenmiştir. Çalışmaların sonucunda kinetinin (KIN) fıstığın sürgün çoğaltımına uygun olmadığı çalışma sonucunda ortaya konulmuştur. Yıldırım ve ark. (2019) *Pistacia lentiscus* üzerinde yaptıkları çalışmada, farklı ortamların (MS, QL, WPM ortam), bitki büyüme düzenleyicilerin (BA, GA₃, IBA, NAA) ve sükröz konsantrasyonlarının olgun tohumların çimlendirilmesi için kullanmışlardır. 28 günlük kültür sürecinden sonra en iyi çimlenme % 1-4 sükröz ve BA içeren 1× MS ortamında gözlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Çalışmada kullanılan 1 yıllık 50 cm boyundaki sağlıklı *C. coggygria* ‘Royal Purple’ bitkisi Ada Biyoteknoloji A.Ş (Kahramanmaraş) tarafından, temin edilmiştir.

3.1.2. Mikroçoğaltım İçin Kullanılan Eksplantlar

Tez kapsamında yapılan araştırmalar, koltuk altı meristem eksplant kültürü yapılarak gerçekleştirilmiştir. Denemelerde kullanılan eksplantlar genç sürgünlerden elde edilmiştir.

3.1.3. Büyüme Düzenleyicilerin Çözücüleri ve Saklama Koşulları

Çalışmada kullanılan kimyasallar Duchefa Biochemie ve Merck KGaA markalı firmadan temin edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicilerin stok solüsyonları uygun çözücülerle çözüldükten sonra istenilen miktar ve oranlarda hazırlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Bitki büyüme düzenleyicilerin çözücüleri ve saklama koşulları

Bitki Büyüme Düzenleyiciler		Çözücü	Stok Konsantrasyonu (mg/ml)	Saklama Koşulları (°C)
Oksinler	IBA	1N NaOH	1 mg/1mL	4
	NAA	1N NaOH	1 mg/1mL	4
Sitokininler	BAP	1N NaOH	1 mg/1mL	4

3.2. Yöntem

3.2.1. Besin Ortamı ve Kültür Koşulları

Denemelerde %3 ticari şeker ve %0,7'lik agar ile katılaştırılmış MS (Murashige ve Skoog, 1962) ve WPM ortamı (Lloyd and McCown 1981) kullanılmıştır. (Çizelge 3.2).

Ortamlar saf su kullanılarak hazırlanırken, besi ortamları farklı kombinasyonlarda oksin ve sitokininler, ilave edilerek hazırlanmış ve Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4'te görüldüğü gibi deneme ortamları isimlendirilmiştir. Deneme ortamlarının pH'sı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5,8'e ayarlanan besi ortamları 425 mL'lik şeffaf cam kavanozlara her bir kavanozda 60' ml besi ortamı olacak şekilde aktarılmıştır. Hazırlanan ortamlar 1.2 ATM (atmosfer basıncı) altında ve 121°C'de 20 dakika tutularak otoklavda steril edilmiştir. Laminar akışlı kabin içerisinde kullanılacak alet ve ekipmanlar (bisturi, pens, dayanak vb.) ile yardımcı malzemeler (peçete, filtre kâğıdı vb.) alüminyum folyoya sarılarak etüvde 185 °C de 120 dakika tutularak steril edilmiştir.

3.2.2. Bitki materyali yüzey sterilizasyonu için kullanılan kimyasallar

Saksıdaki bitkiden elde edilen eksplantlar ilk önce akan su altında 15-20 dk. yıkanmış olup, ikince kere Tween-20 ile 5'er dk. tekrardan yıkayıp, saf su ile durulama yapılmıştır. Daha sonra, eksplantları %70 etil alkol ile bir dk. bekletilip, 200 µl Tween-20 içeren %25 lik ticari çamaşır suyu (%1,25 NaOCl) ile yüzey steril edilmiştir. Steril edilmiş eksplantları 3 kez saf su ile durulanmıştır.

Çizelge 3.2 MS (Murashige ve Skoog 1962) ve WPM ortamında (Lloyd ve McCown 1981) ortamında bulunan kimyasallar ve konsantrasyonları

Ortamda Bulunan Kimyasalları		MS ortamdaki Konsantrasyon (mg/L)	WPM ortamdaki konsantrasyonları (mg/L)
<i>Makro olarak kullanılan kimyasallar</i>	NH ₄ NO ₃	1.650.000	400
	KNO ₃	1.900.000	0.00
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440.000	72.5
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370.000	180.54
	KH ₂ PO ₄	170.000	170.00
	Ca(NO ₃) ₂	0.00	386.8
	K ₂ SO ₄	0.00	990.00
<i>Mikro olarak kullanılan kimyasallar</i>	KI	0.830	0.00
	H ₃ BO ₃	6.200	6.25
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.300	22.3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.600	8.6
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.250	0.25
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.850	0.00
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	0.00
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.25
	FeNaEDTA	0.00	36.7
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.250	0.00
<i>Vitaminler</i>	Myo-Inositol	100.000	100
	Nicotinic Acid	0.500	0.5
	Pyrotinic Acid	0.500	0.5
	Thiamine-HCl	0.100	1.00
	Glycine	2.000	2.00

Çizelge 3.3 Denemelerde kullanılan modifiye edilmiş Murashige ve Skoog (1962) (MS) ortamları ve kodları

Ortam Kodu	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)
MS0	0	0	0
MS1	1,00	0	0
MS2	2,00	0	0
MS3	1,00	0,10	0
MS4	1,00	0	0,10
MS5	2,00	0,10	0
MS6	2,00	0	0,10
MS7	1,00	0,10	0,10
MS8	2,00	0,10	0,10
MS9	1,00	0,05	0,05
MS10	2,00	0,05	0,05

Çizelge 3.4 Denemelerde kullanılan modifiye edilmiş Woody Plant Medium (WPM) ortamları ve kodları

Ortam Kodu	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)
WPM0	0	0	0
WPM1	1,00	0	0
WPM2	2,00	0	0
WPM3	1,00	0,10	0
WPM4	1,00	0	0,10
WPM5	2,00	0,10	0
WPM6	2,00	0	0,10
WPM7	1,00	0,10	0,10
WPM8	2,00	0,10	0,10
WPM9	1,00	0,05	0,05
WPM10	2,00	0,05	0,05

3.2.3. *In vitro* koşullarda *C. coggyria* (Royal Purple)'nın mikroçoğaltımı

Filtre kâğıdı üzerinde kurutulan eksplantlar, MS ve WPM ortamın tekli ve çoklu kombinasyonlarına tek koltuk altı meristem içeren sürgünler olarak kültüre alınmıştır. Bu tez çalışmasında yapılan çalışmaları tek faktöriyel deneme desenine deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Her tekerrürde 5'er adet koltuk altı meristem eksplant kullanılmıştır. Toplam 10 farklı muamelede 330 eksplant

kullanılmıştır. Kültüre alınan bitkiler 16 saat ışık 8 saat karanlık foto periyodunda $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 3000 Lux LED aydınlatma altında inkübasyona bırakıldı.

3.2.4. Köklendirme ve Adaptasyon

Sürgün rejenerasyonu sonu oluşan sürgünler köklendirme amaçla farklı kombinasyonlar içeren IBA ve NAA içeren $1\times$ ve $\frac{1}{2}\times$ MS ortamında (Çizelge 3.5), $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat ışık foto periyodu altında kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.5 Köklendirme amacıyla kullanılan modifiye edilmiş MS köklendirme ortamları ve kodları

Ortam Kodu	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	MS ortamın Konsantrasyonu
K0	0	0	$1\times$
K1	0,50	0	$1\times$
K2	1,00	0	$1\times$
K3	2,00	0	$1\times$
K4	0	0,50	$1\times$
K5	0	1,0	$1\times$
K6	0	2,00	$1\times$
K7	0,50	0,50	$1\times$
K8	1,00	1,00	$1\times$
K9	2,00	2,00	$1\times$
K10	0	0	$\frac{1}{2}\times$
K11	0,50	0	$\frac{1}{2}\times$
K12	1,00	0	$\frac{1}{2}\times$
K13	2,00	0	$\frac{1}{2}\times$
K14	0	0,50	$\frac{1}{2}\times$
K15	0	1,00	$\frac{1}{2}\times$
K16	0	2,00	$\frac{1}{2}\times$
K17	0,50	0,50	$\frac{1}{2}\times$
K18	1,00	1,00	$\frac{1}{2}\times$
K19	2,00	2,00	$\frac{1}{2}\times$

3.2.5. Gözlem ve Ölçümler

Kültür başlangıcından 4 hafta sonra *in vitro* kültürlerde aşağıda verilen gözlem ve ölçümler yapılmıştır.

Sürgün rejenerasyonu oranı (%): Kültüre alınan *C. coggygia* 'Royal Purple' bitkisinin 4 haftalık süre boyunca gözlem alınarak başarı % oranı belirlenmiştir.

Eksplant Başına sürgün sayısı; Rejenere olan kalluslarda eksplant başına kaç sürgün oluşturduğu, tekli ve çoklu sürgün sayıları gözlemlendi ve eksplant başına sürgün sayısı belirlenmiştir.

Yüksek nem (>%80) içeren torf: perlit: Hindistan ceviz lif torfu (1:1:1) karışımı hazırlanarak aklimatizasyon denemeleri için 60 gözlü viyollere doldurularak elde edilen köklendirilmiş bitkileri agardan ayrıştırılarak saksılara dikildi. 1 ay boyunca viyoller yoğun bakım altında tutulmuştur. Dış koşullarına alıştırmış bitkileri gölgelerde dış ortama alıştırdı.

3.2.6. Elde edilen verilerin istatistikî analizleri

Deneme sonucunda elde edilen verilerin varyans analizi bilgisayarda yazılımı 'SPSS 16 for Windows' programı ile One Way ANOVA göre yapılmıştır. Önemli bulunan farklılıkların Duncan^{ab} çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmaları yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. *C. coggyria* 'Royal Purple' bitkisinin *In vitro* Çoğaltım Çalışmaları

C. coggyria 'Royal Purple' bitkisinin *in vitro* sterilizasyon aşamasında, %70 etil alkol, %25 ticari çamaşır suyu (NaOCl) ve saf su kullanılmıştır. Deneme sonucunda başarı bir şekilde steril edilmiş eksplantlar mikroçoğaltım için elde edilmiştir. Eksplantların sterilizasyonu için farklı uygulamalar kullanılmaktadır. Mihaljević ve ark. (2013) 'Oblačinska' sour cherry üzerinde yaptıkları çalışmada en iyi sterilizasyon başarısını %1 konsantrasyonda AgNO₃'le 20 dk muamele sonucu elde ederken denedikleri diğer bir yöntem olan %1 konsantrasyon DICA 10 dk uygulamasında tatmin edici sonuçlar almadıklarını bildirmiştir.

C. coggyria 'Royal Purple' bitkisinin *in vitro* çoğaltımı için ise iki farklı deneme çalışması yapılmıştır. Her iki denemede eşit miktarda sitokin olarak BAP ve oksin olarak NAA ve/ veya IBA içeren toplam 11'er adet kültür modifiye edilmiş MS veya WPM ortamları kullanılmıştır. Her iki denemede eksplantlar 12 hafta boyunca kültür odasında rejenerasyon sağladıktan sonra sürgünler köklendirilmiştir.

4.1.1. Farklı konsantrasyonlarda BAP-NAA-IBA içeren modifiye edilmiş MS Ortamların Sürgün Rejenerasyonuna Etkileri

Tez kapsamında yapılan bu çalışmada koltuk altı meristem eksplantları farklı konsantrasyonlarda BAP-IBA ve NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamlarda kültüre alınmıştır. Koltuk altı meristem eksplantları aktif büyüme bölgelerine sahip oldukları için (Jackson ve Hobbs, 1990) *in vitro* çoğaltım çalışmalarında tercih edilmektedir ve odunsu yapıdaki birçok bitki için bildirilmiştir (Metivier ve ark., 2007). *C. coggyria*'nın koltuk altı meristem eksplantlarından sürgün rejenerasyonu için deneme yapılacak MS ve WPM ortamlarına farklı oranlarda BAP, NAA ve IBA eklenmiş ve sürgün rejenerasyonu ve çoklu sürgün oluşumları başarıyla kaydedilmiştir. Eksplantların alt kültür süresi 4 hafta olarak belirlenirken, eksplantlar 2 kez alt kültüre alınmıştır. Bitkilerde ilk sürgün gelişimi birinci haftanın sonunda izlenmeye

başlamıştır ve 12 hafta sonra sürgün rejenerasyonuna ait verileri alınarak varyans analizine tabii tutulmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Farklı BAP, NAA ve IBA içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	10	155,152	2,133**	0,819	3,611**
Hata	22	72,727	-	0,227	-
Genel Toplam	32	-	-	-	-

** $p<0,01$; VK: Varyasyon Kaynakları; SD: Serbestlik Derecesi; KO: Kareler Ortalaması; F: F değeri

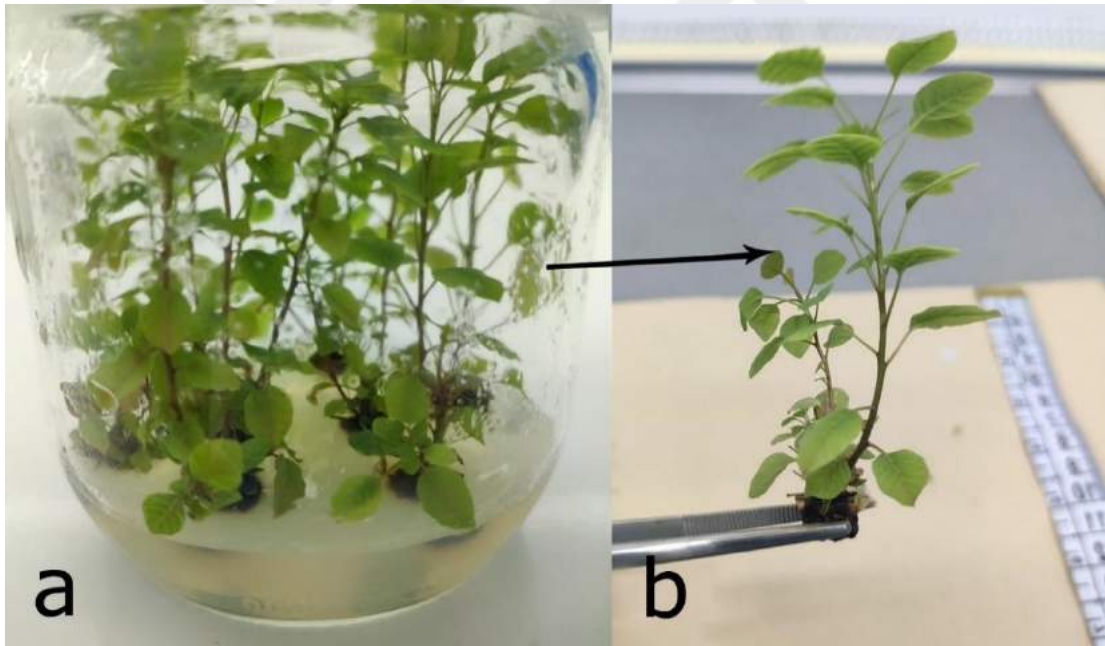
Çizelge 4.1’de sürgün rejenerasyonuna farklı hormon oranlarının sürgün rejenerasyon yüzdesi ve eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından önemli ($p<0,01$) düzeyinde farklı etkileri izlenmiştir. Bu farklılığın önem düzeyi belirlenmek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı BAP, NAA ve IBA içeren MS ortamında *C. Coggyria* ‘Royal purple’ bitkisinin sürgün rejenerasyonu

MS ortam kodları	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	Sürgün rejenerasyon yüzdesi (%)	Sürgün sayısı (adet)
MS0	0	0	0	86,67ab**	1,72bc**
MS1	1,00	0	0	100,00a	2,00bc
MS2	2,00	0	0	80,00b	3,25a
MS3	1,00	0,10	0	100,00a	2,13bc
MS4	1,00	0	0,10	80,00b	2,00bc
MS5	2,00	0,10	0	93,33ab	1,77bc
MS6	2,00	0	0,10	93,33ab	1,52c
MS7	1,00	0,10	0,10	93,33ab	1,67bc
MS8	2,00	0,10	0,10	93,33ab	1,48c
MS9	1,00	0,05	0,05	93,33ab	1,55bc
MS10	2,00	0,05	0,05	100,00a	2,47ab

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark $p<0,01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelgede görüldüğü gibi BAP, NAA ve IBA içeren MS ortamlarında genel olarak yüksek oranda sürgün rejenerasyon yüzdeleri elde edilirken, bu oranlar %80,00 ile %100,00 arasında değişmiştir. Minimum sürgün rejenerasyon yüzdesi (%80,00) ile MS2 (2,00 mg/L BAP + 0 mg/L IBA + 0 mg/L NAA) uygulaması ile test edilmiştir. Maksimum sürgün rejenerasyon yüzdesi (%100) ise MS1 (1,00 mg/L BAP), MS3 (2,00 mg/L BAP) ve MS10 (2,00 mg/L BAP + 0,05 mg/L NAA + 0,05 mg/L IBA) uygulaması ile izlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı 1,52-3,25 arasında sıralanmıştır (Çizelge4.2). En fazla eksplant başına sürgün sayısı 3,25 adet ile MS2 (2,00 mg/L BAP) ortamında gözlemlenmiştir. Buna karşı en az sayıda eksplant başına sürgün sayısı (1.48 adet) MS8 (2,00 mg/L BAP, 0 mg/L NAA ve 0,10 mg/L IBA) ortamında gözlemlenmiştir. 2,00 mg/L BAP, 0,10 mg/L NAA ve 0 mg/L IBA içeren ortamlarda 4. haftanın sonunda sürgün oluşumu Şekil 4.1 de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Farklı BAP, IBA ve NAA içeren modifiye edilmiş MS ortamlarda *C. coggyria* 'Royal Purple' bitkisinin *in vitro* sürgün rejenerasyonu (a, b) 2,00 mg/L BAP+ 0,10 mg/L NAA+0 IBA içeren MS ortamlarda 4. Hafta sonunda elde edilen sürgünlerin görüntüleri

Tablolardan görüldüğü üzere yüksek oranda BAP kullanımı sürgün rejenerasyonu üzerinde olumlu etkiye sahiptir. Aynı şekilde Jacygrad ve ark. (2012) yılında *C. coggyria*'nın üzerinde yaptıkları *in vitro* çalışmalar sonucunda yüksek

BAP konsantrasyonunun *C. cogygia*'nın sürgün rejenerasyonu üzerine olumlu etki yaptığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Onay (2000) *Pistachio* üzerinde yaptıkları çalışmada en yüksek sürgün rejenerasyon oranını 2,00 mg/L BAP içeren MS ortamında gözlemlemiştir. Buna karşılık Vinterhalter ve ark. (1988) *D. fragrans* üzerinde yaptıkları çalışmada kallus dokusundan sürgün farklılaşması denemileri ve sürgün uzamasını BAP inhibe ederken IBA ve NAA oksinlerinin uyardığını kaydetmişlerdir. Yani bu sonuçlar bize, bir hormonun etkisinin ve kullanılması gereken optimum miktarının, bitkinin türü ve çalışılan kültür türüne göre değişebildiğini göstermiştir. Elde edilen sürgünler daha sonra farklı köklendirme ortamında köklendirilip dış koşulları adaptasyon için şaşırtılmıştır. Bitkilerde %90 oranında başarılı bir adaptasyon sağlanmıştır.

4.1.2. Farklı Konsantrasyonlarda BAP, NAA ve IBA İçeren modifiye edilmiş WPM Ortamın Sürgün Rejenerasyonuna Etkileri

MS ortam gibi koltuk altı meristem eksplantları WPM ortamlarda 12 hafta boyunca kültürü alınmıştır. Eksplantlardan elde edilen veriler varyans analizine tabii tutulmuştur ve sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı BAP, NAA ve IBA içeren modifiye edilmiş WP ortamlarında sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	10	455,758	5,371**	0,491	9,288**
Hata	22	84,848	-	0,053	-
Genel Toplam	32	-	-	-	-

** $p < 0,01$; VK: Varyasyon Kaynakları; SD: Serbestlik Derecesi; KO: Kareler Ortalaması; F: F değeri

Varyans analizi sonuçları incelendiğinde hem sürgün rejenerasyon yüzdesi hem de eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından önemli ($p < 0,01$) farklılıkları gösterilmektedir. Veriler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı BAP, NAA ve IBA içeren modifiye edilmiş WPM ortamlardan elden edilen sürgün rejenerasyon sonuçlarının ortalamalarının Duncan testi sonuçları

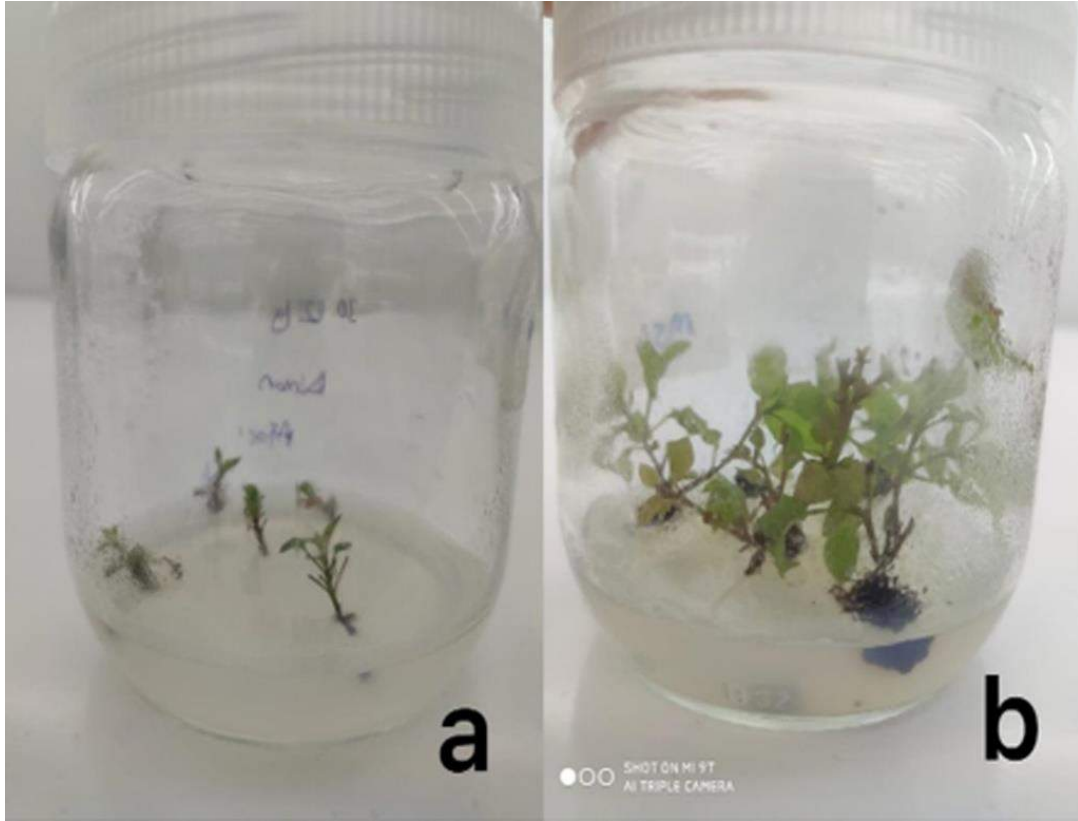
WPM Ortam kodları	BAP (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	Sürgün Rejenerasyon yüzdesi (%)	Sürgün sayısı (adet)
WPM0	0	0	0	80,00bc	1,00e
WPM1	1,00	0	0	100,00a	1,67bc
WPM2	2,00	0	0	60,00d	1,33cde
WPM3	1,00	0,10	0	100,00a	2,00ab
WPM4	1,00	0	0,10	93,33ab	2,37a
WPM5	2,00	0,10	0	80,00bc	1,42cde
WPM6	2,00	0	0,10	80,00bc	1,18de
WPM7	1,00	0,10	0,10	73,33cd	1,36cde
WPM8	2,00	0,10	0,10	93,33ab	1,95b

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasında fark $p < 0,001$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge de görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon oranı ve eksplant başına düşen sürgün sayısı benzer şekilde BAP, NAA ve IBA ile içeren farklı WPM ortamından farklı şekilde etkilenmiştir. Sürgün rejenerasyon yüzdesi %60,00 ile %100,00 arasında kaydedilirken, eksplant başına sürgün sayısı 1,00-2,37 adet arasında sıralanmıştır. Minimum sürgün rejenerasyonu (%60,00) WPM2 (2,00 mg/L BAP) de gözlemlenmiştir. Buna karşı maksimum sürgün rejenerasyon oranı %100,00 WPM1 (1,00 mg/L BAP) ve WPM3 (1,00 mg/L BAP + 0- 0,10 mg/L NAA)da izlenmiştir. Ayrıca, denemede (WPM0) da çok yüksek oranda sürgün rejenerasyonu (%80,00) görülmüştür. Eksplant başına en fazla sürgün sayısı 2,37 adet ile WPM4 (1,00 mg/L BAP + 0,10 mg/L IBA) gözlenirken, en az 1,00 adet sürgün kontrol grubu (WPM0) de gözlemlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre sürgün rejenerasyon %60,00–100 arasında değişmiştir. Denemede düşük oranda BAP ile NAA veya IBA kullanıldığında yüksek oranında sürgün rejenerasyon yüzdeleri ve eksplant başına sürgün sayısı gözlemlenmiştir. WPM3 (1,00 mg/L BAP + 0,10 mg/L NAA) ortamında sürgün rejenerasyon yüzdeleri ve eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla %100,00 ve 2,00 adet kaydedilirken, WPM5 (2,00 mg/L BAP + 0,10 mg/L NAA) ortamında %80,00 ve 1,42 adet olarak görülmüştür. Benzer şekilde WPM4 (1,00 mg/L BAP + 0,10 mg/L IBA)

ve WPM6 (1,00 mg/L BAP + 0,10 mg/L IBA) ortamları karşılaştığında WPM4 ortamında daha yüksek sürgün rejenerasyon yüzdeleri ve eksplant başına sürgün sayısı 2,37 adet (WPM4) ve 1,18 adet (WPM6) olarak izlenmiştir.



Şekil 4.2 Farklı BAP, IBA ve NAA içeren WPM ortamlarda sürgün rejenerasyonu (a) WPM1 (1,00 mg/L BAP+ 0 IBA+ 0NAA) ortamda 2 hafta sonra sürgün rejenerasyonu (b) ve WPM1 ortamında 4. hafta sonra sürgün rejenerasyonu

Denemede BAP + NAA + IBA kombinasyonları kıyaslandığında yüksek oranında (2,00 mg/L) BAP içeren WPM8 ve WPM10 ortamlarında hem sürgün rejenerasyon yüzdeleri hem de eksplant başına sürgün sayısı WPM7 ve WPM9 ortamlarına göre daha fazla gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). MS ve WPM ortam sonuçlarına genel olarak bakıldığında MS ortamda daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Aynı şekilde Yıldırım ve ark. (2018) *P. lentiscus* üzerinde yaptıkları çalışmada farklı ortamların (MS, QL, WPM) denemelerini yapmışlar ve 28 günlük kültür sürecinden sonra en iyi sonuçların tam konsantrasyonlu MS ortamlarda gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Elde edilen sürgünler daha sonra farklı köklendirme

ortamında köklendirilip dış koşullarına adaptasyon için başarı ile çalışmalar yapılmıştır.

4.2. *C. coggynia* 'Royal Purple' bitkisinin *In vitro* Köklendirme Çalışmaları

Rejenere *C. coggynia* sürgünleri 2 şer nodlu olacak şekilde kesilerek farklı oranlarda (0, 0.50, 1,00, 2,00 mg/L) IBA ve NAA içeren yarım ve tam konsantrasyonlu MS besin ortamlarında köklendirmeye çalışılmıştır. En erken kök oluşumu 11. günde ortamda ve 2,00 mg/L IBA ve 2,00 mg/L NAA içeren ½ ×MS ortamda gözlenmiş %66,67 olarak gözlemlenmiştir. 4. haftanın sonunda sürgün başına kök rejenerasyon yüzdesi, kök sayısı verileri alınarak varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Farklı IBA ve NAA dozlarının *C. coggynia* 'Royal Purple' sürgünlerinin *in vitro* köklendirmesine ait varyans analizi

VK	SD	Kök Rejenerasyon Yüzdesi (%)	
		KO	F
Ortam	20	1278,596	1,682*
Hata	40	760	-
Genel Toplam	60	-	-

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli; VK: Varyasyon Kaynakları; SD: Serbestlik Derecesi; KO: Kareler Ortalaması; F: F değeri

Köklendirme denemelerine ait varyans analizi incelendiğinde, kök oluşum yüzdesi istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı çıkmıştır. Bu farklılığın anlamlılık seviyelerini belirlemek için Duncan testi yapılmıştır (Çizelge 4.6)

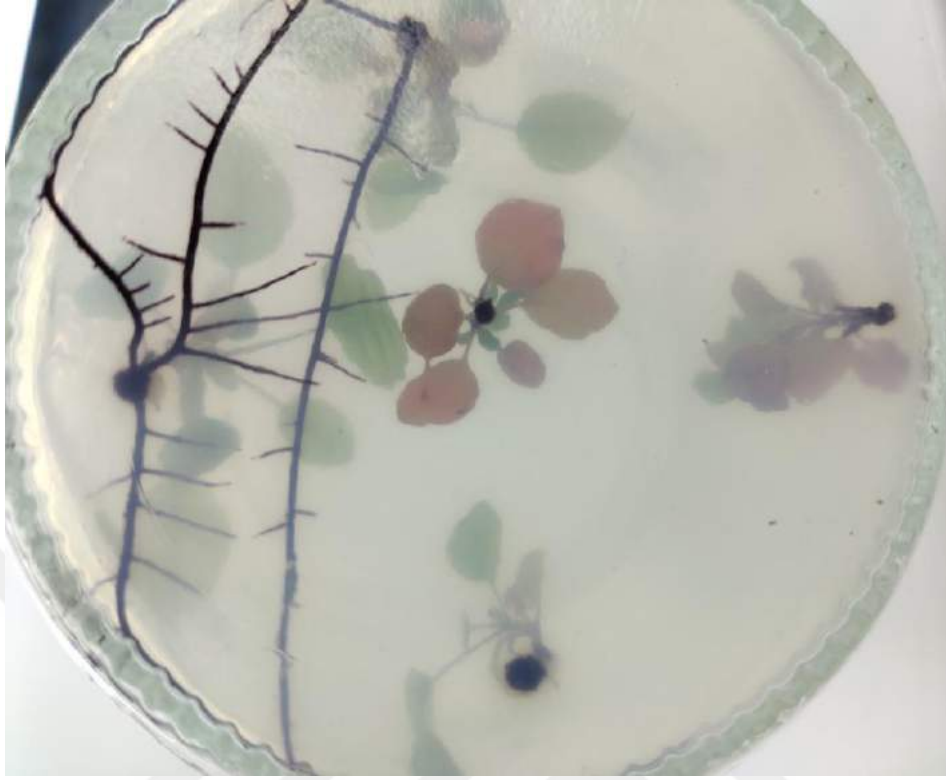
Farklı konsantrasyon IBA ve NAA içeren 1×MS ortamda köklendirme göstermeyen ortamlar hariç kök oluşum %6.66 -%40 arasında değişmiştir (Çizelge 4.6). 0,50 mg/L IBA ve 1,00 mg/L NAA içeren 1× MS ortamda kök oluşum izlenmemiştir. En az kök oluşumu (%6.66) 1 × MS ile 1,00 mg/L IBA ve 0.50 mg/L NAA içeren 1× MS ortamda izlenmiştir. Ancak, 1,00 ve 2,00 mg/L IBA ve NAA içeren 1 × MS ortamda %40 kök oluşumu izlenmiştir. Ayrıca, farklı konsantrasyonlarda (0,50 mg/L, 1,00 mg/L, 2,00 mg/L) IBA ve NAA içeren ½ ×MS ortamda kök oluşum %26.67 -66,67 arasında değişmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Köklendirme denemelerine ait kök rejenerasyon oranları

Kodu	MS ortamı ve gücü	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Rejenerasyon yüzdesi (%)
K0	1×	0	0	6,67bc
K1	1×	0,50	0	0,00
K2	1×	1,00	0	6,67bc
K3	1×	2,00	0	20,67abc
K4	1×	0	0,50	6,67bc
K5	1×	0	1,00	0,00
K6	1×	0	2,00	26,67abc
K7	1×	0,50	0,50	13,33abc
K8	1×	1,00	1,00	40,00abc
K9	1×	2,00	2,00	40,00abc
K10	½×	0	0	20,00abc
K11	½×	0,50	0	13,33abc
K12	½×	1,00	0	26,67abc
K13	½×	2,00	0	46,67abc
K14	½×	0	0,50	26,67abc
K15	½×	0	1,00	60,00ab
K16	½×	0	2,00	46,67abc
K17	½×	0,50	0,50	40,00abc
K18	½×	1,00	1,00	60,00ab
K19	½×	2,00	2,00	66,67a

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

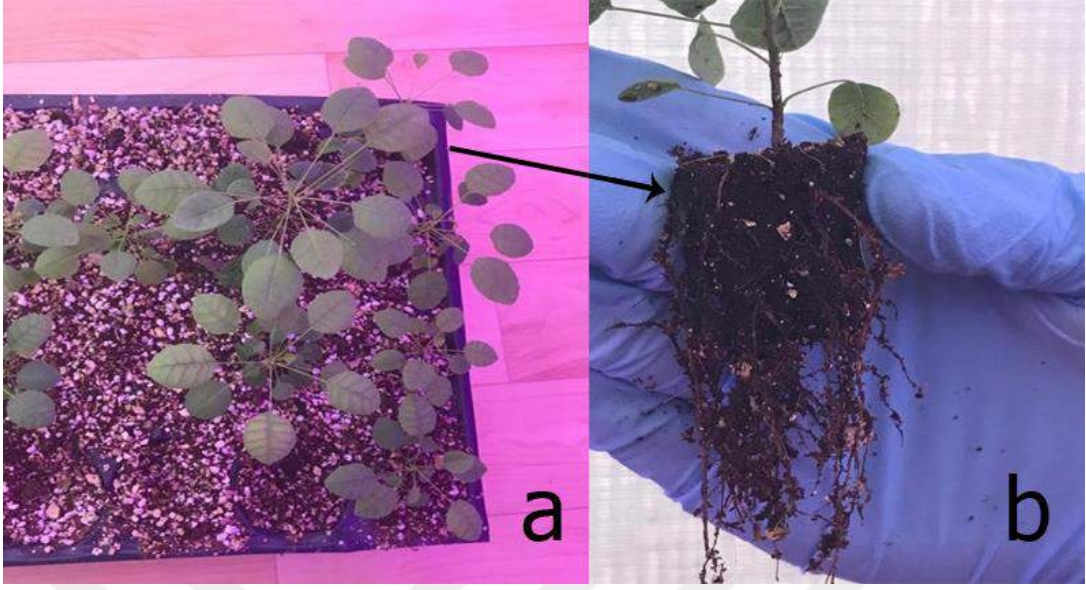
En az kök oluşumu 0,50 mg/L NAA içeren ½ × MS ortamdan elde edilmiştir. En fazla kök oluşumu ise 2,00 mg/L IBA ve 2,00 mg/L NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Purohit ve ark. (1994) *Chlorophytum borivillianum* üzerinde yaptıkları çalışmada ¾ MS ve 2,00 mg/L IBA içeren ortamlarda %67 lik bir oranda köklenmiş bitki elde ettiklerini bildirirken Babu ve ark. (2000) *Murraya koenigii* üzerine yaptıkları çalışmada WPM ortamı 0,25 mg/L NAA destekleyerek köklenme sağladıklarını bildirmişlerdir. Farklı bir şekilde Blanco ve ark. (2004) *Dracaena deremensis* üzerinde yaptıkları çalışmada köklenmeyi büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamlarda kaydetmişlerdir. Metivier ve ark. (2007) *C. coggyria*'nın *in vitro* kök rejenerasyonu üzerine yaptıkları çalışmada farklı oksinlerin (IBA, IAA, NAA ve 2,4 D) tekli ve çoklu kombinasyonlarını denemişler ve en yüksek ve en erken kök rejenerasyonu 10 µM IBA ile elde ederken çalışmanın sonucunda 2,4 D'nin tekli kombinasyonunda kök rejenerasyonu gözlemlenmediğini bildirmişlerdir. Daha önce yapılan bu köklendirme çalışmaları incelendiğinde, yine bitki için uygulanacak optimum protokolün bitki türüne göre değiştiği söylenebilmektedir.



Şekil 4.3 2,00 mg/L IBA ve 2,00 mg/L NAA içeren $\frac{1}{2} \times$ MS kültür ortamında *C. coggria* sürgünlerinin *in vitro* koşullarda köklendirilmesi

4.3. *C. coggria* 'Royal Purple' Bitkisinin Alıştırma Çalışmaları

Köklendirme ortamlarında köklendirilen *C. coggria* 'Royal Purple' bitkileri dış koşullarına alıştırmak için saksılara alınmıştır. Saksı tabanlarına 4-5 cm yüksekliğinde, 2:1 oranında torf perlit karışım konularak bitkileri 20-25°C sıcaklıkta ve gölgelendirilmiş seralarda büyütmüşlerdir. Bitkilerin toprağa transferinden sonraki ilk 1 hafta içerisinde, ortamın oransal nemi %90-95'e ayarlanmış, ikinci haftada oransal nem %60'a düşürülmüştür. Günde 2 kez sulama yapılarak bitkilerin toprağa adaptasyonu sağlanmıştır (Şekil 4.4). Aynı şekilde Onay ve ark. (2009) yılında yaptıkları çalışmada *in vitro* ortamlarda köklenen Pistachio bitkilerini 1:1:1 oranında steril kum karışımına almışlar ve %90 bağıl nem oranını korumak için en az iki hafta boyunca bitkiciklere su püskürtmüşler ve daha sonrasında nem oranını kademeli olarak azaltarak bitkileri dış ortam iklimine başarılı şekilde adapte ettiklerini bildirmişlerdir.



Şekil 4.4 *in vitro* köklendirilmiş *C. coggygia* Royal purple' ın dış koşullara alıştırılmış görüntüsü

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, önemli tıbbi, süs ve peyzaj bitkisi olarak ekonomik değere sahip *C. coggyria* 'Royal Purple' bitkisinin *in vitro* kültür ortamlarında üretilmesi, köklendirilmesi ve alıştırma aşamaları içermektedir. Elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. *C. coggyria* dış ortamdan alınan sürgünleri ilk aşama da yüzey sterilizasyonunu sağlamak amacı ile tween-20 ve akan su muamelesi görmüştür ve koltuk altı meristem kültürü için uygun eksplantları seçilmiştir.
2. Daha sonra Laminar akışlı kabin içerisinde alınan koltuk altı meristem eksplantları aseptik şartlar altında %70 etil alkol ve %25 ticari çamaşır suyu (%1.25 sterili) ile daha etkili bir yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Uygulanan sterilizasyon protokolünde kontaminasyon ve eksplant kayıp miktarı %5 gibi düşük oranda çıkmıştır. Bu yüzden bir sonraki denemelerde bu protokolü tercih edilmiştir.
3. Bu çalışmada *C. coggyria*'nın *in vitro* çoğaltım çalışmaları için koltuk altı meristem eksplantları kullanılmıştır. Her iki kültür ortamı denemesinde de genel olarak yüksek sayıda rejenerasyon yüzdeleri elde edilmiştir.
4. Farklı konsantrasyondan da sitokinin ve oksin içeren MS ortamı ile yapılan denemelerde tüm sonuçlar göz önüne alındığında yüksek BAP konsantrasyonu sürgün rejenerasyon oranını ve eksplant başına sürgün sayısını büyük ölçüde olumlu olarak etkilerken ortama yapılan IBA ve NAA takviyeleri sürgün rejenerasyon oranı ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından olumsuz olarak etkilemiştir.
5. WPM ortamı yapılan denemelerini bakıldığında sürgün rejenerasyon oranı yüksek olsa bile eksplant başına sürgün sayısı Farklı konsantrasyondan da sitokinin ve oksin içeren MS ortamı ile yapılan denemelerden elde edilen sonuçlarına göre nazaran daha düşük olmuştur. Elde edilen sonuçlarına göre WPM ortamında bulunan BAP konsantrasyonu arttıkça sürgün rejenerasyon oranı ve eksplant başına sürgün sayısı miktarında azalma izlenmiştir. WPM ortamında IBA+NAA konsantrasyonunun arttırılması da BAP gibi rejenerasyon üzerinde olumsuz etki yaratmıştır. WPM ve MS ortamları

arasında kıyaslama yapılır ise MS bazlı kültür ortamlarında sürgün rejenerasyon ve elde edilen eksplant başına sürgün sayısı bakımından daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

6. Dolayısıyla köklendirme denemeleri için farklı konsantrasyon BAP+NAA içeren MS ortamlardan elde edilen sürgünler kullanılmıştır.
7. Köklendirme denemelerde 0, 0,50 mg/L, 1,00 mg/L, 2,00 mg/L'da IBA ve 0, 0,50 mg/L, 1,00 mg/L, 2,00 mg/L'da NAA içeren $1 \times$ MS ortamı ve $\frac{1}{2} \times$ MS ortamı kullanılmıştır. Deneme sonuçları incelendiğinde, NAA ve IBA'nın $\frac{1}{2} \times$ MS ortamında bir ara kullandığında köklendirme üzerine olumlu etkileri tespit edilmiştir. Denemeler sonucunda $\frac{1}{2} \times$ MS ortamının kullanımının daha etkili olduğu ispat edilmiştir.
8. Mikroçoğaltım çalışmalarında kıyas ile MS ortamı ve WPM ortamına göre nazaran daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısını BAP konsantrasyonunun olumlu ölçüde etkilediği de çalışma sonuçlarında gözlemlenmiştir.
9. En yüksek köklenme oranına bakıldığında ise 2,00 mg/L NAA ve 2,00 mg/L IBA içeren $\frac{1}{2} \times$ MS ortamında izlenmiştir.
10. Mevcut çalışmamızda, köklendirme ortamlarında köklendirilen *C. coggyria* 'Royal purple' bitkileri dış koşullara başarıyla alıştırmıştır.
11. Alıştırma sırasında bitkilerin adaptasyonu kademeli olarak sağlanmıştır ve bitkiler sera koşullarına beklenilenden daha kolay uyum sağlamışlardır.

Yapılan bu tez çalışması sonucunda *C. coggyria* bitkisinde etkili bir mikroçoğaltım sistemi geliştirilmiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda diğer eksplantlardan rejenerasyon ve somatik oluşum üzerinde yoğun araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Anonim (2020), Süs bitkileri sektörü raporu
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/beykozbbgam/Belgeler/Teknik%20Bilgi/S%C3%BCs%20Bitkileri.pdf> [23.04.2020].
- Anonim (2016), Dünyada Ve Türkiye’de Kesme Çiçek Sektörü
<https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/elif.kinik/95353/D%C3%BCnyada%20ve%20T%C3%BCrkiye%E2%80%99de%20Kesme%20%C3%87i%C3%A7ek%20Sekt%C3%Bcr%C3%BC.pdf>
- Armiyanti, M. A. K., Kadzimin, S., Panjaitan, S. B. (2010) Full Length Research Paper Plant regeneration of *Michelia champaca* L., through somatic embryogenesis. *African Journal of Biotechnology*, 9(18), 2640-2647.
- Babu, K. N., Sajina, A., Minoo, D. I. V. A. K. A. R. A. N., John, C. Z., Mini, P. M., Tushar, K.V., ... ve Ravindran,, P. N. (2003). Micropropagation of camphor tree (*Cinnamomum camphora*) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 74(2), 179-183.
- Babu, K. N., Anu, A., Remashree, A. B. ve Praveen, K. (2000). Micropropagation of curry leaf tree. *Plant cell, tissue and organ culture*, 61(3), 199-203.
- Benmahioul, B., Dorion, N., Kaid-Harche, M., ve Daguin, F. (2012). Micropropagation and ex vitro rooting of pistachio (*Pistacia vera* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 108(2), 353-358.
- Blanco, M., Valverde, R. ve Gómez, L. (2004). Micropropagación de *Dracaena deremensis*. *Agronomia costarricense*, 28(1), 7-15.
- Demirci, B., Demirci, F. ve Başer, K. H. C. (2003). Composition of the essential oil of *Cotinus coggygia* Scop. from Turkey. *Flavour and fragrance journal*, 18(1), 43-44.
- Gültekin, C., Alım, E., Şahin, M., (2007). Boyacı Sumağı (*Cotinus coggygia* Scop.) Tohumları İçin Uygun Ekim Zamanının Belirlenmesi, <https://yayin.ogm.gov.tr/yaydepo/1601.pdf> [23.04.2020].
- Hasan cebi, S., Kara, N. T., Çakır, Ö. ve Arı, Ş., (2011). Micropropagation and root culture of Turkish endemic *Astragalus chrysochlorus* (Leguminosae). *Turkish Journal of Botany*, 35(2), 203-210.
- Jackson J.A. ve Hobbs S.L., (1990). Rapid multiple shoot production from cotyledonary node explants of pea (*Pisum sativum* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 26(8), 835-838

- Kaymaz, M. B. (2018). Yanık yarası üzerine *Cotinus coggygia* (duman ağacı) yaprak ekstresi ve fenitoinin etkileri, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 1-100.
- Maira, O., Alexander, M., ve Vargas, T. E. (2010). Micropropagation and organogenesis of *Anthurium andreaeanum* Lind cv *Rubrun*. In *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants* (pp. 3- 14). Humana Press.
- Metivier, P. S., Yeung, E. C., Patel, K. R., ve Thorpe, T. A. (2007). *In vitro* rooting of microshoots of *Cotinus coggygia* Mill, a woody ornamental plant. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 43(2), 119-123.
- Mihaljević, I., Dugalić, K., Tomaš, V., Viljevac, M., Pranjić, A., Čmelik, Z., ve Jurković, Z. (2013). *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska'sour cherry. *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade*, 58(2), 117-126.
- Mao, A. A., Kaliamoorthy, S., Ranyaphi, R. A., Das, J., Gupta, S., Athili, J., ve Chanu, L. I. (2011). *In vitro* micropropagation of three rare, endangered, and endemic rhododendron species of Northeast India. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 47(6), 674- 681.
- Onay, A. (2000). Micropropagation of pistachio from mature trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 60(2), 159-163.
- Oren-Shamir, M., ve Levi-Nissim, A. (1997). Temperature effects on the leaf pigmentation of *Cotinus coggygia* 'Royal Purple'. *Journal of Horticultural Science*, 72(3), 425-432.
- Orlikowska, T., Nowak, K., ve Reed, B. (2017). Bacteria in the plant tissue culture environment. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 128(3), 487-508.
- Pacholczak, A., Ilczuk, A., Jacygrad, E., & Jagiello-Kubiec, K. (2012). Effect of IBA and Biopreparations on Rooting Performance of *Cotinus coggygia* Scop. In *II International Symposium on Woody Ornamentals of the Temperate Zone 990* (pp. 383-389).
- Panda, B. M., ve Hazra, S. (2010). *In vitro* regeneration of *Semecarpus anacardium* L. from axenic seedling-derived nodal explants. *Trees*, 24(4), 733-742.
- Pijut, P. M. (2008). *Cotinus* P. In: Bonner, FT; Karrfalt, RP, eds. *Woody plant seed manual. Agric. Handb. 727. Washington, DC: US Department of Agriculture, Forest Service: 438-441., 438-441.*
- Purohit, S. D., Dave, A., ve Kukda, G. (1994). Micropropagation of safed musli (*Chlorophytum borivilianum*), a rare Indian medicinal herb. *Plant cell, tissue and organ culture*, 39(1), 93-96.

- Prakash, J. (2007,). Micropropagation of ornamental perennials: progress and problems. In *III International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants* 812 (pp. 289-294).
- Prakash, S., ve Van Staden, J. (2008). Micropropagation of *Searsia dentata*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 44(4), 338-341.
- Rovină, E. A., Călinescu, M., Plopa, C., ve Isac, V. (2010). *In vitro* regeneration capacity of the ornamental varieties related to the cultural media. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 14(1), 13-18.
- Ruffoni, B., Mascarello, C., ve Savona, M. (2010). *In vitro* propagation of ornamental Myrtus (*Myrtus communis*). In *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants* (pp. 257-269). Humana Press.
- Sinha, P., Alam, M. F., ve Hakim, M. L. (2010). Micropropagation of *Phalaenopsis blume*. In *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants* (pp. 77-85). Humana Press.
- Tilkat, E., Isikalan, C., ve Onay, A. (2005). *In vitro* propagation of *khinjuk pistachio* (*Pistacia khinjuk* stocks) through seedling apical shoot tip culture. *Propagation of Ornamental Plants*, 5(3), 124-128.
- Tilkat, E., Onay, A., Yıldırım, H., ve Ayaz, E. (2009). Direct plant regeneration from mature leaf explants of pistachio, *Pistacia vera* L. *Scientia Horticulturae*, 121(3), 361-365.
- Tripp, K. E. (1994). Considering *Cotinus*. *Arnoldia*, 54(2), 20-30.
- Vinterhalter, D. V. (1989). *In vitro* propagation of green-foliaged *Dracaena fragrans* Ker. *Plant cell, tissue and organ culture*, 17(1), 13-19.
- Yazgan, M. E., Korkut, A. B., Barış, E., Erkal, S., Yılmaz, R., Erken, K., ...ve Özyavuz, M. (2005). Süs bitkileri üretiminde gelişmeler. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, 3-7.
- Yıldırım, H., Onay, A., Gunduz, K., Ercisli, S., & Karaat, F. E. (2019). An improved micropropagation protocol for lentisk (*Pistacia lentiscus* L.). *Folia Horticulturae*, 31(1), 61-69.
- Wong, C. E., ve Bhalla, P. L. (2010). *In vitro* propagation of Australian native ornamental plant, *Scaevola*. In *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants* (pp. 235-241). Humana Press.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşe AYHAN
Uyruğu : T.C
Doğum Yeri ve Tarihi : Silifke/ 27.09.1995
Telefon : 555 754 64 34
e-mail : ayseeaayhan@icloud.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Silifke Anadolu Lisesi	2013
Üniversite	: Necmettin Erbakan.Üniversitesi Biyoteknoloji Bölümü (Konya)	2017
Yüksek Lisans :	Necmettin Erbakan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik (Konya)	2020

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2019-2020	Ada Biyoteknoloji LTD. ŞTİ.	Ar-Ge Uzmanı

UZMANLIK ALANI- Bitki Doku Kültürü- Bitki Biyoteknolojisi

YABANCI DİLLER- İngilizce