

established in  
2016



# MAS JOURNAL of Applied Sciences

ISSN 2757-5675

DOI: <http://dx.doi.org/10.52520/masjaps.152>

Araştırma Makalesi

## Kardelenin (*Galanthus woronowii*) *In Vitro* Rejenerasyonu

Gülsüm ÖZTÜRK<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, İzmir, Türkiye

\*Sorumlu yazar: gulsum.ozturk@ege.edu.tr

**Geliş Tarihi:** 19.05.2021

**Kabul Tarihi:** 18.06.2021

### Özet

Çalışma 2019 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada genetik materyal olarak Türkiye geofitleri içerisinde yer alan Kardelen (*Galanthus woronowii*)'nin soğanları kullanılmış ve *in vitro* rejenerasyon yetenekleri araştırılmıştır. *Galanthus woronowii*'nin soğanları MS (kontrol) ve MS+BAP (6-Benzilaminopurin) (0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0 ve 4.0 mg/l) içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde; en yüksek sürgün sayısı (3.3) ve sürgün uzunluğu (1.3 cm) ile 4.0 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. Gelişen sürgünler MS+0.5 mg/l IBA ve MS+1.0 mg/l IBA içeren ortamlarda alt kültüre alınmıştır. Köklendirme ortamında kök sayısı (6.0) ve kök uzunluğu (4.5 cm) bakımından en yüksek ortalamayı MS+1.0 mg/l IBA içeren ortam vermiştir. Sonuç olarak *Galanthus woronowii in vitro* koşullarda çoğaltımına uygun olup, ticari üretim için değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Galanthus woronowii*, rejenerasyon, köklenme, *in vitro*

### *In Vitro* Regeneration Of Snowdrop (*Galanthus woronowii*)

#### Abstract

The study was conducted in Tissue Culture Laboratory of the Field Crops Department of Agricultural Faculty of the Ege University in 2019. In the study, the bulbs of Snowdrop (*Galanthus woronowii*), is one of the geophytes of Turkey, were used as genetic material and were investigated for *in vitro* regeneration. The effects of different levels of MS+BAP (0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0 and 4.0 mg/l) and MS (control) were cultured *in vitro*. When the results were evaluated; the highest mean for bulb regeneration was obtained MS+4.0 mg/l BAP medium for shoot number (3.3) and shoot length (1.3 cm). Shoots of growing were sub cultured in media containing MS+0.5 mg/l IBA and MS+1.0 mg/l IBA. Medium of MS+1.0 IBA had the highest mean for root number (6.0) and root length (4.5 cm). As a result, *Galanthus woronowii* is to be suitable for *in vitro* production and can be evaluated for commercial production.

**Keywords:** *Galanthus woronowii*, rejenerasyon, köklenme, *in vitro*

## GİRİŞ

Türkiye üç önemli fitocoğrafik bölgenin çakışma noktasında yer almakta ve bunun sonucu olarak da geniş bir bitki zenginliğine sahiptir. Bu bitki guruplarının önemli bir bölümünü geofitler oluşturmaktadır. Geofitler soğan, yumru ve rizomları ile çoğalan çiçekli bitkiler gurubu olarak adlandırılmakta ve Ülkemizde yaklaşık 26 cins ve 540 türden oluşturmaktadır (Guner ve ark., 2000). Geofitler içerisinde yer alan Kardelen (*Galanthus*) Kuzeybatı, Batı, Güney ve İç Anadolu Bölgelerinde yetiştirilmektedir. *Galanthus woronowii* (Karadeniz kardeleni) ise Doğu Karadeniz ve Batı Kafkasya'da yoğunluk gösteren bir türdür. Kardelen soğanları 2.5-3.0 cm çapında, doğal ortamında tohumla ve yeni oluşan soğancıkları ile çoğalan çok yıllık bir türdür. Türler göre değişen beyaz renkli tek bir çiçek oluşumu görülür ve taç yapraklar üçü içte üçü dışta olacak şekilde yer alır (Tıprıdamaz ve ark., 1999). *Galanthus* türleri içerdikleri alkaloidler ile özellikle ilaç sanayide kullanım potansiyeline sahiptir (Ünver ve ark., 1999; Üçüncü ve ark., 2019). *G. woronowii* çoğaltımı doğada toprak altı soğanları ile ve az da olsa tohumları kullanılarak yapılmaktadır. Kardelen (*Galanthus*)'in tohum oluşumundan yeni bir soğan oluşumuna kadar yaklaşık 4-5 yıl geçmektedir. Bu da üretim için oldukça uzun zaman gerektirmektedir. Bunun yanında tohumla üretim varyasyona neden olduğu için ticari üretimde tercih edilmemektedir. Bu nedenle vejetatif olarak soğanla çoğaltım tercih edilmektedir. Ancak vejetatif üretimde çoğaltım hızı yavaş olmaktadır (Arslan ve Sarihan, 2002; Kalyoncu, 2007). Bu durumda klasik üretime alternatif olarak doku kültürü ile çoğaltım bir avantaj olarak önerilmektedir (Hartman, 1997). *In vitro* teknikler ile klasik üretimin

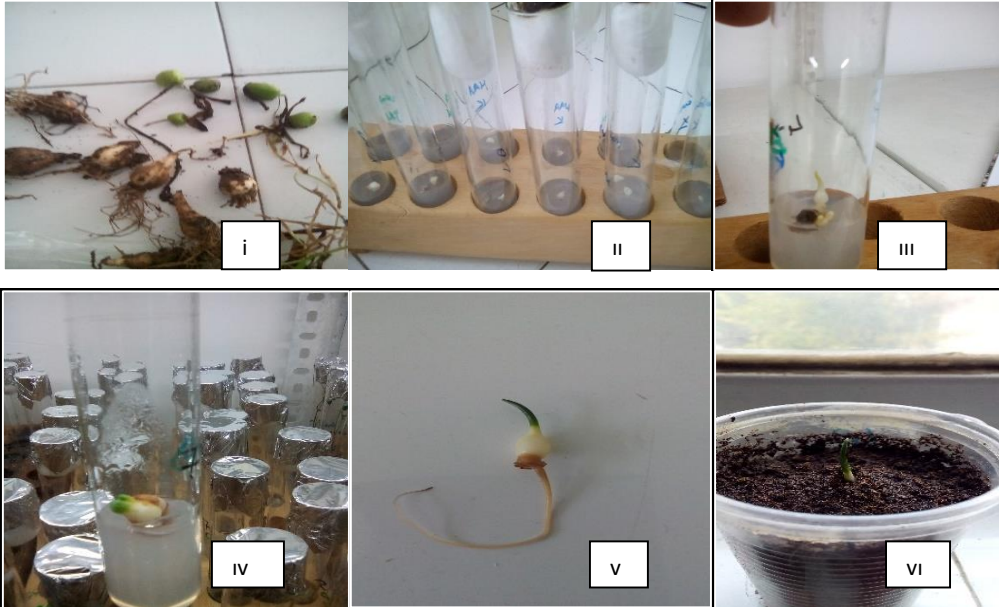
aksine hızlı ve çok sayıda sağlıklı bitkilerin elde edilmesi mümkün olmaktadır (Debergh ve Zimmerman, 1993; Babaoğlu ve ark., 2001; Dilik, 2006; Yıldırım ve ark., 2010). Bu da ticari üretimde büyük avantaj sağlamaktadır. Bu çalışma ile *Galanthus woronowii*'nin soğanlarının *in vitro* koşullarda çoğaltımı için uygun besin ortamlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece Ülkemizin önemli geofitleri arasında yer alan *G. woronowii in vitro* çoğaltım ve ticari üretimdeki potansiyeli belirlenecektir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarında 2019 yılında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada genetik materyal olarak Rize-Fındıklı ilçesinin yüksek köylerinden toplanan doğal Kardelen (*Galanthus woronowii*) soğanları kullanılmıştır. Kardelen soğanları 4 Mart 2019 tarihinde kültüre alınmıştır. Araştırmada besin ortamı olarak Murashige ve Skoog (1962) temel besin ortamı kullanılmıştır. MS (kontrol) besin ortamı ve litreye 100 mg/l Inositol, 0.4 mg/l Thiamin 0.25 mg/l NAA (1-Naphthaleneacetic acid) 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> ve BAP (6-Benzilaminopurin) (0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 3.0 ve 4.0 mg/l) olarak hazırlanmıştır. *G. woronowii* soğanları önce musluk suyunda yıkanarak dış kabuğundan ve köklerinden temizlenmiştir. %96'lık etanolde 5 dakika tutulmuş, sonrasında %2.5'lük sodyum hipoklorit (NaOCl)'te 30-45 dakika bekletilmiş, 4-5 kez saf su ile yıkanmıştır. Yüzey sterilizasyonu sonrası her soğanın bazal kısmını içeren kısımlar, köklerin çıktığı alt kısımları besin ortamına gelecek şekilde kültür tüplerine alınmıştır. Her bir besin ortamı için 3, toplam 21 eksplant kültüre alınmıştır. Eksplantlar gelişimleri için 23±2 °C'de 16 saat beyaz floresan ışık

(30  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) ve 8 saat karanlık fotoperiyotta gelişmeye bırakılmıştır. Yaklaşık 10 hafta sonra sürgün oluşumları gözlemlenmiş ve 12 hafta sonrası gözlemler yapılarak köksüz sürgünler elde edilmiştir. Gözlemleri yapılan sürgünler köklendirme için alt kültüre alınmıştır (Yıldırım, 1995). Burada MS + 0.5 mg/l IBA (İndol-3-butirik asit) ve MS+ 1 mg/l IBA (İndol-3-butirik asit) besin ortamları Tesadüf Parselleri Deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve 18 eksplant alt kültüre alınmıştır. Elde edilen köklü sürgünler aklimizasyon

sonrası toprak: torf karışımında saksılara dikilerek *in vitro* tam bitkiciklerin gelişmesi sağlanmıştır. Sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu basit istatistik yöntemler ile, alt kültür sonucu elde edilen sürgün boy (cm), kök sayısı ve uzunluğuna ait sonuçlar Totemstat (Açıkgöz ve ark., 2004) paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Ortalamalar Steel ve Torrie (1980)'ye göre Asgari Önemli Fark (AÖF) testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. *G. woronowii*'nin *in vitro* kültür aşamaları Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. *G. woronowii*'nin *in vitro* kültürü

- 1) *G. woronowii*'nin soğanları 11) *G. woronowii*'nin kültüre alma 111-1v) Soğancık oluşumu  
v) Köklü *G. woronowii*'nin elde edilmesi v1) *G. woronowii*'nin aklimizasyonu

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Doku Kültürü laboratuvarında gerçekleşen bu çalışmada *Galanthus woronowii*'nin *in vitro* koşullarda sürgün ve kök rejenerasyonları incelenmiştir. Çizelge 1'de *Galanthus woronowii*'nin yedi farklı besin ortamındaki gelişim

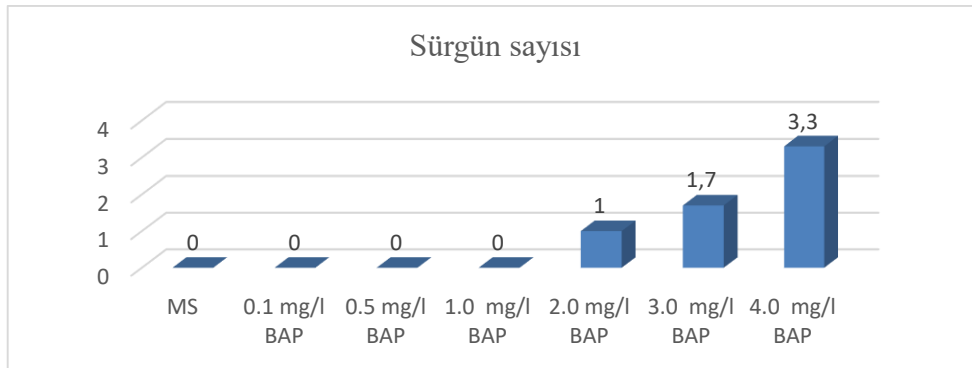
durumları; Şekil 2 ve Şekil 3'de ise sürgün sayısı ve sürgün uzunlukları ortalamalarının dağılımı verilmiştir. Çizelge 2'de gelişen sürgünlerin alt kültürleri ile elde edilen sürgün boyu (cm) kök sayısı ve kök uzunluğu (cm) özelliklerine ait ortalamalar AÖF ve F değerleri verilmiş, ortalamalara ait dağılımlar ise Şekil 4'de sunulmuştur.

**Çizelge 1.** *G. woronowii*'nin farklı konsantrasyondaki hazırlanmış besin ortamlarında gelişme durumları

Ortam Sıra no	Ortamlar	Gelişme durumu
1	MS(Kontrol)	Gelişme yok
2	MS+0.1 mg/l BAP	Gelişme yok
3	MS+0.5 mg/l BAP	Farklılaşma
4	MS+1.0 mg/l BAP	Farklılaşma
5	MS+2.0 mg/l BAP	Soğancık gelişimi
6	MS+3.0 mg/l BAP	Soğancık gelişimi
7	MS+4.0 mg/l BAP	Soğancık gelişimi

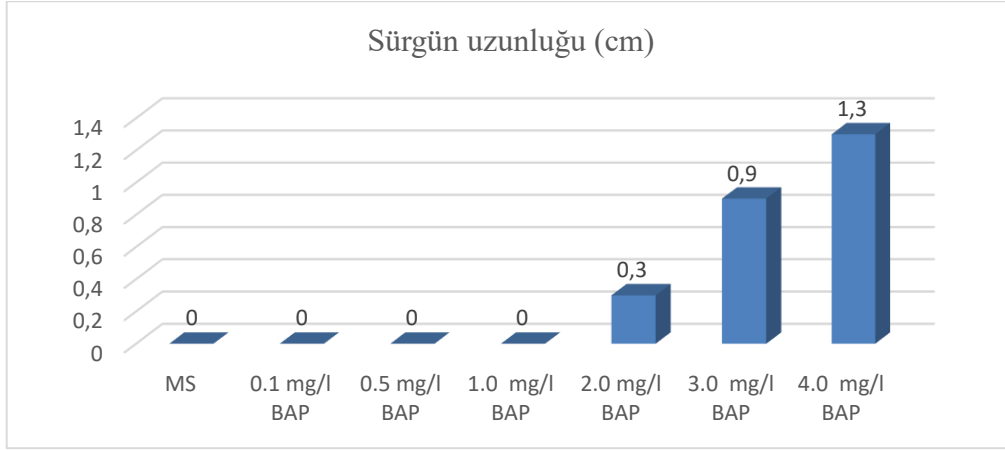
Çizelge 1'de *G. woronowii*'nin *in vitro* rejenerasyonu için 7 farklı besin ortamında kültüre alınan soğan eksplantlarında farklılaşma ve sürgün gelişim durumları verilmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde *G. woronowii*'nin kontrol olarak kullanılan hormon içermeyen besin ortamı ile 0.1 mg/l BAP içeren ortamda gelişme olmamıştır. BAP konsantrasyonu 0.5; 1.0 mg/l içeren ortamlarda farklılaşma gerçekleşmiş fakat sürgün oluşumu sağlanamamıştır. MS+ 2.0; 3.0 ve 4.0 mg/l BAP içeren ortamlarda soğan oluşumu ve sürgün gelişimi sağlanmıştır. Yüzbaşıoğlu ve Dalyan (2017) yaptıkları çalışmada Karadeniz Kardeleninin BAP, NAA, GA<sub>3</sub> ve 2,4 D hormon kombinasyonlarında yaptıkları çalışmada 1 mg/l BAP ve 0.1 mg/l NAA

içeren ortamlarda en yüksek soğancık oluşumu elde edilmiştir. Tıprıdamaz ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada *Galanthus ikariae Baker*'in soğan pul yaprağı ile % 6 şeker içeren 2 mg/l BAP ve 0.2 mg/l KNA besin ortamında en iyi sonuçları elde etmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızla kısmen uyumlu bulunmuştur. Staikidou ve Selby (2012) yaptıkları çalışmada BAP ve NAA konsantrasyonu azaldıkça soğan oluşumunda azalma olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar bu araştırmacı ile uyumlu bulunmuştur. Çizelge 1'e göre 2; 3 ve 4 mg/l BAP içeren ortamlarda elde edilen sürgün sayısı ve sürgün uzunlukları ortalamaları Şekil 2 ve Şekil 3'de verilmiştir.

**Şekil 2.** *G. woronowii*'nin farklı BAP içeren ortamlarda elde edilen sürgün sayısı ortalamalarının dağılımları

Şekil 2’de farklı besin ortamlarında elde edilen sürgün sayısı ortalamaları değerlendirildiğinde litreye 4.0 mg BAP içeren ortamlarda 3.3 ile en yüksek

sürgün sayısı elde edilmiştir. Bunu litreye 2.0 ve 3.0 mg BAP içeren ortamlar sırasıyla 1.0 ve 1.7 adet olarak izlemiştir.



Şekil 3. *G. woronowii*'nin farklı BAP içeren ortamlarda elde edilen sürgün uzunlukları (cm) ortalamalarının dağılımları

Şekil 3 değerlendirildiğinde *G. woronowii*'nin sürgün uzunluklarının litreye 4.0 mg BAP içeren ortamda 1.3 cm olarak en yüksek olduğu

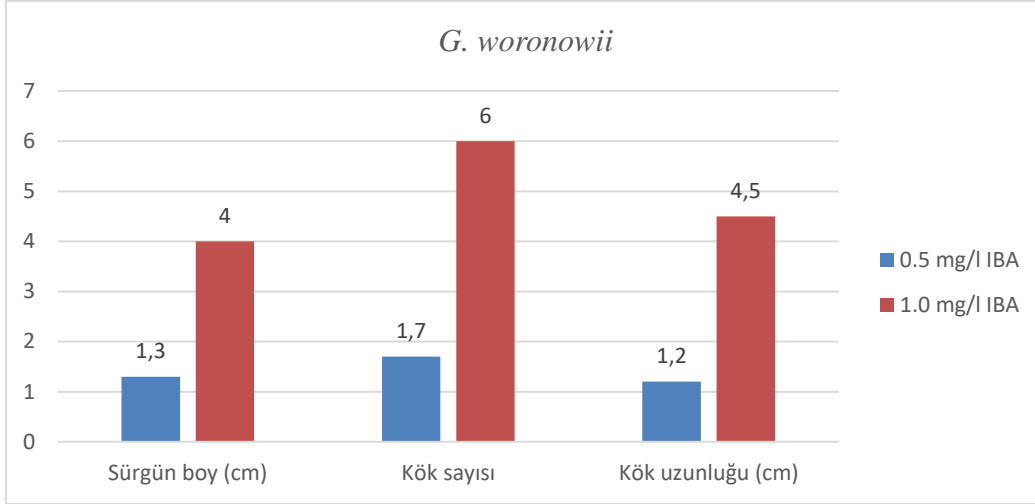
görülmüştür. *G. woronowii*'nin sürgünlerinin köklendirme ortamında elde edilen ortalamaları Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. *G. woronowii in vitro*'da gelişen sürgünlerinin alt kültürleri

Ortamlar	Sürgün boy (cm)	Kök sayısı	Kök uzunluğu (cm)
0.5 mg/l IBA	1.3	1.7	1.2
1.0 mg/l IBA	<b>4.0</b>	<b>6.0</b>	<b>4.5</b>
LSD <sub>(0.05)</sub>	0.925	2.438	1.425
F	64.00**	24.352**	41.354**

Çizelge 2’de *Galanthus woronowii*'nin sürgün boy (cm), kök sayısı ve kök boy (cm) özellikleri bakımından  $p \leq 0.01$  düzeyinde istatistiksel farklılıkların olduğu görülmektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde sürgün boyu (4.0 cm), kök sayısı (6.0) ve kök uzunluğu (4.5 cm) bakımından MS+1.0 mg/l IBA içeren ortam en yüksek ortalamayı vermiştir. Tıprıdamaz (2003) yaptığı çalışmada en yüksek kök oranının 0.5 mg /l NAA içeren ortamda elde etmiştir.

Seabrook (1990) ve Chow ve ark. (1992) oksin içeren ortamların köklenmeyi teşvik ettiğini bildirmiştir. Çalışmamızda kullanılan ve bir oksin olan IBA litreye 1.0 mg/l kullanıldığında sürgün boy (cm), kök sayısı ve kök uzunluğu (cm) bakımından başarılı sonuçlar vermiştir ve köklendirme için bu hormon bundan sonraki çalışmalar için önerilebilir. *G. woronowii*'nin sürgün boy, kök sayısı ve kök uzunluğu (cm) ortalamalarının dağılımı Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. *G. woronowii*'nin sürgün boy (cm), kök sayısı ve kök uzunluğu (cm) dağılımları

## SONUÇ

*Galanthus woronowii*'nin *in vitro* koşullarda sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından 2.0; 3.0 ve 4.0 mg/l BAP içeren ortamlar başarılı sonuçlar vermiştir. Gelişen sürgünler alt kültürlere alınarak 1.0 mg/l IBA içeren ortam kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından başarılı bulunmuştur. Ülkemiz geofitleri içerisinde önemli bir yeri olan *G. woronowii*'nin doku kültürü ile çoğaltıma uygun olduğu görülmektedir. Bu da *G. woronowii*'nin ticari üretiminde daha geniş alanlarda hastaliksız hızlı bir bitki üretimi için iyi bir kaynak oluşturabilir.

## KAYNAKLAR

- Açıkgöz, N., İlker, E., Gökçöl, A. 2004. Biyolojik araştırmaların bilgisayarda değerlendirilmeleri, E.Ü TOTEM Yay. No: 2, İzmir.
- Arslan, N., Sarihan, E.O. 2002. Türkiye'nin *Fritillaria* türleri ve bunlarla ilgili yapılan çalışmalar, II. Süs Bitkileri Kongresi, Antalya.
- Avcı, M. 2005. Çeşitlilik ve Endemizm Açısından Türkiye'nin Bitki Örtüsü. İstanbul Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Coğrafya Dergisi. (13): 27–55.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A. 2001. Doku kültürü: temel

laboratuvar teknikleri, Bitki Biyoteknolojisi I, (çev: Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M.), Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.

- Chow, Y.N., Selby C., Harvey. B.M.R. B.M.R. 1992. Stimulation by Sucrose of Narcissus Bulbil Formation in vitro. J. Hort. Sci.. 67: 289-293.
- Çığ, A, Başdoğan. G. 2015. In vitro propagation techniques for some geophyte ornamental plants with high economic value. International Journal of Secondary Metabolite 2(1): 27-49.
- Debergh, P.C., Zimmerman, R.H. 1993. Micropropagation technology and application. Kluwer Academic Publishers, Natherlands. 484 p.
- Dilik, M. 2006. Şemdinli Lalesi (*Fritillaria imperialis* L.) ve Adıyaman Lalesi (*F. persica* L.)'nin Doku Kültürüyle Çoğaltılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enst.Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Güner, A., Özhatay, N. Ekim, T. Başer, K.H.C. 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 11, Second Supplement, Edinburgh.
- Gürsan, D. 2014. Bazı Zambak (*Lilium* spp.) Türlerinin *In Vitro* Çoğaltımı. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enst.Yüksek Lisans Tezi, Bursa.
- Hartman, H.T. 1997. Kester, D.E., Plant Propagation: Principles and Practices, -Hall, New Jersey.

- Kalyoncu, D.D. 2007. Bazı Yabani Tulipa Türlerinde In Vitro Soğancık Üretimi, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-479.
- Seabrook, J.E.A. 1990. Narcissus (Daffodil). In: *Handbook of Plant Cell Culture* (Eds: P. V. Ammirato, D.A. Evans, W.R. Sharp and P.S. Bajaj) McGraw-Hill. New York, pp. 577-597.
- Staikidou I, Selby, C. 2012. Effects of growth regulators and activated charcoal on in vitro bulblet multiplication and growth in *Galanthus nivalis* "Flore Pleno". *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 87: 527–530.
- Steel, R.G.D., Torrie, J.H. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*, McGraw-Hill Book Company, Inc. N.Y.
- Tipirdamaz, R. Elliathoglu, S. Cakırlar, H. 1999. The Micropropagation of Snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker.): Effects of Different Explant Types, Carbonhydrat Sources and Doses and pH Changes in the Medium on the Bulblet Formation, *Tr. J. of Agriculture and Forestry* 23 (4): 823-830.
- Tipirdamaz, R. 2003. Rooting and Acclimatization of In Vitro Micropropagated Snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker.) Bulblets. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 16(2): 121-126.
- Üçüncü, O. Baltacı, O. Karataş, Ş.M. Muslu, A. Büyükçekiç, D. Ejderha, H. Özdemir E.E. 2019. *Galanthus ikariae* Baker Bitkisinin Toprak Üstü Kısımlarının Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri, *GÜFBED*, 9(4): 674-680.
- Ünver, N., Gözler, T., Walch, N., Gözler, B., Hesse, M. 1999. Two novel dinitrogenous alkaloids from *Galanthus plicatus* subsp. *byzantinus* (Amaryllidaceae). *Phytochemistry*, 50(7): 1255-1261.
- Yıldırım, Z. 1995. Patates fidelerinden mini yumru çoğaltımı, *E.Ü.Z.F. Dergisi*, 32: 91-97.
- Yıldırım, Z, G. Öztürk, M. Esen. 2010. sümbülteber (*Polianthes tuberosa* L.)'in *in vitro* şartlarda çoğaltımı. IV. Süs Bitkileri Kongresi, 22-24 Ekim, Erdemli-Mersin, 98-103p.