

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



PROJE BAŞLIĞI

Bazı Endemik İris (*Iris* spp.) Türlerinin *İn Vitro* Çoğaltımı

Proje No: FBA-10-3206

Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Prof. Dr. Ali İrfan İLBAŞ

Seyrani Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. Neşet ARSLAN

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü

Prof.Dr. Serkan URANBEY

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Arif İPEK

Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yrd. Doç. Dr. Satı UZUN

Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü

Araş. Gör. Erman BEYZİ

Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü

Aralık 2012

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Geofitler; gerek içerdikleri kimyasal bileşikler, gerekse gösterişli çiçekleri nedeniyle yüzyıllardan beri doğadan sökülerek iç ve dış piyasaya sunulmakta ve bu durum doğada sayılarının azalmasına neden olmaktadır. Geofitlerin kültüre alınmasındaki en önemli sorun ise, çoğalma hızlarının son derece yavaş olmasıdır. Öte yandan, *in vitro* doku kültürü teknikleri kullanılarak kısa sürede çok sayıda soğancık üretimi mümkün olabilmektedir. Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri FBA-10-3206 nolu proje kapsamında desteklenen bu çalışmada, hem endemik olması hem de gösterişli çiçekleri nedeni ile ekonomik potansiyeli yüksek olan *Iris sari*, *I. schachtii* ve *I. galatica* türlerinin, *in vitro* yöntemlerle çoğaltılması ve elde edilen sürgünlerin dış şartlara alıştırılması çalışmaları yürütülmüştür. Proje ekibi olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM	7
3.1 Materyal	7
3.2 Yöntem	7
3.2.1 Besin ortamı ve doku kültürü koşulları	7
3.2.2 Eksplantların sterilizasyonu	8
3.2.3 Büyüme ve rejenerasyon ortamı	8
3.2.4 Sürgünlerin köklendirilmesi	9
3.2.5 Köklenen sürgünlerin dış ortama alıştırılması	10
3.2.6 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi	10
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	11
4.1 Adventif Sürgün Rejenerasyonu Çalışmaları	11
4.1.1 <i>Iris sari</i> 'de olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonu	11
4.1.2 <i>Iris schachtii</i> 'de olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonu	14
4.1.3 <i>Iris galatica</i> 'da adventif sürgün rejenerasyonu	17
4.1.3.1 <i>Iris galatica</i> 'da olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonu	17
4.1.3.2 <i>Iris galatica</i> 'da yaprak eksplantından adventif sürgün rejenerasyonu	19
4.2 Rejenere Olan Sürgünlerin Köklendirilmesi	21
4.2.1 <i>Iris sari</i> 'de sürgünlerin köklendirilmesi	21
4.2.2 <i>Iris schachtii</i> 'de sürgünlerin köklendirilmesi	23
4.2.3 <i>Iris galatica</i> 'da sürgünlerin köklendirilmesi	24
4.3 Köklenen Sürgünlerin Dış Koşullara Alıştırılması	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6. KAYNAKLAR	34

ÖZET

Bu proje kapsamında, endemik *Iris sari*, *I. schachtii* ve *I. galatica* türlerinin *in vitro* çoğaltılması için bir protokol geliştirilmiştir. Bu amaçla *I. sari*, *I. schachtii* ve *I. galatica* türlerine ait olgunlaşmamış embriyolar farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarda thidiazuron (TDZ), 6-benzilaminopurin (BAP), kinetin (KIN) ve α -naftalenasetik asit (NAA) içeren MSO besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Olgunlaşmamış embriyo başına *I. sari*'de 9.55 adet, *I. schachtii*'de 11.34 adet ve *I. galatica*'da 4.85 adet sürgün elde edilmiştir. Rejenere olan sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığı zaman değişik oranlarda Indol-3-bütirik asit (IBA) ve NAA içeren MSO besin ortamında köklendirilmiştir. *I. sari* ve *I. schachtii*'de en iyi köklenme 1 mg/l IBA veya 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA içeren ortamlardan, *Iris galatica*'da ise 1 mg/l IBA veya 1 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. Köklenen sürgünler torf veya su kültüründe dış koşullara aktarılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Iris sari*, *I. schachtii*, *I. galatica*, doku kültürü, *in vitro* sürgün rejenerasyonu, olgunlaşmamış embriyo, köklenme, dış koşullara alıştırma

ABSTRACT

In this project, a protocol for *in vitro* propagation of endemic *Iris sari*, *I. schachtii* ve *I. galatica* species were developed. For this purpose, immature embryo explants of *I. sari*, *I. schachtii* ve *I. galatica* were cultured on MSO media supplemented with various concentrations and combination of thidiazuron (TDZ), 6- benzylaminopurine (BAP), kinetin (KIN) and α -naphthalenacetic acid (NAA). 9.55, 11.34 and 4.85 shoot per embryo were obtained from *Iris sari*, *I. schachtii* and *I. galatica* respectively. 3-5 cm regenerated shoots were rooted on MSO medium containing different concentration of indole-3-butyric acid (IBA) and NAA. The best medium for rooting was 1 mg/l IBA or 1 mg/l IBA and 0.2 mg/l NAA for *I. sari* and *I. schachtii*, 1 mg/l IBA or 1 mg/l NAA for *I. galatica*. Rooted shoots were trasplanted *ex-vitro* using turf or hydroponic culture.

Key words: *Iris sari*, *I. schachtii*, *I. galatica*, tissue culture, *in vitro* shoot regeneration, immature embryo, rooting, acclimatizaiton.

1. GİRİŞ

Türkiye; gerek farklı iklimlere ve coğrafi kesimlere sahip olması gerekse üç floristik bölgenin (Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik) kesişme noktasında bulunması sebebiyle bitki türlerinin çokluğu bakımından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Bunun sonucu olarak en son yapılan çalışmalara göre ülkemizde yaklaşık üçte biri endemik olmak üzere toplam 11014 adet bitki taksonu (tür, alttür, varyete vb.) bulunmaktadır (Güner vd., 2000). Bu tür zenginliği içinde geofit (soğanlı-yumrulu) bitkilerinin yeri büyüktür. Toprak altında soğan, yumru ve rizom gibi organları bulunan ve bunlarda çeşitli maddeleri depo eden, aynı zamanda güzel ve gösterişli çiçekleri olan otsu bitkiler olarak tanımlanabilecek geofitler; gerek içerdikleri kimyasal bileşikler, gerekse gösterişli çiçekleri nedeniyle yüzyıllardan beri doğada yetiştikleri yerlerden sökülerek iç ve dış piyasaya sunulmaktadır. Özellikle ihracat yoluyla yıllar içerisinde artan talebi karşılama için yapılan söküm, bu değerli bitki türlerinin doğadaki stoklarını azaltmış ve birçoğunda neslinin tehlike altına girmesine neden olmuştur. Doğal çiçek soğanlarının sökümleri, bu nedenle yasalarla kontrol altına alınmıştır (Kalyoncu, 2007).

Aşur (2006)'un bildirdiğine göre “Bugün Avrupa bahçeleri süsleyen birçok soğanlı bitki Anadolu'dan gitmiştir. Örneğin lalenin (*Tulipa*) Türkiye'den Avrupa'ya hangi tarihte götürüldüğü kesin olarak bilinmemektedir. Avusturya-Macaristan İmparatoru'nun Sultan Süleyman nezdindeki büyükelçisi O. G. Busbecq'in İstanbul'dan Avrupa'ya götürdüğü bitkiler arasında lale soğanlarının da bulunduğu sanılmaktadır (Baytop, 1998; Koyuncu vd., 1999; Pavord, 1999). Diğer bir geofit olan ters lalenin *Fritillaria imperialis* Türkiye'den Viyana'ya 1576 yılında John Parkinson tarafından götürüldüğü bilinmektedir (Grismshaw, 2002)”.

Yurt dışında çok tanınan iris türleri ise, sahip oldukları birbirinden farklı renk ve tonları nedeniyle özellikle bahçelerde olmak üzere peyzaj planlama çalışmalarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Dekoratif özelliği ve parfüm yapımında hammadde olarak kullanımından dolayı irisler uzun yıllardan beri yetiştirilmektedir (Aşur, 2006). Kuzey yarımkürede 250'den fazla türü bulunmaktadır. Türkiye florası 1-11'inci ciltlerinde 40 türle temsil edilen *Iris* cinsinde, son yıllarda yayınlanan yeni 2 *Iris* sp. (*I. celikii* Akpulat & K.I.Chr. ve *I. nezahatiae* Güner & H.Duman) ve *I. tuberosa*'nın da (*Hermodactylus tuberosus* (L.) Mill.) dahil

edilmesiyle tür sayısı 43'e yükselmiştir. Bunlardan 13'ü (%30.2) ülkemize endemiktir (Aslan ve Karataş, 2012).

İrisler güç tohum bağlarlar ve tohumdan elde edilen bitkiler çok geç çiçek açar. Bu nedenle tohum ancak yeni çeşitler meydana getirmek için kullanılır. En çok kullanılan üretim şekli, yumru kökleri aracılığı ile yapılandır (<http://hobibahcemiz.net>).

İrislerin düşük üretim hızları, kültüre alınarak geniş alanlarda üretilmelerinin önündeki en büyük engeli teşkil ederken endemik olan türlerin ise habitat tahribi ve doğadan toplama nesillerinin devamlılığını tehlikeye atmaktadır. Bundan dolayı kültüre alınabilmeleri için alternatif hızlı çoğaltım tekniklerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Son yıllarda kullanımı giderek artan *in vitro* doku kültürü teknikleri ile soğanlı bitkiler çok kısa zamanda çoğaltılabilmektedir (Mirici vd., 2005; Nasırcılar vd. 2011). Bu projede de 3 endemik *Iris* türünün doku kültürü teknikleri ile *in vitro* çoğaltımı amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Biyolojik zenginliklerimiz içerisinde yer alan bitki gruplarından birisi de her biri ayrı bir güzellikte çiçeğe sahip olan türlerin yer aldığı yumrulu ve soğanlı bitkiler (Geofitler) grubudur. Dünya’da ve Türkiye’de süs bitkileri ihracatı içinde önemi her geçen gün artmaktadır. Türkiye’de 688 kadar geofit (soğanlı ve yumrulu) bitki türü bulunmakta, bu sayı ülkemiz florasının % 6’ dan fazlasını oluşturmaktadır (Mathew ve Baytop 1984; Özhatay, 2003). Bu yüzden olsa gerek, bazı yabancı kaynaklarda Anadolu geofitlerin anavatanı olarak adlandırılmaktadır (Schacht, 1955). Bu gruba dâhil bitkilerden bazıları da *Iridacea* familyasından *Iris* türleridir. Ülkemiz florasında 43 adet *Iris* türü olup bunlardan 13 tanesi endemiktir. ***Iris sari* SCHOTT EX BAKER** türü endemik çok yıllık bir tür olup, çiçeklenme zamanı 4-6. aylardır. 900-2700 m. de, Amasya, Çankırı, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Bayburt, Niğde, Kayseri illerinde doğal olarak bulunmaktadır (Şekil 2.1). ***Iris schachtii* MARKGRAF** de endemik çok yıllık bir türdür. Çiçeklenme zamanı 5-6. aylardır ve 1200-1700 m. de, Ankara, Çankırı, Eskişehir, Kayseri, Konya, Sivas, Yozgat illerinde doğal olarak bulunmaktadır (Şekil 2.2). ***Iris galatica* SIEHE** da benzer şekilde endemik çok yıllık bir türdür (Şekil 2.3). Çiçeklenme zamanı 3-4. aylardır. 400-1700 m. de, Amasya, Erzincan, Kayseri, Nevşehir, Sivas, Tokat, Karaman illerinde doğal olarak bulunmaktadır (Tubives, 2012).



Şekil 2.1 *Iris sari*'nin genel görünümü



Şekil 2.2 *Iris schachtii*'nin genel görünümü



Şekil 2.3 *Iris galatica*'nın genel görünümü

In vitro doku kültürü teknikleri bitkisel materyalin hızlı çoğaltılması için ideal bir sistem olarak ortaya çıkmış olup, soğanlı bitkilerden çok kısa sürede çok sayıda bitki üretilmektedir. Doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir. Doku kültüründen türler arası melezlemelerden sonra embriyo kültürü, haploid bitki üretiminde anter (polen) ve yumurtalık (ovül) kültürü, somaklonal varyasyon oluşturma, *in vitro* seleksiyon ve döllenme, *in vitro* germplazm muhafazası, somatik hücre melezlemesi (protoplast füzyonu), gen transferi, hastalıksız bitki elde etme, mikroçoğaltım, sentetik tohum elde etme ve sekonder metabolit üretimi gibi alanlarda yararlanılmaktadır (Babaoğlu vd., 2001). Çeşitli bitki kısımları, uygun besin ve hormon dengesi içeren ortamlara yerleştirildikleri zaman, organogenesis ya da embryogenesis yoluyla somatik hücrelerden yeni bitkiler rejenere edilebilmektedir. Doku kültürü ile bitkilerden elde edilecek rejenerasyonda kullanılan genotip, besin maddesi, kültür koşulları, büyümeyi düzenleyiciler, eksplantın fizyolojik yaşı ve tipi gibi faktörler çok önemli bir yere sahiptir.

Doku kültürü ile geofitlerde; kökler (Kerbaui, 1993), protoplastlar (Nakano vd., 2005), soğan pul yaprakları (Uranbey vd., 2010a; Karamian vd., 2011; Nasırcılar vd., 2011), çiçek organları (Ziv ve Lilien-Kipnis 2000; Boltenkov ve Zarembo, 2005), gövde ve yapraklar (Suzuki ve Nakano, 2001), olgunlaşmamış embriyo ve olgunlaşmamış tohumlar (Mirici vd., 2005; Parmaksız ve Khawar, 2006) gibi çok çeşitli eksplantlar kullanılarak hızlı soğan eldesi çalışmaları yapılmaktadır. Özellikle olgunlaşmamış embriyo eksplantları kullanılarak *Sternbergia*, *Muscari* gibi endemik ve tehlike altında olan türlerde başarılı bir şekilde bitki çoğaltımı gerçekleştirilmiştir.

Benzer şekilde iris türlerinde de *in vitro* yöntemlerle bitki çoğaltımına yönelik birçok araştırma bulunmaktadır. Ascough vd., 2009'un bildirdiğine göre iris türlerinde yapılan ilk çalışma 1945 yılında Randolph tarafından yürütülen embriyo kültürüdür. Daha sonra günümüze kadar birçok iris türünde doku kültürü çalışması yürütülmüştür. Bunlardan bazıları kısaca aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. *Iris* türlerinde doku kültürü ile yapılan çalışmaları

Tür	Eksplant	Kaynak
<i>I. ensata</i>	Yaprak	Yabuya vd., 1991
<i>I. setosa</i> , <i>I. pseudacorus</i> <i>I. versicolor</i>	Kök ve yaprak	Laublin vd., 1991
<i>I. germanica</i> L.	Protoplast	Shimizu vd., 1996
<i>I. germanica</i>	Yaprak tabanı	Shimizu vd., 1997
<i>I. germanica</i> L.	Yaprakların bazal kısımları	Wang vd., 1999 a
<i>I. germanica</i> L.	Yaprakların bazal kısımları	Wang vd., 1999 b
<i>I. xiphium</i> L var. <i>hybridum</i>	Soğan segmentleri	Suzhen vd., 1999
<i>I. nigricans</i>	Yaprak kısımları	Shibli ve Ajlouni 2000
<i>I. pumila</i>	Yaprak tabanı	Jevremovic ve Radojevic, 2002
<i>I. ensata</i> , <i>I. setosa</i> <i>I. sanguinea</i>	Çiçek organları	Boltenkov ve Zarembo 2005
<i>I. hollandica</i>	2 pul yaprak	Fidalgo vd., 2005
<i>I. petrana</i> , <i>I. atrofusca</i> , <i>I. vartani</i>	Çiçek tabanı	Al-Gabbiesh vd., 2006
<i>I. sensata</i>	Embriyo	Boltenkov vd., 2007
<i>I. adriatica</i>	Yaprak tabanı ve ovaryum	Keresa vd., 2009
<i>I. lactea</i> Pall. var. <i>chinensis</i>	Olgun tohum	Meng vd., 2009
<i>I. pumila</i>	Zigotik embriyo	Jevremovic vd., 2010
<i>I. stenophylla</i> Hausskn & Siehe Ex Baker subsp. <i>Allisonii</i> B Mathew	Olgunlaşmamış embriyo, soğan yaprakları	Nasırcılar vd., 2010

Değişik araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi iris türlerinin çoğunun, tohum ekiminden çiçek açacak zamana ulaşması ortalama 4-5 yıl süre alması ve vejetatif çoğaltım hızının da düşük olması nedeniyle bir takım hızlı çoğaltma tekniklerinin bu bitkiler üzerinde geliştirilmesi gerekmektedir (Boltenkov vd., 2007; Shibli ve Ajlouni, 2000; Wang vd., 1999a; Wang vd., 1999b).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada materyal olarak ülkemiz doğal florasında yayılış gösteren *Iris sari*, *I. schachtii*, ve *I. galatica* türleri kullanılmıştır. Bu türler doğal yayılış gösterdiği alanlardan toplanarak Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri deneme alanlarında koruma altına alınmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Besin ortamı ve doku kültürü koşulları

Denemelerde MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog, 1962; Çizelge 3.1) ile %3 sukroz içeren ve %0.7'lik agar ile katılaştırılan temel besin ortamı (MSO) kullanılmıştır. Ortamların hazırlığında bidistile su kullanılmış, duruma göre besin ortamlarına farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (BAP, NAA, TDZ, Kinetin ve IBA) ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir.

Çizelge 3.1. MS ortamında bulunan besin maddeleri ve konsantrasyonları

Besin Maddeleri		Konsantrasyonu (mg/l)
Makro Elementler	NH ₄ NO ₃	1650
	KNO ₃	1900
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	KI	0.83
	H ₃ BO ₃	6.20
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.30
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85
	Na ₂ EDTA.	37.25
Vitaminler	Myo-Inositol	100.0
	Nikotinik Asid	0.50
	Pyrotinik Asid	0.50
	Thiamin-HCl	0.10
	Glysin	2.00

Büyümeyi düzenleyiciler uygun çözücülerde çözüldükten sonra saf su ile istenen miktarlarda ve oranlarda stok solüsyonları hazırlanmıştır (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. Kullanılan büyüme düzenleyicileri, çözücüler ve saklama koşulları

Büyüme Düzenleyicileri	Çözücü	Saklama Koşulları (°C)
NAA	1 N NaOH	+4
IBA	1 N NaOH	+4
BAP	1 N NaOH	+4
Kinetin	1 N NaOH	+4
TDZ	1-2 damla DMSO	+4

Tüm kültürler beyaz florasan ışığında 16 saat ışık ve 8 saatlik karanlık fotoperiyotta 24 °C’de tutulmuştur.

Sterilizasyon ve tüm doku kültürü işlemleri steril kabin içinde yürütülmüştür. Kapların, saf su ve ortamın sterilizasyonunda 1.2 atmosfer, 121 °C ve 20 dakikaya ayarlı otoklav kullanılmıştır. Petri kutuları, 160 °C’de 2 saat etüvde steril edilmiştir.

3.2.2 Eksplantların sterilizasyonu

Türlerin olgunlaşmamış embriyolarını içeren meyveleri %50’lik ticari çamaşır suyunda 10 d yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra 3 kez 5’er dakika steril saf su ile durulanmıştır. Daha sonra steril ortamda tohumlar meyvelerin içerisinde çıkartılmış bir pens yardımıyla sıkılmak suretiyle olgunlaşmamış embriyolar çıkartılmış ve kültüre alınmıştır.

3.2.3 Büyüme ve rejenerasyon ortamı

Iris sari ve *Iris schachtii*’de rejenerasyon için MSO besin ortamına (1, 2, 4 mg/l) BAP-(0.50 mg/l) NAA; (2, 4 mg/l) KIN-(0.5 mg/l) NAA ve (0.5, 1 mg/l) TDZ-(0.50 mg/l)-NAA ilave edilerek 14 farklı besin ortamı kombinasyonu oluşturulmuştur ve olgunlaşmamış embriyolar 16 saat ışık 8 saat karanlık fotoperiyotta kültüre alınmıştır (Çizelge 3.3.). *Iris galatica* türünde ise olgunlaşmamış embriyolar (0.5, 1 mg/l) TDZ-(0.50 mg/l) NAA içeren 4 farklı, ile *in vitro*

da gelişen sürgünlerden elde edilen yapraklar ise (0.5, 1 mg/l) TDZ-(0.50 mg/l) NAA ile (1 mg/l) BAP-(0.5 mg/l) NAA içeren 6 farklı ortam kombinasyonunda kültüre alınmıştır.

Sürgün gelişimine kadar her ay eksplantlar aynı ortamlarda alt kültür yapılmıştır. Sürgün gelişiminden sonra MSO içeren besin ortamında büyümeye bırakılmıştır.

Çizelge 3.3. *Iris sari* ve *Iris schachtii*'de kullanılan ortam kombinasyonları

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)			
BAP	TDZ	KIN	NAA
	0.5		
	0.5		0.5
	1		
	1		0.5
1			
1			0.5
2			
2			0.5
4			
4			0.5
		2	
		2	0.5
		4	
		4	0.5

3.2.4 Sürgünlerin köklendirilmesi

Rejenere olan sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığı zaman kesilerek, 0 (büyümeyi düzenleyici içermeyen), 1mg/l IBA (Indole bütirik asit), 1,5 mg/l NAA (naftelin asetik asit), 2 mg/l NAA, 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA, 1mg/l IBA veya 0.4 mg/l NAA içeren MS, 30 g/l sukroz ve 7.5 mg/l agar içeren ortamlarda köklendirilmeye alınmıştır.

3.2.5 Köklenen sürgünlerin dış ortama alıştırılması

Köklenen sürgünlerin dış koşullara alıştırılmasında 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde sürgünler içinde torf bulunan saksılara aktarılmış, saksıların üzeri plastik poşetlerle kapatılmıştır. Aktarılan bitkiler iklim dolabında yüksek nemde (% 90–95) bir hafta tutulduktan sonra yavaş yavaş normal nem seviyesine alıştırılmıştır.

İkinci yöntemde ise besi ortamı olarak Hoagland çözeltisi (elektriksel iletkenliği 2.5 dS/m olacak şekilde ayarlanmıştır) kullanılan akan su kültüründe dış koşullara aktarılmıştır. Bu amaçla bitkicikler *in vitro* ortamdan çıkarıldıktan sonra içlerinde (2 mm’de büyük 4 mm’den düşük) elenmiş pumis bulunan bardaklara aktarılmış, üzeri plastik poşet ile kapatılmış ve su kültürüne yerleştirilmiştir.

3.2.6 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

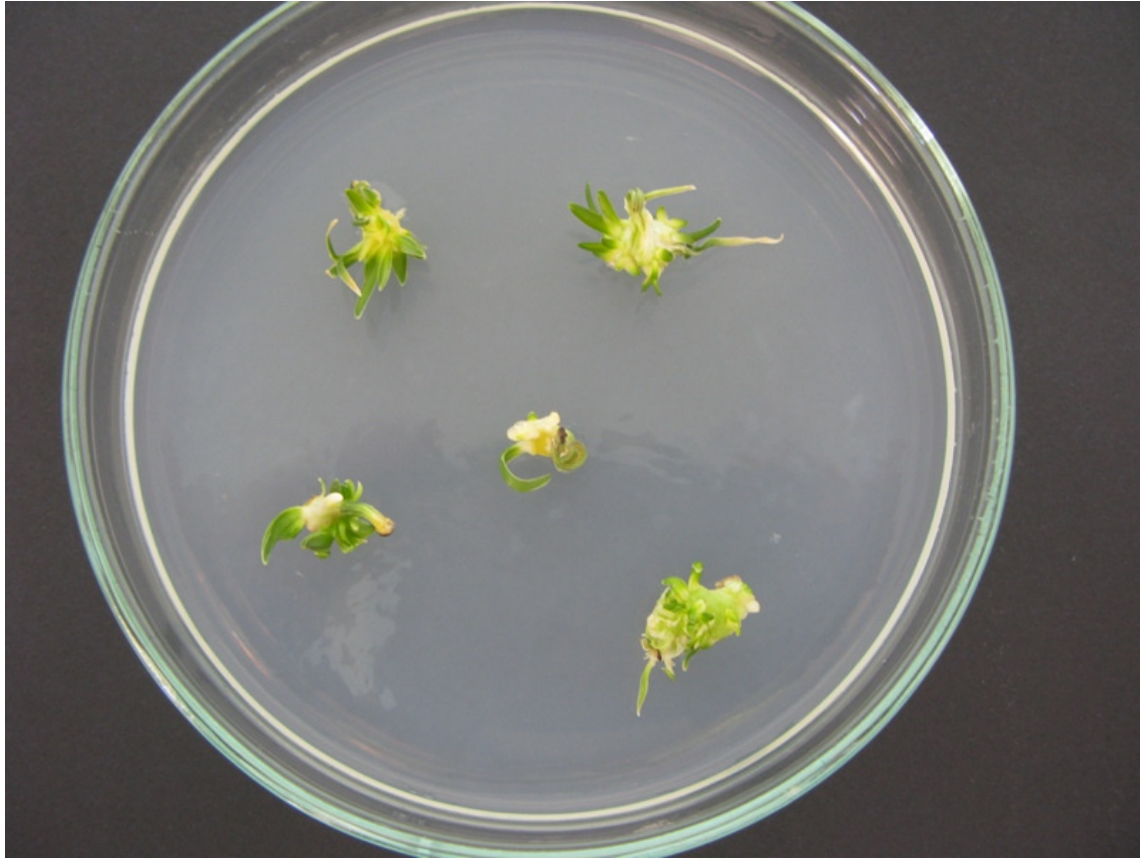
Denemeler 4 tekerrürlü olarak Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre kurulmuş olup, her bir tekerrürde 6-10 ekplantın kültüre alındığı 100x10 mm’lik petri kutuları veya magenta kapları kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler bilgisayarda “SPSS for Windows” programı ile tesadüf parselleri deneme desenine göre analiz edilmiştir. Uygulama ortalamaları Duncan testi ile karşılaştırılmıştır. Yüzde değerleri istatistik analizi yapılmadan önce “arcsin transformasyon”una tabi tutulmuştur (Snedecor and Cochran 1967).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

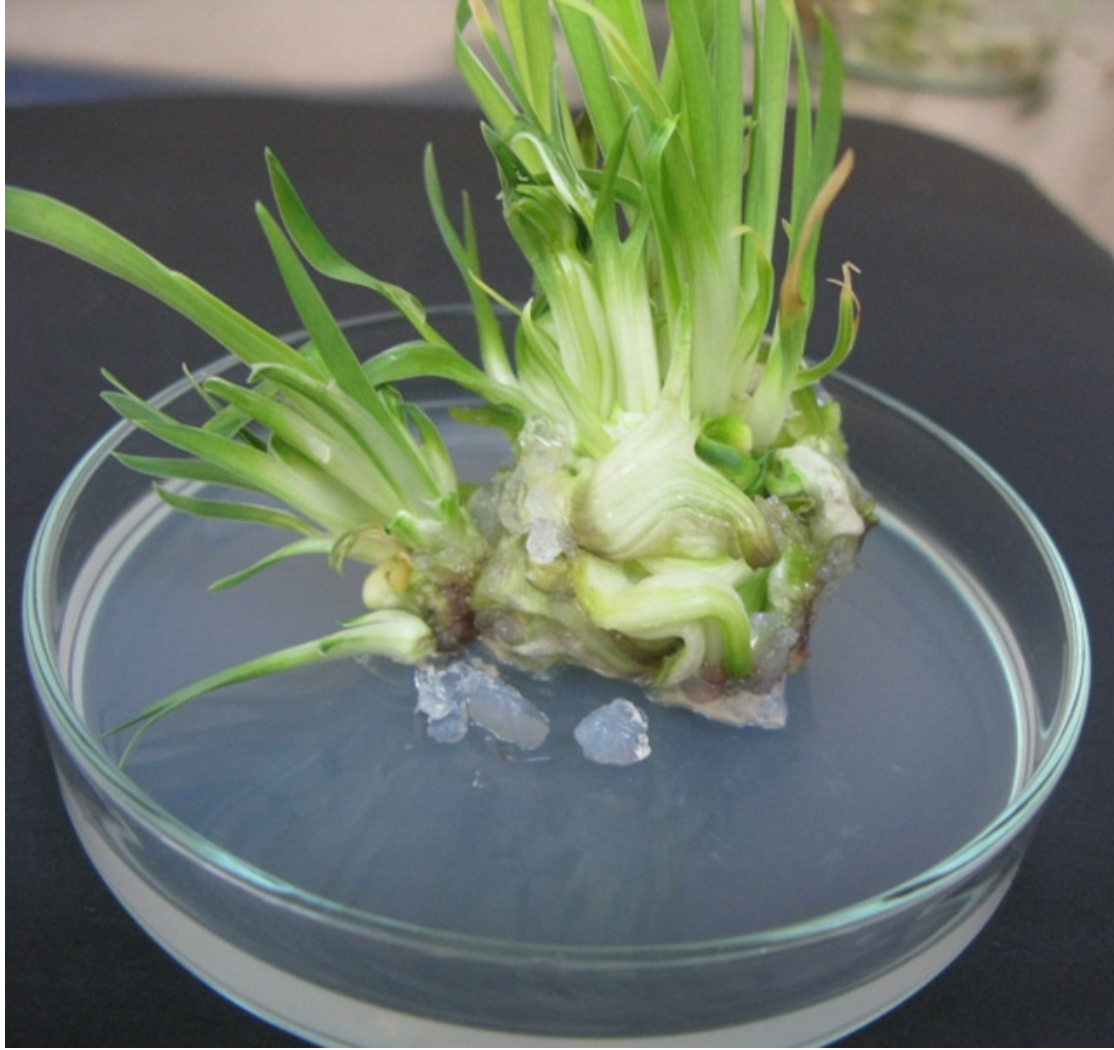
4.1 Adventif Sürgün Rejenerasyonu Çalışmaları

4.1.1 *Iris sari*'de olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonu

Yüksek oranda bir adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla olgunlaşmamış tohumlardan izole edilen embriyolar değişik oranlarda büyüme düzenleyiciler içeren besin ortamında kültüre alınmıştır. Çalışmada TDZ, (0.5, 1 mg/l), BAP (1, 2, 4 mg/l), KIN (2, 4 mg/l) ve NAA (0.5 mg/l)'in değişik konsantrasyon ve kombinasyonlarının adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır. Kültür başlangıcından 10-15 gün sonra tüm eksplantlar üzerinde sıkı yapılı morfogjenik yeşil kalluslar meydana gelmeye başlamıştır. Beş altı hafta içerisinde de bu kalluslar üzerinde çok sayıda adventif sürgün uçlarının gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.1, 4.2). Kültür başlangıcından 12-13 hafta sonra farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris sari*'de sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 *Iris sari*'de morfogjenik kalluslar üzerinde gelişen sürgün uçları



Şekil 4.2 *Iris sari*'de adventif sürgün gelişimi

Çizelge 4.1 Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris sari*'de adventif sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular				
	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi			Eksplant Başına Sürgün Sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	55	--		--	
Ortam	13	291.283	1.877	11.118	9.309**
Hata	42	155.164		1.194	

**) 0.01 düzeyinde önemli

SD: serbestlik derecesi, KO: kareler ortalaması

Çizelge 4.1 incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant yüzdesine ortamların etkisi önemsiz bulunurken, eksplant başına sürgün sayısı bakımından ortamların etkisi istatistiksel olarak 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklılığın önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris sari*’de adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)				Konular	
				Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (Adet)
BAP	TDZ	KIN	NAA		
-	0.5	-	-	93.75 (82.50)	7.05 b*
-	0.5	-	0.5	96.88 (84.82)	9.55 a
-	1	-	-	87.50 (72.15)	4.70 cdef
-	1	-	0.5	96.87 (84.82)	5.85 bc
1	-	-	-	87.50 (72.15)	3.55 ef
1	-	-	0.5	100.00 (90.00)	5.58 bcd
2	-	-	-	81.25 (67.88)	3.75 ef
2	-	-	0.5	96.88 (84.82)	5.63 bcd
4	-	-	-	81.25 (67.88)	4.00 def
4	-	-	0.5	100.00 (90.00)	5.25 cde
-	-	2	-	78.12 (65.94)	4.00 def
-	-	2	0.5	84.38 (69.82)	4.00 def
-	-	4	-	90.62 (74.47)	3.25 f
-	-	4	0.5	93.75 (79.65)	5.00 cdef

*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir.

Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4.2 incelendiğinde *Iris sari*’de en fazla sürgün oluşturan eksplant sayısı %100 ile 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA ile 4 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. En düşük sürgün oluşturan eksplant sayısı ise 2 mg/l KIN (%78.12) içeren ortamdan elde edilmiş ve değerler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Eksplant başına sürgün sayısına ait değerler incelediğinde ise en yüksek değer 9.55 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamda kaydedilirken en düşük değer 3.25 adet ile 4 mg/l

KIN içeren ortamdan kaydedilmiş, bu ortam ile 1 mg/l TDZ, 1 mg/l BAP, 2 mg/l BAP, 4mg/l BAP ve bütün kinetin içeren ortamlar istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır.

4.1.2 *Iris schachtii*'de olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonu

Iris schachtii'de yüksek oranda adventif sürgün elde etmek amacıyla olgunlaşmamış embriyo eksplantları TDZ, BAP, KIN'in farklı konsantrasyonlarının yalnız veya 0.5 mg/l NAA ile kombinasyonlarını içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 10-15 gün sonra tüm eksplantlar üzerinde sıkı yapılı morfogenik yeşil kalluslar, beş altı hafta adventif sürgün uçlarının gelişimi gözlenmiştir. Kültür başlangıcından yaklaşık 14-15 hafta sonra farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris schachtii*'de sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir (Şekil 4.3). Varyans analizi sonuçlarına göre ortamların sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi istatistiksel olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunurken, eksplant başına sürgün sayısına etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.3 Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris schachtii*'de adventif sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular				
	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi			Eksplant Başına Sürgün Sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	55	--		--	
Ortam	13	348.846	2.313*	20.369	15.451**
Hata	42	150.798		1.318	

*) 0.05 düzeyinde önemli

**) 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.4 Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris schachtii*'de adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)				Konular	
				Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (Adet)
BAP	TDZ	KIN	NAA		
-	0.5	-	-	95.83 (83.98) a*	9.96 abc*
-	0.5	-	0.5	95.83 (83.98) a	10.45 ab
-	1	-	-	87.50 (75.16) ab	5.75 fg
-	1	-	0.5	100.00 (90.00) a	11.34 a
1	-	-	-	100.00 (90.00) a	7.63 de
1	-	-	0.5	100.00 (90.00) a	9.58 abc
2	-	-	-	95.83 (83.98) a	8.54 cd
2	-	-	0.5	95.83 (83.98) a	8.79 bcd
4	-	-	-	100.00 (90.00) a	9.63 abc
4	-	-	0.5	87.50 (75.16) ab	9.17 bcd
-	-	2	-	70.84 (57.53) b	4.42 g
-	-	2	0.5	91.67(81.18) a	5.37 fg
-	-	4	-	83.34 (72.37) ab	4.83 fg
-	-	4	0.5	87.50 (71.93) ab	6.33 ef

*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir.

Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4.4 incelendiğinde en fazla sürgün oluşturan eksplant oranı 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l BAP, 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA ile 4 mg/l BAP içeren ortamlardan %100 ile elde edilirken, bu ortamlar % 70.84 ile en düşük değeri alan 2 mg/l KIN içeren ortam dışındaki tüm ortamlarla istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Eksplant başına sürgün sayısında ise en yüksek değer 11.34 adet ile 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiş ve bunu sırasıyla 10.45, 9.96, 9.63 ve 9.58 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, 0.5 mg/l TDZ, 4 mg/l BAP ve 1mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlar izlemiştir. En düşük değerler ise 5.75 adet ile 1 mg/l TDZ, 5.37 adet ile 2 mg/l KIN ve 0.5 mg/l NAA, 4.83 adet ile 4 mg/l KIN, 4.42 adet ile 2 mg/l KIN içeren ortamlardan elde edilmiştir.



Şekil 4.3 *Iris schachtii*'de adventif sürgün gelişimi

4.1.3. *Iris galatica*'da adventif sürgün rejenerasyonu

4.1.3.1. *Iris galatica*'da olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonu

Iris galatica'da adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla olgunlaşmış tohumlar normal iriliğini aldığı ancak endospermin hala yumuşak olduğu dönemde, olgunlaşmamış embriyolar izole edilerek farklı oranlarda TDZ ve NAA içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 10-15 gün sonra eksplantlar üzerinde kallus oluşumu başlamış ve 5-6 hafta sonra da bu kalluslar üzerinde sürgün gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.4).

Iris galatica'da farklı TDZ ve NAA oranlarının sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısına etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçları çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelge 4.5'e göre sürgün oluşturan eksplant oranına farklı TDZ ve NAA dozlarının etkisi önemsiz bulunurken, eksplant başına sürgün sayısına etkisi istatistiksel olarak 0.05'e göre önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris galatica*'da olgunlaşmamış embriyolardan adventif sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular				
	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi			Eksplant Başına Sürgün Sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	15	--		--	
Ortam	3	515.733	2.969	5.462	3.576*
Hata	12	173.730		1.527	

*)0.05 düzeyinde önemli

**) 0.01 düzeyinde önemli

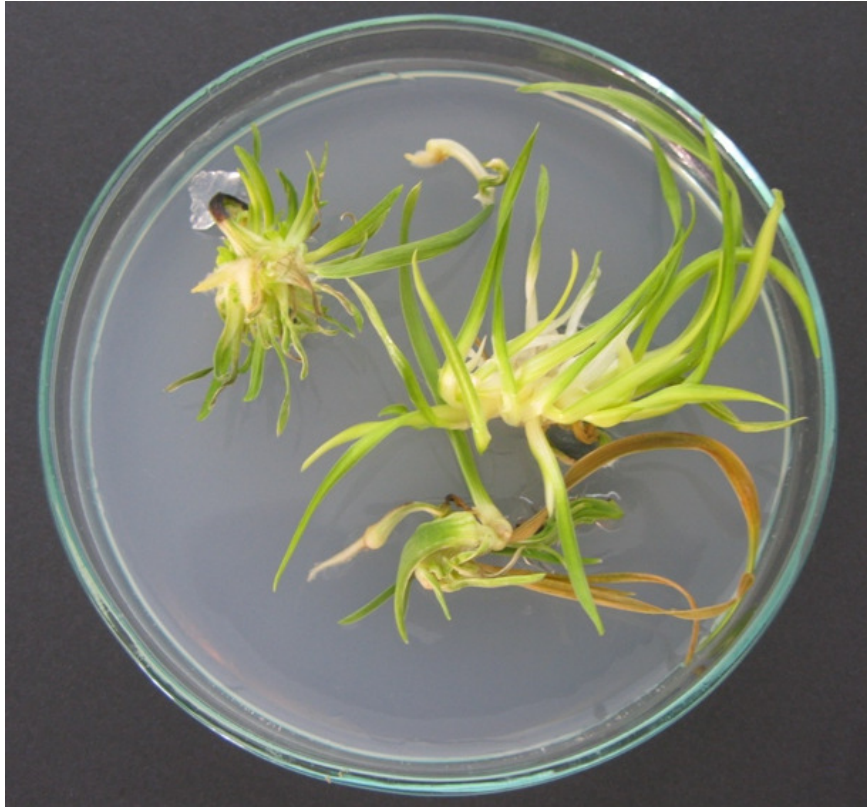
En fazla sürgün oluşturan eksplant oranı %100 ile 1 mg/l TDZ içeren ortamdan, en düşük ise %75 ile 1 TDZ mg/l ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiş ancak diğer ortamlarla aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (Çizelge 4.6). Eksplant başına sürgün sayısında ise en yüksek değer 4.85 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l TDZ NAA içeren ortamlardan elde edilirken bunu 4.50 adet ile 0.5 mg/l TDZ. 3.48 adet ile 1 mg/l TDZ ve 0.5

mg/l NAA içeren ortamlar izlemiştir. En düşük değer ise 2.25 adet ile 1 mg/l TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir.

Çizelge 4.6 Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris galatica*'da olgunlaşmamış embriyordan adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Konular	
		Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (Adet)
TDZ	NAA		
0.5	-	95 (83.359)	4.50 a*
1	-	100 (90.00)	2.25 b
0.5	0.5	95 (83.359)	4.85 a
1	0.5	75 (63.743)	3.48 ab

*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir. Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.



Şekil 4.4 *Iris galatica*'da adventif sürgün rejenerasyonu

4.1.3.2 *Iris galatica*'da yaprak eksplantından adventif sürgün rejenerasyonu

Iris galatica'da adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla in vitro bitkilerden gelişen yaprak eksplantları farklı oranlarda TDZ, NAA veya BAP içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 2-3 hafta sonra eksplantlar üzerinde kallus ve bu kalluslar üzerinde sürgün rejenerasyonu gözlenmiştir (Şekil 4.5). Çizelge 4.7'de ortamların sürgün oluşturan eksplant oranına ve eksplan başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları verilmiştir. Buna göre ortamların sürgün oluşturan eksplant oranına ve eksplant başına sürgün sayısına etkisi sırasıyla 0.01 ve 0.05 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris galatica*'da olgunlaşmamış yaprak eksplantında adventif sürgün rejenerasyonuna etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular				
	Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi			Eksplant Başına Sürgün Sayısı	
	S.D	K.O	F	K.O	F
Genel	23	--	--	--	--
Ortam	5	450.357	5.746**	2.212	3.567*
Hata	18	78.382		0.620	

*)0.05 düzeyinde önemli **) 0.01 düzeyinde önemli

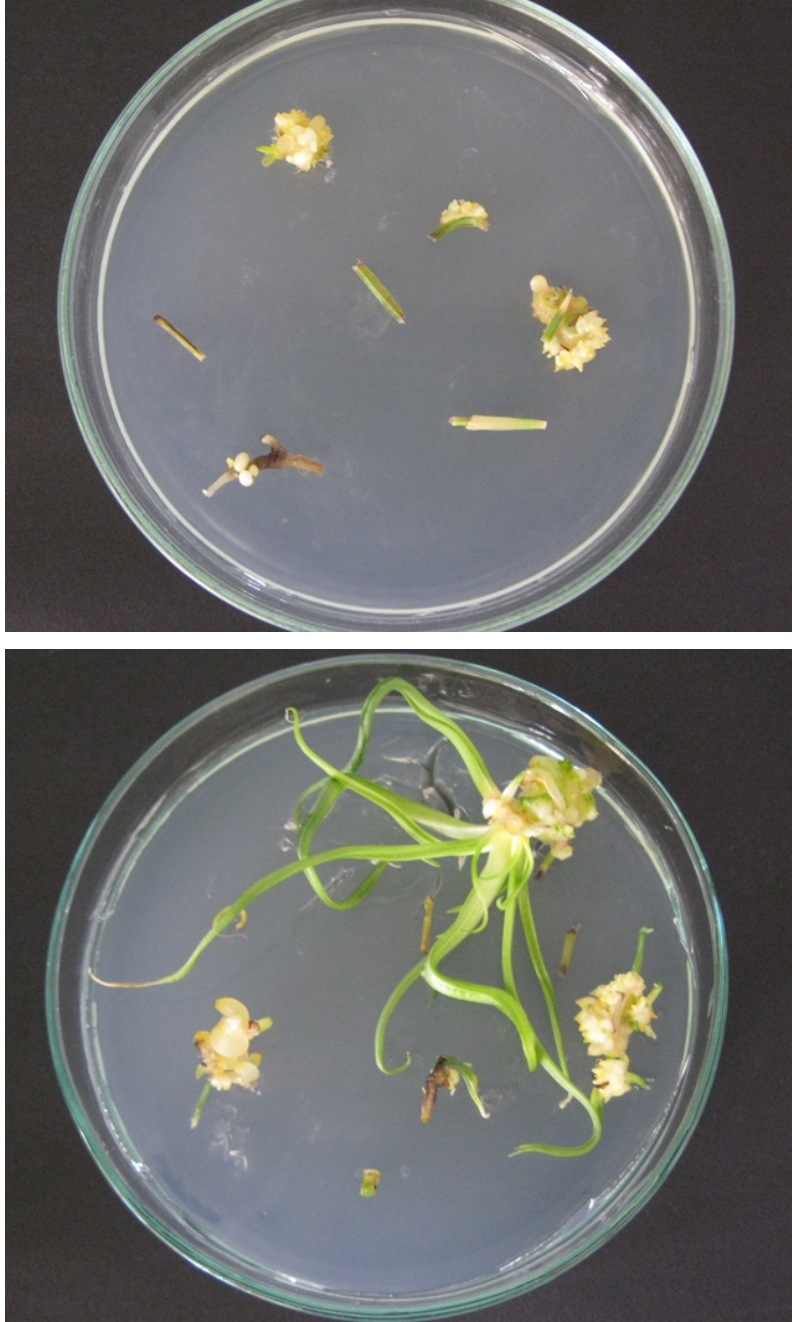
Çizelge 4.8 Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris galatica*'da yaprak eksplantında adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)			Konular	
			Sürgün Oluşturan Eksplant Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (Adet)
TDZ	BAP	NAA		
0.5	-	-	50.00 (45.00) a*	1.90 ab*
1	-	-	39.28 (38.66) ab	1.50 b
0.5	-	0.5	57.14 (49.20) a	2.86 a
1	-	0.5	50.00 (45.00) a	3.04 a
-	1		17.86 (21.71) c	1.46 b
-	1	0.5	25.00 (29.41) bc	1.36 b

*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir

Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4.8 incelendiğinde en fazla sürgün oluşturan eksplant oranı %57.14 ile 0.5 g/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilirken bunu sırasıyla %50 ve %39.28 ile 0.5 mg/l TDZ, 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ile 1 mg/l TDZ içeren ortamlar izlemiştir. En düşük sürgün oluşturan eksplant oranı %17.86 ve %25 ile 1 mg/l BAP ile 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısına ait değerler incelendiğinde en yüksek değerler 2.86 ve 3.04 adet ile 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA ile 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. En düşük değer ise 1.36 adet ile 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir.



Şekil 4.5 *Iris galatica*'da yaprak eksplantından adventif sürgün rejenerasyonu

4.2 Rejenere Olan Sürgünlerin Köklendirilmesi

4.2.1 *Iris sari*'de sürgünlerin köklendirilmesi

Iris sari'de rejenere olan sürgünler ortalama 3-4 cm uzunluğa ulaştığı zaman MSO, 1 mg/l IBA, 1.5 mg/l NAA, 2 mg/l NAA, 1 mg/l IBA ve 0.5 mg/l NAA ile 1 mg/l IBA ve 0.4 mg/l NAA içeren ortamlarda köklendirilmeye alınmıştır. Farklı dozlarda IBA ve NAA'nın ortalama 2 ay sonra kök oluşturan sürgün yüzdesi, sürgün başına kök sayısı ve kök uzunluğuna etkisine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir (Şekil 4.6).

Çizelge 4.9. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris sari*'den elde edilen adventif sürgünlerin köklenmesine etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular						
	Kök oluşturan sürgün sayısı			Sürgün başına kök sayısı		Kök uzunluğu	
	S.D	K.O	F	K.O	F	KO	F
Genel	23						
Ortam	5	556.603	6.515**	1.008	2.571	7.264	5.580**
Hata	18	85.429		0.392		1.302	

**) 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.9 incelendiğinde kök oluşturan sürgün yüzdesi ve kök uzunluğuna ortamların etkisi istatistiksel olarak 0.01 düzeyinde önemli bulunurken, eksplant başına kök sayısına etkisi önemsiz bulunmuştur. Bu etkinin önem düzeyini belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçları ise Çizelge 4. 10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10' de görüldüğü gibi en yüksek köklenme oranı % 95 ile 1 mg/l IBA içeren ortamdan elde edilmiştir. Bu ortam ile 1.5 mg/l NAA, 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA içeren ortamlar istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. En düşük köklenme oranı ise %52.50 ile Hormon içermeyen MSO ortamından elde edilmiştir. Sürgün başına en fazla kök sayısı 4.37 adet ile 1 mg/l IBA içeren ortamda, en düşük kök sayısı ise 3.11 adet ile 1.5 mg/l NAA içeren ortamda belirlenmiş ve tüm ortamlar arasında istatistiksel olarak bir farklılık belirlenememiştir. Kök uzunluğunda ise en yüksek değerler 7.10 ve 6.10 cm ile 1 mg/l IBA ile 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA içeren ortamlardan sağlanmıştır.

Çizelge 4.10. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris sari*'den elde edilen adventif sürgünlerin köklenmesine etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Konular		
		Kök oluşturan sürgün yüzdesi (%)	Sürgün başına kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)
-	-	52.50 (46.44) c*	3.29	4.44 bc*
1		95.00 (80.78) a	4.37	7.10 a
	1.5	90.00 (74.14)ab	3.11	3.50 c
	2	80.00 (63.81) b	3.50	4.05 c
1	0.2	82.50 (68.42) ab	3.96	6.10 ab
1	0.4	77.50 (61.77) b	3.14	5.16 bc

*) Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir. Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.



Şekil 4.6 *Iris sari*'de kök gelişimi

4.2.2 *Iris schachtii*'de sürgünlerin köklendirilmesi

Iris schachtii'de rejenere olan adventif sürgünler 3-4 cm uzunluğa ulaştığı zaman MSO, 1 mg/l IBA, 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA ile 1 mg/l IBA ve 0.4 mg/l NAA içeren ortamlarda köklendirmeye alınmıştır. Kültür başlangıcından yaklaşık 2 ay sonra kök oluşturan sürgün yüzdesi, sürgün başına kök sayısı ve kök uzunluğuna ilişkin veriler kaydedilmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris schachtii*'den elde edilen adventif sürgünlerin köklenmesine etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular						
	Kök oluşturan sürgün yüzdesi			Sürgün başına kök sayısı		Kök uzunluğu	
	S.D	K.O	F	K.O	F	KO	F
Genel	15						
Ortam	3	884.512	10.27**	6.009	3.957*	1.900	1.619
Hata	12	86.122		1.519		1.174	

*)0.05 düzeyinde önemli **) 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.11'de yapılan varyans analizi sonuçlarına göre ortamların kök oluşturan eksplant oranına etkisi 0.01, sürgün başına kök sayısına etkisi 0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli çıkarken kök uzunluğuna etkisi önemsiz çıkmıştır.

Çizelge 4.12. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris schachtii*'den elde edilen adventif sürgünlerin köklenmesine etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Konular		
IBA	NAA	Kök oluşturan sürgün yüzdesi (%)	Eksplant başına kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)
-	-	52.50 (46.44) c*	2.00 b*	4.68
1		92.50 (78.75) a	3.45 ab	5.88
1	0.2	92.50 (76.17) ab	4.80 a	5.54
1	0.4	77.50 (62.15) b	4.29 a	4.43

*)Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir.

Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Köklenme yüzdesi bakımından en yüksek değer %92.50 ile 1 mg/l IBA ile 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. En düşük köklenme yüzdesi ise %52.50 ile MSO ortamından elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

Eksplant başına kök sayısına ait sonuçlar incelendiğinde MSO ortamı hariç bütün ortamlar istatistiksel olarak aynı sınıfta yer almıştır. Kök uzunluğunda ise ortamlar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz çıkmış ve en yüksek değer 5.88 ile 1 mg/l IBA içeren ortamdan kaydedilirken en düşük değer 4.43 adet ile 1mg/l IBA ve 0.4 mg/l NAA içeren ortamdan kaydedilmiştir.



Şekil 4.6 *Iris schactii*'de kök gelişimi

4.2.3 *Iris galatica*'da sürgünlerin köklendirilmesi

Iris galatica'da rejenere kalluslar üzerinde gelişen sürgünler 3-5 cm uzunluğa geldiği zaman MSO, 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA içeren ortamlarda köklendirilmeye alışmıştır. Köklenmeye alınan sürgünlerde ortalama 2 ay sonunda kök sistemi gelişmiş ve köklenme oranı, sürgün başına kök sayısı ve kök uzunluğu parametreleri kaydedilerek varyans analizine tabi tutulmuştur (Şekil 4.7). Varyans analizi sonucunda ortamların köklenme oranına, sürgün başına kök sayısına etkisi istatistiksel olarak önemsiz çıkarken, kök uzunluğuna etkisi 0.01 düzeyinde önemli çıkmıştır (Çizelge 4.13). Kök uzunluğu üzerine ortamların etkisini belirlemek üzere yapılan Duncan analiz sonuçlarına göre en fazla kök uzunluğu 2.68 cm ile 1

mg/l IBA içeren ortamdan elde edilirken 2.33 cm ile 1 mg/l NAA içeren ortamla arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz çıkmıştır. En düşük kök uzunluğu ise 1.20 cm ile hormon içermeyen ortamdan elde edilmiştir. Köklenme oranı %30-50 arasında, eksplant başına kök sayısı ise 1.75-2.75 adet arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.13. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris galatica*'dan elde edilen adventif sürgünlerin köklenmesine etkisine ait varyans analizi

V.K.	Konular						
	Kök oluşturan sürgün sayısı			Sürgün başına kök sayısı		Kök uzunluğu	
	S.D	K.O	F	K.O	F	KO	F
Genel	11						
Ortam	2	259.734	3.373	1.083	3.900	2.376	13.930**
Hata	9	77.012		0.278		0.171	

*)0.05 düzeyinde önemli **) 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.14. Farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının *Iris galatica*'dan elde edilen adventif sürgünlerin köklenmesine etkisi

Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Konular		
IBA	NAA	Kök oluşturan sürgün yüzdesi (%)	Eksplant başına kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)
-	-	(32.90) 30	1.750	1.20 b*
1		(45.00) 50	2.500	2.68 a
	1	(48.17) 55	2.750	2.33 a

*)Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P \leq 0.05$ düzeyinde önemlidir.

Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.



Şekil 4.7 *Iris galatica*'da kök gelişimi

4.3 Köklenen Sürgünlerin Dış Koşullara Alıştırılması

Köklenen sürgünlerin dış koşullara alıştırılmasında 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Öncelikle *Iris sari*, *Iris schachtii* ve *Iris galatica*'da kökler herhangi kontaminasyona neden olmaması için üzerinde bulunan agarı uzaklaştırmak amacıyla saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra birinci yöntemde yıkanan bitkiler içinde torf bulunan saksılara aktarılmış, saksıların üzeri plastik poşetlerle kapatılmıştır. Aktarılan bitkiler iklim dolabında yüksek nemde (% 90–95) bir hafta tutulduktan sonra yavaş yavaş normal nem seviyesine alıştırılarak iklim odasında büyümeye bırakılmış ve yaklaşık 40 gün sonra içerisinde eşit oranda torf, kum ve tarla toprağı bulunan büyük saksılara aktarılmıştır (Şekil 4.8). İkinci yöntemde ise besi ortamı olarak Hoagland çözeltisi (elektriksel iletkenliği 2.5 dS/m olacak şekilde ayarlanmıştır) kullanılan akan su kültüründe dış koşullara alıştırılmıştır. Bu amaçla bitkicikler *in vitro* ortamdan çıkarıldıktan sonra içlerinde (2 mm'de büyük 4 mm'den düşük) elenmiş pumis bulunan bardaklara aktarılmış, üzerlerine plastik poşet geçirilmiş ve su kültürüne yerleştirilmiştir. Su kültürünün elektriksel iletkenliği rutin olarak haftada bir kontrol edilerek besin maddesi ilavesi yapılmıştır.

Deneme sonucunda *Iris sari*'de saksılara aktarılan 75 bitkiden 45 tanesi, *Iris schachtii*'de 59 bitkiden 36 tanesi canlılığını devam ettirmiştir. Akan su kültüründe ise *Iris sari*'de 19 bitkiden 17 tanesi, *Iris schachtii*'de 37 bitkiden 34 tanesi canlılığını devam ettirmiştir. *Iris galatica*'da köklenen sürgünlerden hiç biri dış koşullarda yaşatılamamıştır. *Iris sari* ve *Iris schachtii*'de sırasıyla torf ortamında canlılık oranı %56 ve %61 akan su kültüründe ise %89.5 ve %91.89 olarak kaydedilmiştir. Saksılarda torf içeren ortamda gelişen bitkilerin yarısı seraya aktarılmış yarısı ise iklim odasında gelişmesini devam ettirmektedir (Şekil 4.9). Akan su kültüründe ise bitkilerin kültürü devam etmektedir (Şekil 4.10, 4.11).

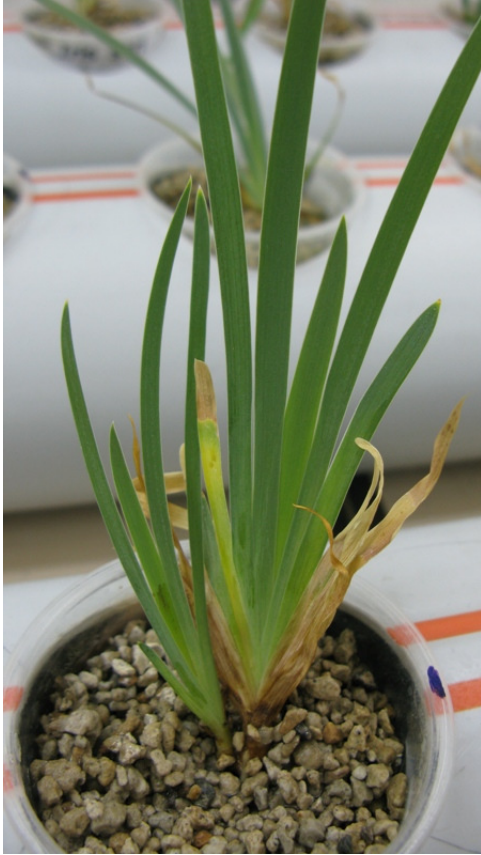
Türler	Torf			Akan su kültürü		
	Kültüre alınan sürgün sayısı	Canlılığını devam ettiren sürgün sayısı	Canlı bitki oranı (%)	Kültüre alınan sürgün sayısı	Canlılığını devam ettiren sürgün sayısı	Canlı bitki oranı (%)
<i>Iris sari</i>	75	45	56	19	17	89.5
<i>Iris schachtii</i>	59	36	61	37	34	91.89
<i>Iris galatica</i>	10	--	--	5	--	--



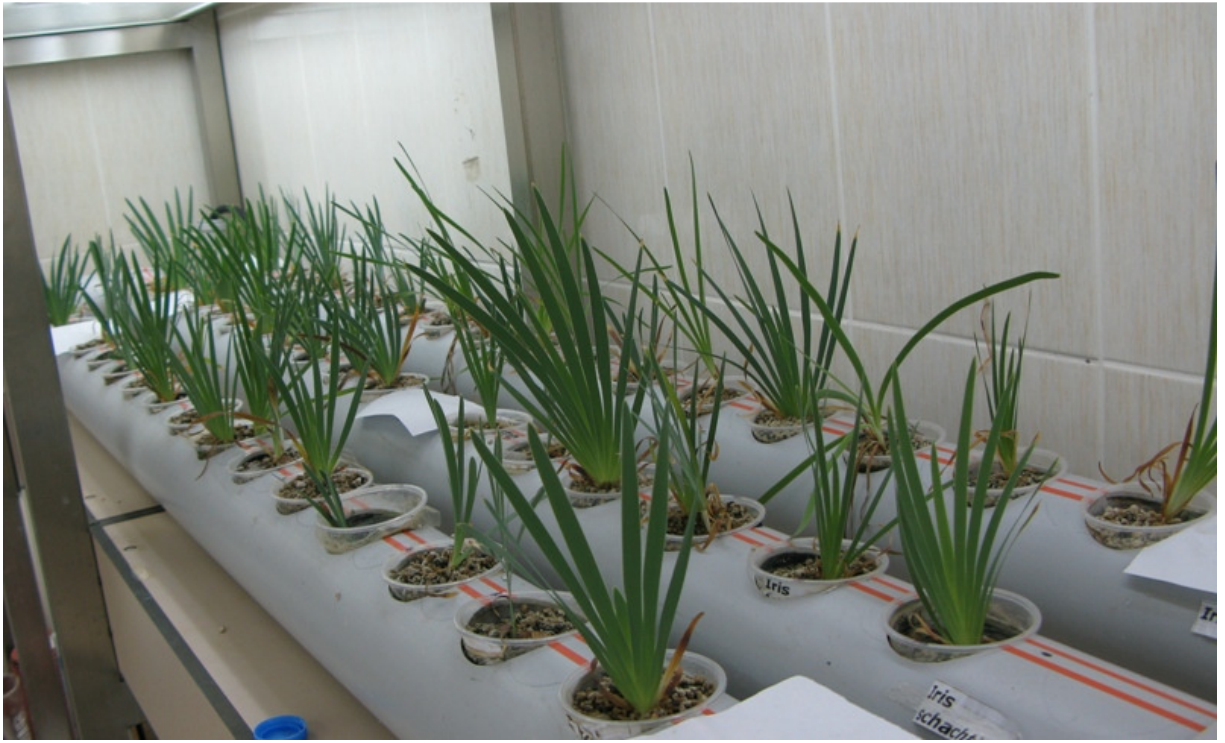
Şekil 4.8 İklimlendirme odasında gelişen *Iris sari* ve *Iris schachtii* bitkileri



Şekil 4.9 Serada gelişen *Iris sari* ve *Iris schachtii* bitkileri



Şekil 4.10 Su kültüründe gelişen *Iris schachtii* ve *Iris sari* bitkileri



Şekil 4.11 Su kültüründe gelişen iris bitkileri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemiz tür zenginliği içerisinde irisler 43 tür içerisinde 13 endemik tür sayısı ile önemli bir yere sahiptir. Geofitlerin çoğunda olduğu gibi iris türlerinde de tohumların çimlenme oranlarının düşük olması, tohumdan çiçek açabilecek bir soğan boyutuna ulaşabilmesi için 4–5 yıla, hatta daha uzun yıllara gerek duymaları ve vejetatif olarak çoğaltım hızlarının düşük olması bu bitkiler için alternatif tekniklerinin geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu amaçla *Iris sari*, *Iris schachtii* ve *Iris galatica* türlerine ait olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı oranlarda BAP, TDZ, KIN ve NAA, içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır.

Daha önceki çalışmalarda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından yüksek oranda bitki rejenerasyonu bezelye (Özcan vd. 1993), korunga (Özcan vd. 1996), macar fiği (Sancak vd. 2000), mısır (Özcan, 2002) gibi bitkilerde elde edilmiştir. Geofitlerde yapılan *in vitro* çalışmalarda *Sternbergia fischeriana*'da eksplant başına 80 adet soğancık gelişimi (Mirici vd. 2005), *Muscari mirum*'da eksplant başına 9 adet soğancık gelişimi (Nasırcılar vd 2011), *Muscari azureum*'da eksplant başına 13 adet soğancık gelişimi (Uranbey 2010b) elde edilmiştir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise, olgunlaşmış embriyolar kullanılarak her üç türde de sürgün gelişimi gerçekleştirilmiştir. Tek bir embriyodan *Iris sari*'de 9.55 adet, *I. schachtii*'de 11.34 adet ve *I. galatica*'da 4.85 adet sürgün elde edilmiştir. Gerek daha önce yapılan çalışmalar gerekse bu proje çalışmasında elde edilen veriler geofitlerin olgunlaşmamış embriyolarının çok sayıda *in vitro* bitkicik üretimi için önemli bir potansiyel olduğunu ortaya koymaktadır.

Adventif sürgün rejenerasyonu çalışmalarında bitki büyüme düzenleyicinin tipi ve konsantrasyonu büyük bir öneme sahiptir. Çalışılan tür, çeşit, hatta eksplant tipine uygun olmayan konsantrasyonlarda ortama ilave edilen büyüme düzenleyicileri organogenesis veya embriyogenesis yoluyla bitki rejenerasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Oksin-sitokinin dengesinin iyi ayarlanması neticesinde yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonu elde edilebileceğini *Iris* türleri kadar fiğ, korunga, *Astragalus* gibi bitkilerde yapılan çalışmalar sonucunda da değişik araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Çöçü vd., 2003.; Özcan vd., 1996; Erişen vd., 2010). Nasırcılar vd. (2011) ve Mirici vd. (2005) *in vitro* bitki rejenerasyonunda genotip, eksplant ve büyüme düzenleyicilerin çok önemli bir yere sahip

olduğunu bildirmektedir. Suzhen vd. (1999) *Iris xiphium* L var *hybridum*'da soğan segmentlerini kullanarak yaptıkları *in vitro* rejenerasyon çalışmasında en iyi rejenerasyon oranını 1mg/l BA ve 0.2 mg/l NAA ile 2 mg/l BA ve 0.2 mg/l NAA içeren MS ortamlarından elde etmişlerdir. Boltenkov ve Zarembo (2005) *Iris sensata*, *Iris setosa* ve *I. sanguinea*'nın çiçek organlarının *in vitro* rejenerasyon kapasitelerini incelemiştir. Eksplantlardan organogenesis veya kallus oluşumunun türlere ve kullanılan hormon içeriğine göre değişim gösterebileceğini bildirmişlerdir. BAP ve NAA ile *I. ensata*'da, 2.4 D ve BAP ile *I. setosa* ve *I. sanguinea*'da direkt organogenesis ile bitki elde ederlerken 2.4 D uygulaması ile kallus oluşumu elde etmişlerdir. *Iris*'lerin çiçek organlarında adventif sürgün elde etmenin gelişme ortamında BAP varlığında olduğunu belirtmişlerdir. Jevremovic ve Radojevic (2002)'de *Iris pumila*'da *in vitro* gelişen bitkilerin yaprak tabanlarından 2.4-D ve Kinetin içeren ortamlarda organogenesis veya embriyogenesis ile bitki rejenerasyonu elde etmişlerdir. Rejenerasyon sürecinde organogenesis veya embriyogenesis ile bitki rejenerasyonunun kullanılan sitokinin tipine bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da eksplant başına en fazla sürgün *I. sari*'de 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, *I. schachtii*'de 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, 0.5 mg/l TDZ, 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA, 4 mg/l BAP, *I. galatica*'da ise 0.5 mg/l TDZ, 0.5 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA, 1 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir.

Her üç türde de elde edilen sürgünler 3-5 cm uzunluğa ulaştığı zaman farklı konsantrasyonlarda IBA ve NAA içeren ortamlarda köklendirilmiş bu çalışma sonucunda köklenme oranı, sürgün başına kök sayısı ve kök uzunluğu değerleri toplu olarak değerlendirildiğinde *Iris sari* ve *Iris schachtii*'de en iyi köklenme 1 mg/l IBA veya 1 mg/l IBA ve 0.2 mg/l NAA içeren ortamdan, *Iris galatica*'da 1 mg/l IBA veya 1 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. *Iris* türlerinde daha önce yapılan çalışmalarda en iyi köklenme *Iris xiphium* L. var. *hybridum*'da 0.2 mg/l BA ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamdan (Suzhen vd., 1999), *Iris lactea*'da ½ MS ve 0.5 mg/l IBA veya 0.5 mg/l IBA ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlardan (Meng vd., 2009), *Iris germanica*'da 0.3 mg/l NAA içeren ortamdan (Zhang vd., 2009), *Iris pumila*'da hormon içermeyen MS ortamından (Jevromovic vd., 2010) elde edilmiştir. Farklı bitki türlerinin en iyi köklendiği büyüme düzenleyici farklı olabilmektedir.

Iris sari ve *Iris schachtii*'de köklenen sürgünler başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılarak büyümeye bırakılmıştır. *Ex vitro*'da canlı bitki oranı *Iris sari*'de torfta %56, akan su

kültüründe %89.5, *Iris schachtii*'de torfta %61, akan su kültüründe %91.89 olarak kaydedilmiştir. Proje başvuru dosyasında da belirttiğimiz gibi *in vitro* bitki üretiminde en büyük sorunlardan birisi de elde edilen bitkiciklerin dış şartlara aktarılma oranının düşük olmasıdır. Nitekim Uranbey (2010a) *Muscari aucheri*'de *ex vitro*'da canlılık oranını %25 olarak belirlerken, Uranbey vd. (2010) *Muscari azureum*'da %14 olarak belirlemişlerdir. *Iris galatica*'da ise elde edilen sürgünlerin kök gelişimi zayıf olduğu için *ex vitro*'da gelişmemiştir.

Sonuç olarak, *Iris sari*, *Iris schachtii* ve *Iris galatica* türlerine ait olgunlaşmamış embriyo eksplantları farklı oranlarda BAP, TDZ, KIN ve NAA içeren besin ortamlarında kültüre alındığı bu projede sürgün oluşumu ve köklendirmede başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu proje kapsamında elde edilen sonuçlar gerek üzerinde çalışılan iris türlerinin gerekse diğer geofitlerin çoğaltılmasında ve kültüre alınmasına önemli katkılar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Al-Gabbiesh A., Hassaei D.S., Afifi, F.U. 2006. *In vitro* propagaion of endangered *Iris* species. Journal of Biological Sciences, 6(6): 1035-1040.
- Ascough G.D., Erwin J.E., Staden J.S. 2009. Micropropagation of iridaceae-a review. Plant Cell Tiss Organ Cult, 97:1-19
- Aslan S.,Karataş A. 2012.[http://www.researchgate.net/publication/230819010_Iris_tuberosa_var.longifolia_\(Iridaceae\)_üzerine_Sistemik_Notlar_ve_Yeni_Bir_Yayl_Alan](http://www.researchgate.net/publication/230819010_Iris_tuberosa_var.longifolia_(Iridaceae)_üzerine_Sistemik_Notlar_ve_Yeni_Bir_Yayl_Alan). Erişim tarihi 10.12.2012.
- Aşur F. 2006. Van ve yakın çevresindeki rizomlu irislerin (*Iris* spp.) peyzaj mimarlığı bitkilendirme çalışmalarında kullanım olanaklarının belirlenmesi, 100. Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Babaoğlu M., Gürel E., Özcan S. 2001. Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü Uygulamaları. Ders Kitabı, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- Baytop T. 1998. İstanbul lalesi. T.C. Kültür Bakanlığı, ISBN: 9751710200. Ankara.
- Boltenkov E.V., Mironova N., Zarembo,- E.V. 2007. Effect of phytohormones on plant regeneration in callus culture of *Iris ensata* Thunb. Biology Bulletin, 34(5): 446-450.
- Boltenkov E.V., Zarembo V. 2005. *In vitro* regeneration and callogenesis in tissue culture of floral organs of the genus *Iris* (*Iridaceae*). Biology Bulletin, 32(2): 174-179.
- Çöçü S., Uranbey S., Sancak C. 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 9 (4): 445-449.
- Erişen S., Yorgancılar M., Atalay E., Babaoğlu M., Duran A. 2010. Callus induction and plant regeneration of the endemic *Astragalus nezaketae* in Turkey. Electronic Journal of Biotechnology, vol. 13, no. 6. <http://dx.doi.org/10.2225/vol13-issue6-fulltext-3>.
- Fidalgo F., Santos A., Oliveira N., Santos I., Salema R. 2005. Induction of somatic embryogenesis in *Iris hollandica* Hort. Cv. “Bronze Queen”. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 80: 135-138
- Grimshaw J. 2002. The Gardener’s Atlas. ISBN: 1-55297-673-4. USA. 224.
- Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer K.H.C. 2000. Flora of Turkey (Supplament II), Vol.11, 656p, Edinburgh.
- <http://hobibahcemiz.net/viewtopic.php?f=114&t=139>, erişim tarihi 10.12.2012.

- Jevremovic S., Radojevic L. 2002. Plant regeneration from suspension cultures of *Iris pumila* L. Proc. XX EUCARPIA symp. On New Ornamental II, Eds. J. Huylensbroeck et al. Acta Hort. 572, ISHS.
- Jevremovic S., Calic D., Subotic A., Trifunovic M., Petric M., Bohanec B. 2010. Ploidy variation and flowering of dwarf *Iris* derived from tissue culture. ISHS Acta Horticulturae 855: XXIII International EUCARPIA Symposium, Section Ornamentals, Colourful Breeding and Genetics-Part II.
- Kalyoncu Doğan D., 2007. Bazı yabani *Tulipa* türlerinde *in vitro* soğancık üretimi, Ankara Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Karamian R., Sharifzadeh A., Ranhbar M. 2011. Evidence of somatic embryogenesis for plantlet regeneration in *Muscari neglectum* Guss. African Journal of Agricultural Research, 6(14), 3247-3251, 2011.
- Kerbaudy G.B. 1993. The effects of sucrose and agar on the formation of protocorm-like bodies in recalcitrant root tip meristems of *Orchidium varicosum* (Orchidaceae). Lindleyana.. 8: 149-154.
- Keresa S., Mihovilovic A., Curkovic-Perica M., Mitic B., Baric M., Vrsek I., Marchetti S., 2009. *In vitro* regeneration of the Croatian endemic species *Iris adriatica* Trinajstić ex Mitic. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 51(2):7-12.
- Koyuncu M., Demirkuş N., Kaya A., Aziret A. 1999. Van Çevresi Geofitleri Üzerine Floristik Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Araştırma Fonu (EF 97030) Nolu Proje, basılmamış). 111-126.
- Laublin G., Saini HS., Coppodocia M., 1991. *In vitro* plant regeneration via somatic embryogenesis from root culture of some rhizomatous irises. Plant Cell Tissue Organ Clt., 27: 15-21.
- Mathew B., Baytop, T. 1984. The bulbous plants of Turkey. London.
- Meng L., Xiao K., Zhao M.L., Zhang G.F. 2009. Technological system of tissue culture and rapid propagation of *Iris lactea* Pall. var. *chinensis* (Fisch.) Koidz. Bulletin of Botanical Research, 29(2): 193-197.
- Mirici S., Parmaksiz I., Ozcan S., Sancak C., Uranbey S., Sarihan E.O., Gümüscü A., Gurbuz B., Arslan N. 2005. Efficient *in vitro* bulblet regeneration from immature embryos of endangered *Sternbergia fischeriana*. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 80, 239–246.

- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiologia Plant*, 15, 473-497.
- Nakano M., Tanak S., Kagami S., Saito H. 2005. Plantlet regeneration from protoplast of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak. *Plant Biotechnology* 22(3): 249-251.
- Nasırcılar A., Mirici S., Karagüzel Ö., Eren Ö., Baktır I. 2010. Micropropagation of endemic *Iris stenophylla* Hausskn & Siehe Ex Baker subsp. *allisoni* B Mathew. 10th International symposium on flower bulbs and herbaceous perennials. April 20-24, Lisse, Netherlands.
- Nasırcılar A., Mirici S., Karagüzel Ö., Eren Ö., Baktır I. 2011. *In vitro* propagation of endemic and endangered *Muscari mirum* from different explant types, *Turk J Bot.*, 35: 37-43.
- Özcan S., Barghchi M., Firek S., Draper J. 1993. Efficient adventitious shoot regeneration and somatic embryogenesis in pea. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.*, 34, 271–277.
- Özcan S., Sevimay C.S., Yıldız M., Sancak C., Özgen M. 1996. Prolific shoot regeneration from immature embryo explants of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). *Plant Cell Rep.*, 16: 200–203.
- Özcan S. 2002. Effect of different genotypes and auxins on efficient somatic embryogenesis from immature zygotic embryo explants of maize. *Biotechnol. Biotech. Eq.*, 16: 51–57.
- Özhatay N. 1997. Türkiye'nin Güzel Kokulu Soğanlı BitkilerI. XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı (Ed. M. Çoşkun) 541–544. Ankara.
- Parmaksız I., Khawar K.M. 2006. Plant regeneration by somatic embryogenesis from immature seeds of *Sternbergia candida* Mathew Et T. Baytop, an endangered endemic plant of Turkey. *Prop Orn Plants*, 6: 128-133.
- Pavord A. 1999. *The Tulip*. ISBN: 0747542961. Bloomsbury Publishing, London. 439.
- Randolph L.F., 1945. Embryo culture of *Iris* seed. *Bull Am Soc.*, 98:33-45.
- Sancak C., Mirici S., Ozcan S. 2000. High frequency shoot regeneration from immature embryo explants of Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Crantz). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 61: 231–235.
- Schacht N. 1955. *Blumenzwiebeln für garten und heim ulmer*, Stuttgart, 171p.
- Shibli R., Ajlouni M.M., 2000. Somatic embryogenesis in the endemic black *Iris*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 61: 15-21.

- Shimizu K., Yabuya T., Adachi T. 1996. Plant regeneration from protoplast of *Iris germanica* L. *Euphytica*, 89:223-227.
- Shimizu K., Nagaike H., Yabuya T., Adachi T., 1997. Plant regeneration from suspension culture of *Iris germanica*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 50: 27-31.
- Snedeco. G.W., Cochran W.G. 1967. *Statistical Methods*. The Iowa State Univ Press, Iowa USA.
- Suzhen H., Mingyun X., Haiying T., Yulin H., Yin G., Li J. 1999. The tissue culture of *Iris xiphium* L. var. *hybridum*. *Journal of plant resources and environment*, 8(3): 48-52.
- Suzuki S., Nakano M., 2001. Organogenesis and somatic embryogenesis from callus cultures in *Muscari armeniacum* LEICHTL. Ex BAK. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 37:382-387.
- Tubives, 2012. <http://turkherb.ibu.edu.tr/index.php?sayfa=dizin&cins=Iris>, erişim tarihi, 18.12.2012.
- Uranbey S., 2010a. Stimulating effects of different basal media and cytokinine types on regeneration of endemic and endangered *Muscari aucheri*. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 62 (3): 663-667.
- Uranbey S. 2010b. *In vitro* bulblet regeneration from immature embryos of *Muscari azureum*. *African Journal of Biotechnology*, 9(32): 5121-5125.
- Uranbey S., İpek M., Çalışkan M., Dündar E., Cocu S., Başalma D., Güneylioğlu H. 2010. *In vitro* bulblet induction from bulb scales of endangered ornamental plant *Muscari azureum*. *Biotechnol & Biotechnol. Eq.*, 24:1843-1848.
- Yabuya T., Ikeda Y., Adachi T. 1991. *In vitro* propagation of Japanese garden iris. *Iris ensata* Thunb. *Euphytica*, 57:77-81
- Wang Y., Jeknic Z., Ernst R.C., Chen, T.H.H. 1999a. Efficient plant regeneration from suspension-cultured cells of tall bearded *Iris*. *HortScience*, 34(4): 730-735.
- Wang Y., Jeknic Z., Ernst R.C., Chen, T.H.H. 1999b. Improved plant regeneration from suspension-cultured cells of *Iris germanica* L. "Skating party". *HortScience*, 34(7): 1271-1999.
- Zhand, Y., Yang J. 2009. Tissue culture and rapid propagation of *Iris germanica* cv Lovely Again. *Journal of Hebei Agricultural Science*, 05.
- Ziv M., Lillien-Kipnis H. 2000. Bud regeneration from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes *in vitro*. *Plant Cell Rep*, 19: 845-850.