

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Afrika Menekşesinde Organogenezis ve *In vitro* Çiçeklenme
Olanaklarının Araştırılması**

Emrah SÜNDÜK

Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Temmuz, 2023

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

**Afrika Menekşesinde Organogenezis ve *In vitro* Çiçeklenme
Olanaklarının Araştırılması**

Emrah SÜNDÜK

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 03/07/2023 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ (Danışman)
: Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Doç. Dr. Pembe EVCI ÇÜRÜK

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2020-13238

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

İÇİNDEKİLER

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
3. MATERYAL VE METOD	7
3.1. Bitkisel materyal	7
3.2. Metod	7
3.2.1. Besiyeri ortamlarının içeriği ve hazırlanması	8
3.2.2. Bitki materyalinin sterilizasyonu ve doku kültürünün başlatılması	10
3.2.3. Altkültürler	12
3.2.4. Kültür odası şartları	12
3.2.5. Organogenezis denemeleri	12
3.2.6. Köklenme denemeleri	13
3.2.7. Çiçeklenme denemeleri	14
3.2.8. Verilerin toplanması ve istatistik analizlerinin yapılması	21
4. BULGULAR	23
4.1. Organogenezis denemelerinde bitki boyuna ait bulgular	23
4.2. Organogenezis denemelerinde yaprak sayısına ait bulgular	27
4.3. Organogenezis denemelerinde kardeşlenme katsayısına ait bulgular	32
4.4. Afrika menekşelerinin köklenme denemelerine ait bulgular	36
4.5. Fotoperiyod denemesine ait Bulgular	37
4.5.1. Fotoperiyod 1. uygulama (16 saat aydınlık – 8 saat karanlık)	38
4.5.2. Fotoperiyod 2. uygulama (12 saat aydınlık – 12 saat karanlık)	39
4.5.3. Fotoperiyod 3. uygulama (8 saat aydınlık – 16 saat karanlık)	39
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	51

Afrika Menekşesinde Organogenezis ve *In vitro* Çiçeklenme Olanaklarının Araştırılması

Emrah SÜNDÜK

Danışman: Prof.Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

ÖZ

In vitro çiçeklenme süs bitkileri biyoteknolojisi açısından oldukça önemlidir. Pazar değeri yüksek bitkilerin doğal koşullarda veya klasik yöntemlerle çiçeklenmesi oldukça yavaştır. Bitki Biyoteknolojisi içerisinde yer alan doku kültürü bu süreci oldukça kısaltır.

Bu tez çalışmasında ticari değeri yüksek olan bazı Afrika menekşelerinin *in vitro* koşullarda çiçeklenmesini amaçlanmaktadır. Daha önceki çalışmalarda çiçeklenme üzerine etkili olduğu düşünülen hormonların, besiyerlerinin ve fotoperiyodun etkileri çalışıldı. Hormon olarak BA, TDZ, NAA ve Kontrol grupları kullanılmıştır. Organogenezis çalışmasında ve *in vitro* çiçeklenme çalışmalarında farklı hormon, MS ortamları ve fotoperiyod kullanılmıştır. Besiyeri olarak, MS Bazal tercih edilmiştir. Organogenezis çalışmalarında MS Bazal **4.4 g/L** kullanılmıştır. *In vitro* çiçeklenme çalışmasında MS Basal (**4.4 g/L**, **2.2 g/L** ve **1.1 g/L**) farklı miktarlarda kullanılmıştır. BBD * Bitki boyu kriterine göre değerlendirilmiş, pembe renge sahip Afrika menekşesinde 4.4 g/L MS bazal + 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren ortamda bitki boyu 2,75 cm ile en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Beyaz renkli Afrika menekşesinde; En yüksek yaprak sayısı, 29,8 adet ile 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. Pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyerinde 12,80 adet ile maksimum sayıda kardeşlenme katsayısına ulaştığı tespit edilmiştir. Beyaz ve Mor çiçek renkli Afrika menekşelerinde 0.50 mg/L IBA içeren besiyerinde en yüksek köklenme yüzdesi %31.03 olarak tespit edilmiştir. Organogenezis denemelerinden üretilen pembe, mor ve beyaz renkli Afrika menekşeleri, *in vitro* şartlarda çiçeklenebilmesi için stres faktörü olarak, üç farklı aydınlanma sürelerine sahip fotoperiyod, üç farklı dozlarda MS bazal ve 6 farklı bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Afrika Menekşesi, Organogenezis, *in vitro* çiçeklenme, Fotoperiyod

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
MASTER'S THESIS

**Investigation of Organogenesis and *In vitro* Flowering
Possibilities In *Saintpaulia* Varieties**

Emrah SÜNDÜK

Supervisor: Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ

Biotechnology Department

ABSTRACT

In vitro flowering is very important in terms of ornamental plant biotechnology. Flowering of plants with high market value under natural conditions or by conventional methods is rather slow. Tissue culture in Plant Biotechnology shortens this process considerably.

In this thesis, it is aimed to bloom *in vitro* conditions of some *Saintpaulia* sp. with high commercial value. The effects of hormones, media and photoperiod, which were thought to be effective on flowering in previous studies, were studied. BA, TDZ, NAA and Control groups were used as hormones. Different hormones, MS media and photoperiod were used in organogenesis and *in vitro* flowering studies. As the medium, MS Basal was preferred. MS Basal 4.4 g/L was used in organogenesis studies. Different amounts of MS Basal (4.4 g/L, 2.2 g/L and 1.1g/L) were used in the *in vitro* flowering study. The highest plant height was observed to be 2.75 cm in the pink flower colored *Saintpaulia* in the medium containing 4.4 g/L MS basal + 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA. The highest number of leaves was obtained in the white flower colored African violet, 29.8 pieces in the medium containing 4.4 g/L MS basal + 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ. The maximum number of tillering coefficient was obtained in 12.80 pieces of pink flower colored African violet in medium containing 4.4 g/L MS basal + 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA. The highest rooting percentage was determined as 31.03% in the medium containing 0.50 mg/L IBA in *Saintpaulia* with white and purple flowers. In order for the pink, purple and white colored *Saintpaulia* produced from organogenesis experiments to bloom *in vitro*, three different photoperiods with illumination durations, three different doses of MS basal and 6 different plant growth regulators were used as stress factors.

Key words : *Saintpaulia* sp., Organogenesis, *In vitro* flowering, Photoperiyod

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez sürecimde gerek bilgi ve tecrübesi gerek manevi anlamda her koşulda yanımda olan danışmanım Prof. Dr. Neslihan Yeşim YALÇIN MENDİ'ye teşekkür ederim. Yüksek lisans tez jüri hocalarım Sayın Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a, Doç. Dr. Pembe EVCI ÇÜRÜK'e tezimde verdikleri destek, emek ve katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmamın en kritik ve en önemli aşamalarında yanımda olan, her türlü bilgi ve deneyimini aktaran Doç. Dr. Dicle DÖNMEZ'e en içten dileklerimle teşekkürü borç bilirim. Tez sürecimin hemen hemen her aşamasında gerek fikirleriyle gerek bilgisiyle yanımda olan Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Doktora Öğrencisi Ziraat Yüksek Mühendisi Senem UĞUR'a teşekkür ederim. Tez çalışmamda önemli katkıları bulunan Çukurova Üniversitesi Biyoloji Bölümü Doktora Öğrencisi Uzman Biyolog Esra Sündüz YİĞİTTEKİN ve Nuriye KILINÇ'a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimime başlamak için beni motive eden ve her koşulda desteğini hissettiğim değerli arkadaşım Uzman Deniz Mikrobiyologu Mertcan ESTİ'ye teşekkür ederim. Tez çalışmamda gerek psikolojik gerek mental anlamda önemli desteğini üzerimde hissettiğim Uzman Biyolog H. İlay USMAN'a teşekkür ederim. Eğitim hayatımda büyük destekçim olan, Adana Şehir Hastanesinde önemli görevleri üstlenen Ebe Dilek TAŞ BAYILDIRAN ve Hemşire Melek SAÇIN'a teşekkür ederim.

Tez sürecimde ekip ruhu ve sevgiyle birlikte çalıştığım Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında çalışan tüm öğrenci arkadaşlarıma teşekkür ederim. Son olarak Tez çalışmamın finans kaynağında en önemli destekçisi olan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje kurumuna en içten dileklerimle teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi her koşulda desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen aileme teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Organogenezis denemesinde hazırlanan besiyerinin içerikleri	9
Çizelge 3.2.	Murashige ve Skoog (1962) ortamında bulunan besin maddeleri ve oranları	9
Çizelge 4.1.	Afrika menekşelerine ait organogenezis denemesinde bitki boyuna (cm) ait veriler	23
Çizelge 4.2.	Afrika menekşelerine ait organogenezis denemesinde yaprak sayısına (adet) ait veriler	28
Çizelge 4.3.	Organogenezis denemesinde kakdeşlenme katsayısına ait veriler	32
Çizelge 4.4.	Afrika menekşelerine ait kök denemesinde köklenme yüzdesine ait veriler	37
Çizelge 4.5.	Fotoperiyod denemesinde kullanılan besiyeri içeriği	38



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Afrika menekşesine(<i>Saintpaulia ionantha Wendl.</i>) ait görüntü	1
Şekil 1.2.	Afrika menekşesinin anavatanına ait görüntü	2
Şekil 3.1.	Afrika menekşesine ait bir görüntü	7
Şekil 3.2.	Hazırlanan besiyerlerinin petriye dökülmesine ait görüntü	8
Şekil 3.3.	Afrika menekşesi sterilizasyon görüntüsü	10
Şekil 3.4.	Hazırlanan besiyerlerinin streçlenmesine ait görüntü	11
Şekil 3.5.	Eksplantların besiyerine aktarımına ait görüntü.....	11
Şekil 3.6.	Kültür odasına ait görüntü.....	12
Şekil 3.7.	Organogenezis çalışmasına ait görüntü.....	13
Şekil 3.8.	<i>In vitro</i> çiçeklenme için kullanılan afrika menekşelerine ait görüntü	14
Şekil 4.1.	Mor çiçek renkli Afrika menekşesinin bitki boyuna ait görüntü	24
Şekil 4.2.	Afrika menekşesi * bitki boyu ortalaması grafiğinin gösterimi	25
Şekil 4.3.	MS bazal * bitki boyu ortalaması grafiğinin gösterimi	26
Şekil 4.4.	BBD * bitki boyu ortalaması grafiğinin gösterimi.....	27
Şekil 4.5.	Afrika menekşesinin yaprak sayısına ait görüntü	29
Şekil 4.6.	Afrika menekşesi * yaprak sayısı ortalaması grafiğinin gösterimi	30
Şekil 4.7.	MS bazal* yaprak sayısı ortalaması grafiğinin gösterimi	31
Şekil 4.8.	BBD * yaprak sayısı ortalaması grafiğinin gösterimi	31
Şekil 4.9.	Afrika menekşesi * kardeşlenme katsayısı ortalaması grafiğinin gösterimi	34
Şekil 4.10.	MS bazal * kardeşlenme katsayısı ortalaması grafiğinin gösterimi	34
Şekil 4.11.	BBD * kardeşlenme katsayısı ortalaması grafiğinin gösterimi	36
Şekil 4.12.	Afrika menekşesi köklenme denemelerine ait görüntü	36
Şekil 4.13.	Fotoperiyod için besiyerine aktarılan Afrika menekşelerine ait görüntü	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

2,4-D	: 2,4-dichlorophenoxyaceticacid
2iP	: 6-(γ, γ –dimethylallylamino)purine
BA	: Benzyl Adenine
GA ₃	: Giberellic acid
g/L	: Gram/Litre
DAPI	: 4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride
μ l	: Mikrolitre
mg/L	: Miligram/Litre
ml	: Mililitre
MS	: Murashige & Skoog
NAA	: Naftalen asetik asit
AgNO ₃	: Gümüş nitrat
HgCl ₂	: Civa Klorür
FeEDTA	: Demir Etilendiaminetetraasetik asit
mm	: Milimetre
%	: Yüzde
B5	: Gambourg besi ortamı
NN	: Nisch and Nisch Besi ortamı
μ M	: Mikromolar
NaOCl	: Sodyum Hipo Klorür
KNO ₃	: Potasyum Nitrat
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin gücü)
LS	: Linsmaier and Skoog Besi yeri
IAA	: İndol Asetik Asit
NH ₄ Cl	: Amonyum Klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
HCl	: Hidroklorik asit
ABA	: Absisic Acid
TDZ	:Thidiazuron
BBD	: Bitki büyüme düzenleyici

1. GİRİŞ

19.yy'ın ilk çeyreğinde Baron Walter Von Saint Paul tarafından keşfedilen Afrika menekşesi (*Saintpaulia ionantha*), iç mekan süs bitkilerinin en önemli bitkilerinden birisi olmuştur. 1960'lı yıllarda ise Herman Holtknap, bitkiyi çoğaltarak ticarileştirmiştir. Ticarileşen bitkiye Afrika menekşesi ismi verilmiştir (Kolehmainen, 2008). Afrika menekşesinin bitki sistematigindeki yeri aşağıdaki verildiği gibidir:

Alem: *Plantae*

Şube: *Magnoliophyta*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Takım: *Zingiberales*

Aile: *Gesneriaceae*

Cins: *Saintpaulia*

Tür: *Saintpaulia ionantha* Wendl



Şekil 1.1. Afrika menekşesine(*Saintpaulia ionantha* Wendl.) ait görüntü

Anavatanı Tanzanya'nın kuzeyi, ve Kenya'nın güney doğusudur. Dağlık bölgelerde sis ormanlarına ait bitkilerdir. Özellikle Tanzanya'nın Usambara dağlarında yaygın olarak yayılım gösterir. Doğada çok farklı habitatlara sahiptir bunlardan birkaçı ise şu şekildedir; kayalarda, duvar dibi gibi dik taşlarda, ağaç gövdelerinde, eğrelti ve yosunların arasındadır. Doğada doğal olarak yetişen 11 türü bulunmaktadır, bu türlerden bazıları; *Saintpaulia ionantha*, *Saintpaulia inconspicua*, *Saintpaulia goetzeana*, *Saintpaulia grotei*, *Saintpaulia magungensis* ve *Saintpaulia pusilla*'dır. Biyoteknolojik yöntemlerle yüzlerce alt türlere ait bitkiler edilmiştir. Çok yıllık, otsu ve bütün yıl gelişim gösteren bitkilerdir. Tropikal iklim, yüksek rakım sis ormanlarında doğal yayılım gösterirler. Doğrudan güneş ışığını almayan ve nemli alanlarda optimum gelişim gösterirler.

Birçok şekilde vejetatif ve generatif çoğaltımı sağlanan bu bitkiler, süs bitkilerinin klonal çoğaltılması açısından oldukça pratiktir. Klasik yöntemlerle çoğaltılan bu bitkiler günümüzde artık biyoteknolojik yöntemlerle oldukça kısa sürede ve ekonomik olarak çoğaltılmaktadır. Bitki

biyoteknolojisinde doku kültürü yöntemleri kullanılarak, *in vitro* rejenerasyon gibi birçok çalışmalar yapılmaktadır.

Afrika menekşesi, *Gesneriaceae* ailesinin 20 türe sahip *Saintpaulia* cinsinin en önemli türüdür. Yaprak şekli, vejetatif yapısı, çiçeklenme zamanı, çiçek rengi ve çiçeklenme zamanı bakımından birçok çeşide sahiptir (Jain, 1997; Paek ve Hahn,1999; Al-Hussein ve ark., 2006; Kolehmainen, 2008; Gürel ve Çakın, 2013).



Şekil 1.2. Afrika menekşesinin anavatanına ait görüntü

***In vitro* çiçeklenme**, yeni çeşitlerin süs bitkileri pazarına *in vitro*'da çiçekli buket olarak ulaştırılabilmesi amacıyla kullanılan alternatif bir doku kültürü yöntemidir. Vejetatif aşamadan generatif aşamaya geçerek oluşan çiçeklenme, bir bitkinin yaşamındaki en kritik olaylardan birisidir. Hem genetik hem de çevresel faktörler tarafından kontrol edilmektedir.

In vitro çiçeklenme, apikal meristematik bölgenin, çiçeğin tüm kısımlarının üretileceği bir çiçek meristemine dönüştürülmesi olayıdır. Apikal meristemin yönünü değiştiren sinyaller arasında, bitkinin olgunluğu, temel besi ortamı içeriği, karbonhidratlar, büyüme düzenleyiciler, kültür ortamının ışığı, pH, sıcaklık, fotoperiyod ve ışık/karanlık rejimi bulunmaktadır.

Çalışmamızın amacı, *in vitro*'da geliştirilmiş olan Afrika menekşesi bitkisinin *in vitro* çiçeklendirilmesi amacıyla farklı gün uzunluklarında (karanlık-aydınlık), farklı büyüme düzenleyici (BA + NAA, BA + TDZ, 2 BA, 1 BA, 0.5 BA ve Kontrol grubu) ve MS temel besi ortamının farklı konsantrasyonları (MS, ½ MS, ¼ MS) denenerek, *in vitro*'da çiçekli Afrika menekşesi bitkisinin sektöre kazandırılması amaçlanmıştır. *In vitro*'da tüpler içerisinde geliştirilmiş olan çiçekli bitkilerin, '*In vitro* çiçek buketi' olarak hem süs bitkileri sektöründe hem de diğer ilgili sektörlerde büyük bir potansiyele sahip olacağı düşünülmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tanimoto ve Harada, (1981), IAA, zeatin, amonyum nitrat ve sükrozun, *in vitro*'da kültüre alınan *Torenia* kök segmentlerinde çiçek tomurcuklarının başlatılması ve gelişmesi üzerindeki etkileri çalışılmıştır

Heylen ve Vendrig, (1988), Çiçek oluşumunu teşvik eden uyarıların uyarılması, translokasyonları ve çiçek morfogenezlerinin burada yer alan kilit adımlar olduğunu, *In vitro* çiçeklenme için önemli faktörlerin karbonhidratlar, büyüme düzenleyicileri, kültür ortamının ışığı ve pH olduğunu belirtmişlerdir

In vitro çiçeklenme, aynı zamanda çiçeklenme fizyolojisinin anlaşılmasını da kolaylaştırmaktadır. Büyük ölçüde ekzo ve endojen fitohormonların, şekerlerin, minerallerin ve fenoliklerin seviyesine ve etkileşimine bağlı bulunmaktadır. **Tissarat ve Galletta, (1995)**, bitkinin, fotoperiyod, genetik faktörler ve çevresel tepkiler bir arada ve uygun koşullarda bulunduğu çiçek açtığını saptamışlardır. Bu koşullar sıklıkla değiştirilebilmekte, bu sayede bitkinin erken üreme aşamasına girmesi için uyarı sağlanabilmektedir

Hew ve Yong, (1997), Orkidelerdeki bazı çalışmalar, BA, karbonhidrat ve azot oranının çiçek tomurcuğunun açmasında etkili olduğunu göstermiştir. Doriella Tiny orkide'sinde, 10 g/L sükroz ve 5 mg/L BAP içeren ortamda çiçek tomurcukları oluşmuştur

Sudhakaran ve ark., (2006), *In vitro* mini çiçek buketi terimi, ilk olarak *in vitro*'da çiçeklenmenin başlatılması ve kontrol edilmesi yeteneği olarak tanımlanmıştır

Taylor ve van Staden, (2006).Çiçeklenme için önemli kriterlerin; pH, karbonhidrat, agaroz, ışık yoğunluğu, eksplantların büyüklüğü, ortam bileşenleri tür ve konsantrasyonu ve bitki büyüme düzenleyicileri olduğunu belirtmişlerdir. Sükrozun çiçek tomurcuk oluşumunda veya ilk gelişiminde gerekli en önemli faktör olduğunu öne sürmüştür. *In vitro* floral morfogenezis aşamalarındaki en uygun sükroz konsantrasyonu, 30 g/L olarak saptanmıştır. MS ortamında, yüksek azot konsantrasyonlarının genellikle çiçeklenmeyi önlediği, orta veya düşük nitrojen seviyesinin uygun olduğu, yarı-güçlü MS mineralinin kullanımının ise önemli olduğu saptanmıştır, *Cymbidium* içinde çiçeklenmede ortamda yüksek fosfor ve düşük azot çiçeklenmeyi teşvik etmiştir. Orkidelerin *in vitro* çiçeklenme çalışmalarının çoğunda, farklı BA, 2-IP, TDZ, PBZ, ABA, KN, GA₃, TIBA (2,3,5- triyodobenzoik asit) veya NAA veya diğer bitki büyüme düzenleyici kombinasyonları ve temel besi ortamı içeriği, *in vitro* çiçeğin başlatılması için kullanılmıştır. BA, *in vitro* çiçeklenme denemelerinin çoğunda kullanılmıştır. *Dendrobium primulinum* da dahil olmak üzere birçok orkide de, TDZ çiçek tomurcuk oluşumu için BA'dan daha etkili bulunmuştur

Vu ve ark., (2006), çiçeklenme teşvik edilecekse, GA₃'ün yüksek konsantrasyonunun, bastırılmış çiçek tomurcuk indüksiyon ve çiçeklenmeyi artırdığını belirtmişlerdir. Birçok ön çalışma, ABA'nın *in vitro* çiçeklenmeyi önlediğini göstermektedir. Gibberellik asit (GA₃) ve sitokininlerin, çiçeğin teşvik edilmesinden sorumlu bitki büyüme düzenleyicileri olduğu

saptanmıştır. *In vitro* çiçeklenmenin, çiçek organı gelişimi ve çiçek yaşlanması gibi üreme sürecinin tüm mekanizmalarını ve çiçeklenmeye özgü yönlerini incelemek için uygun bir araç olduğu düşünülmektedir

Kanchanapoom ve ark., (2009), sitokininlerin, fotoperiyodun ve alt kültür zamanının güller dahil birçok bitki türünde *in vitro* çiçeklenmeyi teşvik ettiğini belirtmişlerdir. 9 haftalık kültürden sonra 2 mg/L BA içeren MS ortamında *in vitro* çiçeklenmeyi gözlemişlerdir. BA'yı, birçok gülde *in vitro* çiçeklenme için yaygın olarak kullanmışlardır. Sitokininlerin uygulanmasının çiçek geçişi ile ilişkili moleküler değişiklikleri teşvik ettiğini, BA ve alt kültür zamanının, *in vitro*'da çiçeklenmenin başlatılmasında etkisi bulunduğunu belirtmişlerdir

Sri Rama Murthy ve ark., (2012), *in vitro* çiçeklenme için önemli faktörler olan fotoperiyot, sıcaklık, ışık yoğunluğu ve GA₃'ün *in vitro* büyüme ve çiçeklenme üzerindeki etkilerini incelemişlerdir.

Said Hassanzade Mobini ve ark., (2014). mercimek ve faba fasulyesi bitkilerinde flurprimidol, indol-3-asetik asit ve zeatin kombinasyonunu kullanarak, faba fasulyesinde %100 *in vitro* çiçeklenme oranı elde ederken, mercimekte ise %90 *in vitro* çiçeklenme yüzdesi elde etmişlerdir.

Sitokininler ve GA₃ çiçek oluşumunu teşvik ederken, oksinler inhibe etmişlerdir (**Semiarti ve ark., 2014**). Etilene maruz bırakılma ve polyaminler de, çiçeklenmeyi teşvik etmektedir (**Jaime A. Teixeira ve ark., 2014**).

Ortam bileşenlerinin, bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonlarının, *in vitro* çiçeklenme ve mikro çoğaltımı önemli ölçüde etkilediği bildirilmiştir (**Kaviani ve ark., 2014**).

Sonali Jana ve Gyan Singh Shekhawat, (2010), *Anethum graveolens* bitkisinin yapraklarını kullanarak *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirmişlerdir. Adenin sülfatın kallus rejenerasyon sıklığını arttırdığını ifade etmişlerdir. *In vitro* çiçeklenme denemelerinde farklı karbonhidratlar (früktoz, glukoz, mannoz ve sorbitol) kullanarak bitkinin çiçeklenmesini sağlamışlardır.

P.T.Pratheesh ve M.Anıl Kumar, (2011), *Rosa indica L.* bitkisinde gümüş nitrat'ın farklı dozlarını kullanarak *in vitro* çiçeklenme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmaları neticesinde litre'de 50mg gümüş nitrat, MS+ 0.5mg/L IAA ve MS+ 1mg/L BA ortamlarında çiçeklenmenin gerçekleştiğini ifade etmişlerdir.

Shuvra Kanta Behera ve ark., (2018), *Oldenlandia umbellata L.* bitkisinde MS ortamına ilave olarak Naftalen asetik asit (0.15-1.0mg/L) ve benzilaminopürin (0.5-1.5mg/L) hormonlarını kullanarak bitkicikler elde etmişlerdir. Söz konusu bitkiciklerin alt kültürlerini % 0.4 hindistan cevizi sütü ilave ederek yapmışlardır. % 92.73 ile % 0.4 hindistan cevizi sütü ilave edilen bitkiler *in vitro*'da çiçeklenmiştir .

Nevzat Sevgin, (2019), Afrika menekşesinde Meta-topulin ve farklı sitokinin türevleri kullanarak, metatopulin'nin farklı sitokinin türevlerine göre; *in vitro* mikro çoğaltımı ve sürgün gelişimi açısından daha etkili olduğunu ifade etmiştir .

Teixeira da Silva ve ark., (2014), yüksek Fosfor (P) ve düşük Azot (N)'un *Dendrobium*'da çiçek oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir. Buna ek olarak, *in vitro*'da çiçeklenme çalışmalarının çoğunda tek bir bitki büyüme düzenleyicisi 6-benziladenin (BA), N6-izopenteniladenin (2-İP), Thidiazuron (TDZ), Paclobutrazol (PBZ veya PP333), Absisik asit (ABA), Kinetin (Kin), Giberellik asit(GA3), 2,3,5-triiodobenzoik asit (TIBA, serbest asit) veya 1-naftalenasetik asit (NAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) ve zeatin (Wen ve ark., 1999) veya diğer kombinasyonlar ve besinler, *in vitro* çiçeklenmeyi teşvik etmek için kullanılmıştır.

Mahipal ve ark., (2016). düşük konsantrasyonlarda Benzilaminopürin (BAP) ve Kinetin kullanımı ile *in vitro* çiçeklenmenin teşvik edildiğini, BAP'ın, Kinetin'den daha etkili olduğunu saptamışlardır. Tam kuvvetli MS ortamında çiçeklenme gelişimi olmamıştır, ancak kültürlerde sürgünlerin sayısı arttırılmıştır. *Lycopersicon esculentum*'da MS ortamında yüksek azot ve karbonhidrat konsantrasyonunda *in vitro* çiçeklenmenin inhibe edildiğini de bildirmişlerdir. Çiçek oluşumunu teşvik eden uyaranların uyarılması, translokasyonları ve çiçek morfogenezleri burada yer alan kilit adımlardır.



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Bitkisel materyal

Afrika Menekşesi gerek bakım kolaylığı, gerekse görünüşü ve özellikleri bakımından birçok kişi tarafından tercih edilen, yetiştirilen popüler bir süs bitkisidir. Farklı renk ve şekillerdeki çiçekleriyle, şirin yapraklarıyla, asla gözden düşmeyen, modası geçmeyen bir salon bitkisidir. Afrika menekşesi çiçeğinin çok tercih edilmesinde yatan asıl özellik çiçek renk çeşitliliğinin fazla olmasıdır. Çiçekleri mavi, mor, beyaz, lacivert, kenar kısımları beyaz, orta kısımları mavi, kırmızı, pembe, beyaz vb. birçok renkte olabilmektedir. Çiçeklerin görünüşü ve yapısı ise katmerli, yalın, kenar kısımları dantel şeklinde veya düz olabilmektedir. Birçok çeşit özelliğinden dolayı çoğu çiçeksever bu bitkiyi tercih etmektedir.(Nebi Çobaner, 2020, Ankara Büyükşehir Belediyesi). Tez çalışmasında birçok avantaja sahip olan, biyoteknolojik yöntemleri kullanarak üretilmesi kolay olan Afrika menekşesi (*Sainthpaulia sp.*) bitkisini tez materyali olarak kullanılmıştır .



Şekil 3.1. Afrika menekşesine ait bir görüntü

3.2. Metod

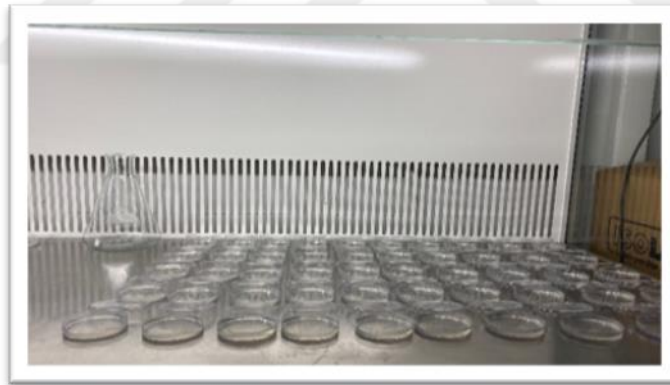
Tez çalışmasında, *in vitro* denemelerinin tamamı ve bitkilerin kültürel bakım işlemleri, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında ve Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü süs bitkileri serasında gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında eksplant kaynağı olarak bitkinin yaprağı kullanılmıştır. Ek olarak yaprak sapı da kullanılmıştır, fakat buradan gelişen hücre yığınları organize olamayıp, bitkiciğe dönüşmemiştir. Tez çalışmasında kullanılan bitki Çukurova Üniversitesi BAP kurumunun finansörlüğünde; Garden Koala firmasından temin edilmiştir. Bu projede gerçekleştirilen tüm çalışmalar, 2019-2023 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Besiyeri ortamlarının içeriği ve hazırlanması

Organogenezis denemesi için hazırlanan besiyeri 6 farklı kombinasyonları içermektedir. Bu kombinasyonları birbirinden ayırt eden besiyeri içeriğindeki hormonlardır. Örnek olarak, BA + NAA içeren besiyerinde;

30 g/L süktroz + 4.4 g/L MS bazal + 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA + 3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel, 0.7 g/L Aktif karbon ve distile su içermektedir. Diğer 4 besiyerinde kullanılan hormonlar değişkendir, diğer ürünler sabittir. Çizelge 1.1.'de ifade edilmiştir.

In vitro ortamda kültüre alınacak eksplantlar için 30g/L süktroz, 4.4 g/L MS bazal, 0.7 g/L aktif karbon, tartılarak steril su içeren erlen'e aktarılmıştır. Söz konusu bu aktarım erlen içerisinde manyetik karıştırıcı ile ISOLAB Manyetik karıştırıcıda her bir kimyasal sırasıyla ilave edilmiştir. Homojenize olan solüsyona son olarak 2 mg/L BA hormonu eklenmiştir, daha sonra 1 mg/L NAA ilave edilmiştir. Homojenize olan solüsyon pH metre cihazında HCl ve NaOH ile bitkilerin optimum gelişim gösterdiği pH 5.7 – 5.8'de sabitlenmiştir. Son olarak 3.5 g/L agaroz ve 1.5 g/L fitajel tartılarak solüsyona eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri, 121 °C, 1.8 atm basınç ile 75 dakika otoklav edilmiştir. Otoklav sonucunda steril edilen her bir besiyerleri soğuduktan sonra petrilere dökülerek, streçlenmiştir. Petrilerin üzerine hazırlanma tarihi ve besiyerlerinin içeriği yazılarak, transfer odasındaki raflara düzenli bir şekilde dizilmiştir.



Şekil 3.2. Hazırlanan besiyerlerinin petriye dökülmesine ait görüntü

Çizelge 3.1. Organogenezis denemesinde hazırlanan besiyerinin içerikleri

BA+NAA	BA+TDZ	2BA	1BA	0.5BA	KONTROL
30 g/L süktroz	30 g/L süktroz	30 g/L süktroz	30 g/L süktroz	30 g/L süktroz	30 g/L süktroz
4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal
2 mg/L BA + 1mg/L NAA	2 mg/L BA + 1mg/L TDZ	2 mg/L BA	1 mg/L BA	0.5 mg/L BA	Hormonsuz
3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitagel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitagel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitagel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitagel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitagel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitagel
Distile su	Distile su	Distile su	Distile su	Distile su	Distile su
0.7 g/L Aktif karbon	0.7 g/L Aktif karbon	0.7 g/L Aktif karbon	0.7 g/L Aktif karbon	0.7 g/L Aktif karbon	0.7 g/L Aktif karbon

Çizelge 3.2. Murashige ve Skoog (1962) ortamında bulunan besin maddeleri ve oranları

	Ortamda bulunan maddeler	Konsantrasyon(mg/L)
Makro Elementler	NH ₄ NO ₃	1650.0
	KNO ₃	1900.0
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440.0
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370.0
	KH ₂ PO ₄	170.0
	KI	0.83
	H ₃ BO ₃	6.20
	MnSO ₄ .7H ₂ O	22.30
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60
Mikro Elementler	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.2H ₂ O	37.25
Vitaminler	Myo-inositol	100.0
	Nikotinik asit	0.50
	Pirotinik asit	0.50
	Tiamin hidroklorür	0.10
	Glisin	2.0

Çizelge 3.2’de MS bazal besiyeri içeriğinde bulunan makro, mikro elementler ve vitaminlerin miktarını ifade etmektedir. Bitkinin büyüme ve gelişmesi için önemli olan bu kimyasallar hazırlanan besiyeri içeriğinde kullanılmıştır. Gözlenen değişim ve gelişimler gözlem formuna not edilmiştir.

3.2.2. Bitki materyalinin sterilizasyonu ve doku kültürünün başlatılması

Afrika menekşesi için ön sterilizasyon denemesi kurulmuştur. Deneme sonucunda %15 domestos’da 20 dk bekletilen bitkilerde en az enfeksiyon oranı gözlemlenmiş ve bu protokol bitki materyallerinin sterilizasyonunda kullanılarak deneme kurulmuştur. Bitkiden bistürü yardımıyla kesilen yapraklar ilk olarak activex sabun ile yıkanmıştır. Yıkanan bitkiler magenta kabın içerisine aktarılmıştır. Üzeri temiz bir bez yardımı ile kapatılarak, 20 dk. musluk suyu altında yıkanmıştır. Steril kabin içerisine alınan Afrika menekşesi yaprakları %70’lik etil alkol içerisinde 1 dk. bekletilmiştir. Daha sonrasında ise distile su ile yıkanarak, %15’lik domestos içerisinde 20 dk. bekletilmiştir. Afrika menekşesi yaprağının üzerinde bulunan domestos temizleninceye kadar steril saf su ile yıkanmıştır.



Şekil 3.3. Afrika menekşesi sterilizasyon görüntüsü

Steril edilen Afrika menekşesi yaprağı eni ve boyu 1cm x 1cm olacak şekilde küçük parçalara ayrılmıştır. Her bir eksplant besiyerlerine aktarılmıştır. Petrilerin etrafı streç film ile kapatıldı. Kültüre alınan eksplantın; kültüre alınma zamanı, besiyerinin içeriği, bitkinin ismi ve petri numarası etikete yazılmıştır, büyüme odasına transfer edilmiştir.



Şekil 3.4. Hazırlanan besiyerlerinin streçlenmesine ait görüntü

Kültüre alınan eksplantlar büyüme odasında 16 saat aydınlık-8 saat karanlık rejimi uygulanmıştır. Büyüme odası sıcaklığı $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'dir. Büyüme odası nem miktarı ise %60-%70 arasındadır.



Şekil 3.5. Eksplantların besiyerine aktarımına ait görüntü

Her hafta kontaminasyon olup-olmadığı gözlenmiştir. Kontamine olan petriler seçilerek büyüme odasından uzaklaştırılmış, gözlem formuna kontamine olan petriler veri analizi için kayıt edilmiştir. Yapılan gözlemler sonrasında her 4 haftada bir değişim ve gelişim gösteren eksplantlar kültüre alındı. Kontaminasyon olan ve ölen eksplantlar ortamdaki uzaklaştırılmıştır.

3.2.3. Altkültürler

Direkt organogenezis ile elde edilen bitkiciklerin kardeşlenmesi ve klonal olarak çoğaltılıp, deneylerde kullanımı açısından oldukça önemli bir aşamadır. Diğer tüm aşamalarda olduğu gibi bu aşamada da olabildiğince hassas davranmak gerekir. Aksi durumda bitkilerin enfeksiyon riski oldukça yüksektir. Hazırlanmış olan besiyerleri; mantar, bakteri, virüs gibi organizmalar içinde uygun bir ortamdır. Tüm bu riskleri analiz ederek, alt kültür işlemlerini olabildiğince hassas gerçekleştirmek gerekir. Tez çalışmasında her 3-4 haftada bir periyodik olarak bitkiler steril kabininde alt kültüre alınmış olup organogenezis, köklenme, fotoperiyod ve MS bazal besiyeri denemeleri için bitkilerin yeterli sayıya gelmesi sağlanmıştır.

3.2.4. Kültür odası şartları

Doku kültürüne alınan bitkiler, kültür odasında inkübe edilmiştir. Bu alana alınan bitkiler, transfer odasından getirilir. Kültüre alınan bitkilerin ortam koşullarından dolayı kontamine olmaması için serin, kuru, düzenli ve temiz bulunmalıdır. Bu odanın sıcaklığı $24\pm2^{\circ}\text{C}$ 'dir. Beyaz floresan lambalar ile 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyodu ile aydınlatılmaktadır. Transfer odasında kültüre alınan Afrika menekşeleri, kültür odasında raflara düzenli olarak yerleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Kültür odasına ait görüntü

3.2.5. Organogenezis denemeleri

Tez çalışmasında Afrika menekşesi hücrelerinin, tüm diğer bitkisel hücrelerde var olan *totipotensi* (hücrenin sınırsız bölünme yeteneği) özelliğini kullanarak, direkt organogenezis denemeleri kurulmuştur. Söz konusu denemelerde organogenezis başarısı yüksek olan bitki büyüme düzenleyici olarak, en yaygın kullanılan sitokinin ve oksin hormonlarını kullanılmıştır. Kültüre alınacak bitkiler için; (2 mg/L) BA + (1 mg/L) NAA, (2 mg/L) BA + (1 mg/L) TDZ, (2 mg/L) 2 BA, (1 mg/L) 1 BA, (0.5 mg/L) 0.5 BA ve kontrol grubu besiyerleri hazırlanarak, otoklav

edilmiştir. Afrika menekşesi sterilizasyon protokolünde en uygun olan sterilizasyon protokolüne göre Afrika menekşesi steril edilmiştir. Sterilizasyon işlemi yapılan Afrika menekşesi, transfer odasında bulunan steril kabininde ortalama 4-5 gün önceden hazırlanan besiyerlerinde yerleştirilmiştir. Her hafta gözlem alınmış, bitki gözlem formuna veriler not edilmiştir. Ortalama 3-4 haftada bir alt kültür yapılmıştır. Tekrar gözlemler alınarak; veriler bitki gözlem formuna not edilmiştir. Üç alt kültürden sonra bitkiye dönüşen eksplantlar, *in vitro* çiçeklenmeye hazır hale getirilmiştir.



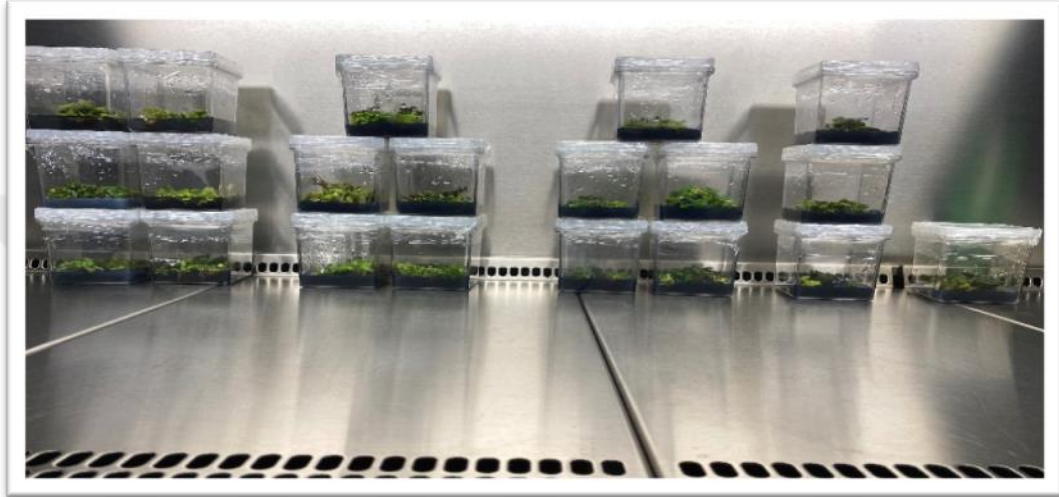
Şekil 3.7. Organogenezis çalışmasına ait görüntü

3.2.6. Köklenme denemeleri

Chandler ve Thorpe, (1986) *In vitro*'da köklenme için en fazla kullanılan hormonlar IBA ve NAA'nın olduğunu ifade etmiştir. Tez çalışmasında köklendirme denemeleri için IBA'nın dört farklı konsantrasyonu çalışılmıştır. Organogenezis çalışmalarından elde edilen Afrika menekşeleri, dört farklı konsantrasyona (0.25 mg/L, 0.50 mg/L, 0.75 mg/L, 1 mg/L) sahip IBA ve kontrol grubu bulunan köklendirilme ortamlarına aktarılmışlardır. Köklendirme çalışmasında kullanılan MS bazal ortam miktarı 4.4 mg/L, agaroz - fitajel miktarları ise 3.5 g/L + 1.5 g/L'dir. Sükroz miktarı ise 30 g/L'dir. Hazırlanan tüm besiyerlerinde sükroz, MS bazal ve agaroz - fitajel miktarı sabittir, tek değişken IBA'nın konsantrasyonudur.

3.2.7. Çiçeklenme denemeleri

Çiçeklenme denemesi için bitkinin stres koşulları altında bulunması gerekmektedir. Stres şartlarına maruz kalan bitkiler ya çiçek açıp, neslinin devamlılığını sağlayacaktır, ya da bitki yaşamını devam ettiremeyecektir. Afrika menekşesi çiçeklenme denemesinde stres faktörü olarak, fotoperiyod, MS bazal miktarının değiştirilmesi, bitki büyüme düzenleyici miktarının değiştirilmesi, hedeflenmiştir. Organogenezis denemelerinden oluşan bitkiler, ortalama 3-4 gün önceden hazırlanmış besiyerlerine transfer odasında, steril kabinde aktarılmıştır.



Şekil 3.8. *In vitro* çiçeklenme için kullanılan Afrika menekşelerine ait görüntü

Fotoperiyod denemeleri

Stres faktörünün en temel olanı bitkinin vejetatif aksanına uygulanan ışık miktarının değiştirilmesidir. Tez çalışmamızda üç farklı fotoperiyod denemesi kurulmuştur. Elde edilen veriler, bitki gözlem formuna not edilmiştir. 16 saat gündüz, 8 saat gece uygulaması, ilk fotoperiyod denemesidir. Bu denemede bitkiye uzun gün bitkilerine ait, ışık süresi uygulanmış, her hafta gözlemler alınarak, bitki gözlem formuna not edilmiş, her 4 haftada bir alt kültüre alınmış, 3.alt kültür işlemine kadar süreç devam etmiştir. İkinci fotoperiyot denemesi ise, 12 saat gündüz, 12 saat gece uygulamasıdır. Bu fotoperiyodta ışık süresi nötr gün bitkilerine ait özelliktir. Her hafta gözlemler alınarak, bitki gözlem formuna not edilmiş, her 4 haftada bir alt kültüre alınmış, 3.alt kültür işlemine kadar süreç devam etmiştir. Son fotoperiyod denemesi ise 8 saat gündüz, 16 saat gece uygulamasıdır. Bu denemede bitkiye kısa gün bitkilerine ait, ışık süresi uygulanmıştır. Her hafta gözlemler alınarak, aynı şekilde bitki gözlem formuna not edilmiş, her 4 haftada bir alt kültüre alınmış, 3.alt kültür işlemine kadar süreç devam etmiştir.

Fotoperiyod denemesi 1. uygulama (16 saat aydınlık, 8 saat karanlık)

Organogenezis denemelerinden elde edilen bitkiler, 3.alt kültürden sonra *in vitro* çiçeklenme için hazır duruma getirilmiştir. Bitkilerin steril kabinde minimum 4 gün önce

hazırlanmış, 6 farklı bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS bazal besiyerlerine aktarımları gerçekleştirilmiştir. Kavanozlara aktarılan bitkiler, kültür odasında raflara dizilmiştir. Her hafta gözlemler alınarak, bitki gözlem formuna not edilmiş, her 4 haftada bir alt kültüre alınmış, 3.alt kültür işlemine kadar süreç devam etmiştir.

Fotoperiyod denemesi 2. uygulama (12 saat aydınlık -12 saat karanlık)

Organogenezis denemelerinden elde edilen bitkicikler 3.alt kültürden sonra *in vitro* çiçeklenme için hazır duruma getirilmiştir. Hazır durumda olan bitkiler steril kabinde minimum 4 gün önce hazırlanmış, MS bazal ve 6 farklı bitki büyüme düzenleyici maddeleri içeren 6 farklı besiyerlerine aktarımı gerçekleştirilmiştir. Kavanozlara aktarılan bitkiler kültür odasında zamanlayıcı ve aydınlatma cihazı ile boş bir kutu içerisine düzenli şekilde dizilmiştir, üzeri ışık almayacak şekilde kutu kapatılmıştır. Bu denemede aydınlatma aracı olarak sadece kutu içerisinde bulunan aydınlatma cihazı kullanılmıştır. Her hafta gözlemler alınmış, bitki gözlem formuna not edilmiştir. Her 4 haftada bir alt kültüre alınmıştır, 3.alt kültür işlemine kadar süreç devam etmiştir.

Fotoperiyod denemesi 3. uygulama (8 saat aydınlık -16 saat karanlık)

Organogenezis denemelerinden elde edilen bitkicikler 3.alt kültürden sonra *in vitro* çiçeklenme için hazır duruma getirilmiştir. Hazır durumda olan bitkiler steril kabinde minimum 4 gün önce hazırlanmış, MS bazal ve 6 farklı bitki büyüme düzenleyici maddeleri içeren, 6 farklı besiyerlerine aktarımı gerçekleştirilmiştir. Kavanozlara aktarılan bitkiler kültür odasında zamanlayıcı ve aydınlatma cihazı ile boş bir kutu içine düzenli şekilde dizilerek üzeri ışık almayacak şekilde kutu kapatılmıştır. Bu denemede de aydınlatma aracı olarak sadece kutu içerisinde bulunan aydınlatma cihazı kullanılmıştır. Her hafta gözlemler alınmış, bitki gözlem formuna not edilmiş, her 4 haftada bir alt kültüre alınmıştır, 3.alt kültür işlemine kadar süreç devam etmiştir.

MS bazal besiyeri denemeleri

Organogenezis denemelerinden elde edilen yeterli sayıdaki Afrika menekşelerini, *in vitro* çiçeklenme denemelerinde kullanabilmek için MS bazal besiyeri hazırlanmıştır. Toplam üç farklı MS bazal besiyeri hazırlanmıştır. $\frac{1}{4}$ MS bazal (1.1 g/L), $\frac{1}{2}$ MS bazal (2.2 g/L) ve tam MS bazal(4.4 g/L)'dır. *In vitro* çiçeklenme denemelerinde kullanılacak besiyerlerindeki besin içeriği, organogeneziste olduğu gibidir, tek farkı MS bazal miktarının farklılık göstermesidir. Hazırlanan besiyerleri Afrika menekşesinden organogenezis ile elde edilen bitkilerin kültüre alınmasını sağlamıştır. Besiyerleri kültür işlemi başlamadan ortalama 3-4 gün önce hazırlanmış, otoklav edilmiştir.

Tam MS bazal denemesi (Tam : 4.4 g/L)

In vitro çiçeklenme için kullanılacak besiyerlerden tam MS bazal(4.4 g/L) hazırlanırken kullanılan kimyasallar şunlardır:

- ❖ 30 g sükroz
- ❖ Tam MS bazal(4.4 g/L)
- ❖ Agaroz + fitajel(3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ Aktif karbon (0.7 g/L)
- ❖ BBD (BA (2 mg/L) + NAA (1 mg/L), BA (2 mg/L) + TDZ (1 mg/L), 2 BA (2 mg/L), 1 BA (1 mg/L), 0.5 BA (0.5 mg/L) ve Kontrol
- ❖ Distile su

Her kimyasal tek tek tartılarak, içerisinde manyetik balık bulunan erlenin içerisine ilave edilmiştir. Söz konusu erlen, karışım homojenize olana kadar ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazın üzerinde bekletilmiştir. Tüm kimyasallar solüsyona eklendikten sonra solüsyon distile su ile son hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan solüsyonun, pH metre cihazında HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7-5.8 arasında olması sağlanmıştır. pH ayarlanan solüsyona en son agaroz + fitajel(3.5 g/L + 1.5 g/L)ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyonun üzeri streçlenmiştir. Otoklav bandı yapıştırıldıktan hemen sonra erlen ve malzemeler otoklav cihazına konulmuştur, otoklav edilmiştir. Otoklav edilen besiyerleri Afrika menekşesi için 6 farklı BBD ve 3 farklı modifiye MS bazal ortamına, steril kabinde 4 gün sonra kültüre alınmıştır.

MS bazal denemesi (½ MS : 2.2 g/L)

In vitro çiçeklenme için kullanılacak besiyerlerden MS bazal (2.2 g/L) hazırlanırken kullanılan kimyasallar şunlardır:

- ❖ 30 g sükroz
- ❖ ½ MS bazal (2.2 g/L)
- ❖ Agaroz + fitajel(3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ Aktif karbon (0.7 g/L)
- ❖ BBD (BA (2 mg/L) + NAA (1 mg/L), BA (2 mg/L) + TDZ (1 mg/L), 2 BA (2 mg/L), 1 BA (1 mg/L), 0.5 BA (0.5 mg/L) ve Kontrol
- ❖ Distile su

Her kimyasal tek tek tartılarak, içerisinde manyetik karıştırıcı bulunan erlenin içerisine ilave edilmiştir. Söz konusu erlen, karışım homojenize olana kadar ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazın üzerinde bekletilmiştir. Tüm kimyasallar solüsyona eklendikten sonra solüsyon distile su ile

son hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan solüsyon, pH metre cihazında HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7-5.8 arasında olması sağlanmıştır. pH ayarlanan solüsyona en son agaroz + fitajel(3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, beherin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyonun üzeri streçlenmiştir. Otoklav bandı yapıştırıldıktan hemen sonra erlen ve malzemeler otoklav cihazına konulmuştur, otoklav edilmiştir. Otoklav edilen besiyerleri, Afrika menekşesi için 6 farklı BBD ve 3 farklı modifiye MS bazal ortamına, steril kabinde 4 gün sonra kültüre alınmıştır.

MS bazal denemesi (¼ MS : 1.1 g/L)

In vitro çiçeklenme için kullanılacak besiyerlerden MS bazal (1.1 g/L) hazırlanırken kullanılan kimyasallar şunlardır:

- ❖ 30 g sükröz
- ❖ ¼ MS Bazal (1.1 g/L)
- ❖ Agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ Aktif karbon (0.7 g/L)
- ❖ BBD (BA (2 mg/L) + NAA (1 mg/L), BA (2 mg/L) + TDZ (1 mg/L), 2 BA (2 mg/L), 1 BA (1 mg/L), 0.5 BA (0.5 mg/L) ve Kontrol
- ❖ Distile su

Her kimyasal tek tek tartılarak, içerisinde manyetik karıştırıcı bulunan erlenin içerisine ilave edilmiştir. Söz konusu erlen, karışım homojenize olana kadar ısıtıcılı manyetik karıştırıcı cihazın üzerinde bekletilmiştir. Tüm kimyasallar solüsyona eklendikten sonra solüsyon distile su ile son hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan solüsyon, pH metre cihazında HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. pH ayarlanan solüsyona en son agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyonun üzeri streçlenmiştir. Otoklav bandı yapıştırıldıktan hemen sonra erlen ve malzemeler otoklav cihazına konulmuştur, otoklav edilmiştir. Otoklav edilen besiyerleri, Afrika menekşesi için 6 farklı BBD ve 4 farklı MS bazal ortamına, steril kabinde 4 gün sonra kültüre alınmıştır.

BBD (hormon) denemeleri

In vitro çiçeklenme denemesi için, en az fotoperiyod ve MS bazal kadar bitki büyüme düzenleyicilerde önemlidir. Besiyerinin zenginleştirilmesi veya modifiye edilmesi organogenezisten büyüüp-gelişen bitkiyi vejetatif ve generatif gelişimi yönünden oldukça etkiler. Literatür taramasından sonra organogenezis ve *in vitro* çiçeklenmede başarılı sonuçlar alabilmek için 6 farklı BBD kullanılmıştır. 6 farklı BBD içeren besiyerleri 3 farklı çiçek renkli Afrika menekşesinden büyüüp-gelişen bitkiciklerin kültüre alınmasını sağlamıştır. Kültüre alınan bitkiler

her hafta gözlem alınarak, bitki gözlem formuna veriler yazılmıştır. Her bir Afrika menekşesi için 3 ay boyunca bu işlemler devam etmiştir.

BA + NAA denemesi

Organogenezisten gelişen bitkiler için, 6 farklı BBD(hormon) içeren besiyeri hazırlanmıştır. İlk olarak, 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyerinde kullanılan kimyasalların isimleri şunlardır:

- ❖ 30 g süktroz
- ❖ Agaro + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ MS bazal (4.4 g/L)
- ❖ 0.7 g/L Aktif karbon
- ❖ Distile su
- ❖ BBD (2 mg/L BA + 1 mg/L NAA)

Kimyasalların her biri manyetik ısıtıcılı cihazın üzerinde, erlenin içersine ilave edilerek homojenize olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona BBD ilave edildikten hemen sonra distile su ile son hacime tamamlanmıştır. HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona son olarak; agaro + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyoların üstüne streç film çekilmiştir, solüsyon ve diğer yardımcı malzemeler otoklav cihazına yerleştirilmiştir. 121°C, 75dk otoklavda steril edilen ürünler 4 gün sonra kullanıma hazır duruma gelmiştir.

BA + TDZ denemesi

Organogenezisten gelişen bitkiler için, 6 farklı BBD(hormon) içeren besiyeri hazırlanmıştır. İlk olarak, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ içeren besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyerinde kullanılan kimyasalların isimleri şunlardır:

- ❖ 30 g süktroz
- ❖ Agaro + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ MS bazal (4.4 g/L)
- ❖ 0.7 g/L Aktif karbon
- ❖ Distile su
- ❖ BBD (2 mg/L BA + 1mg/L TDZ)

Kimyasalların her biri manyetik ısıtıcı cihazın üzerinde, erlenin içerisine ilave edilerek homojenize olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona BBD ilave edildikten hemen sonra distile su ile son hacime tamamlanmıştır. HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona son olarak; agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyoların üstüne streç film çekilmiştir, solüsyon ve diğer yardımcı malzemeler otoklav cihazına yerleştirilmiştir. 121°C, 75dk otoklavda steril edilen ürünler 4 gün sonra kullanıma hazır duruma gelmiştir.

2 BA denemesi

Organogenezisten gelişen bitkiler için, 6 farklı BBD (hormon) içeren besiyeri hazırlanmıştır. İlk olarak, 2 mg/L BA içeren besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyerinde kullanılan kimyasalların isimleri şunlardır:

- ❖ 30 g süktroz
- ❖ Agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ MS bazal (4.4 g/L)
- ❖ 0.7 g/L Aktif karbon
- ❖ Distile su
- ❖ BBD (2 mg/L BA)

Kimyasalların her biri manyetik ısıtıcı cihazın üzerinde, erlenin içerisine ilave edilerek homojenize olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona BBD ilave edildikten hemen sonra distile su ile son hacime tamamlanmıştır. HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona son olarak; agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyoların üstüne streç film çekilmiştir, solüsyon ve diğer yardımcı malzemeler otoklav cihazına yerleştirilmiştir. 121°C, 75dk otoklavda steril edilen ürünler 4 gün sonra kullanıma hazır duruma gelmiştir.

1 BA denemesi

Organogenezisten gelişen bitkiler için, 6 farklı BBD (hormon) içeren besiyeri hazırlanmıştır. İlk olarak, 1 mg/L BA içeren besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyerinde kullanılan kimyasalların isimleri şunlardır:

- ❖ 30 g süktroz
- ❖ Agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ MS bazal (4.4 g/L)
- ❖ 0.7 g/L Aktif karbon

- ❖ Distile su
- ❖ BBD (1 mg / L BA)

Kimyasalların her biri manyetik ısıtıcılı cihazın üzerinde, erlenin içerisine ilave edilerek homojenize olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona BBD ilave edildikten hemen sonra distile su ile son hacime tamamlanmıştır. HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona son olarak; agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyoların üstüne streç film çekilmiştir, solüsyon ve diğer yardımcı malzemeler otoklav cihazına yerleştirilmiştir. 121°C, 75dk otoklavda steril edilen ürünler 4 gün sonra kullanıma hazır duruma gelmiştir.

0.5 BA denemesi

Organogenez'den gelişen bitkiler için, 6 farklı BBD(hormon) içeren besiyeri hazırlanmıştır. İlk olarak, 0.5 mg/L BA içeren besiyeri hazırlanmıştır. Bu besiyerinde kullanılan kimyasalların isimleri şunlardır:

- ❖ 30 g sükroz
- ❖ Agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ MS bazal (4.4 g/L)
- ❖ 0.7 g/L Aktif karbon
- ❖ Distile su
- ❖ BBD (0.5 mg /L BA)

Kimyasalların her biri manyetik ısıtıcılı cihazın üzerinde, erlenin içerisine ilave edilerek homojenize olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona BBD ilave edildikten hemen sonra distile su ile son hacime tamamlanmıştır. HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona son olarak; agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyoların üstüne streç film çekilmiştir, solüsyon ve diğer yardımcı malzemeler otoklav cihazına yerleştirilmiştir. 121°C, 75dk otoklavda steril edilen ürünler 4 gün sonra kullanıma hazır duruma gelmiştir.

Kontrol denemesi

Organogenezisten gelişen bitkiler için, 6 farklı BBD(hormon) içeren besiyeri hazırlanmıştır.Bu besiyerinde kullanılan kimyasalların isimleri şunlardır:

- ❖ 30 g sükröz
- ❖ Agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L)
- ❖ 0.7 g / L Aktif karbon
- ❖ Distile su
- ❖ BBD yok (hormonsuz)

Kimyasalların her biri manyetik ısıtıcı cihazın üzerinde, erlenin içerisine ilave edilerek homojenize olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyon distile su ile son hacime tamamlanmıştır. HCl ve NaOH yardımı ile pH 5.7 - 5.8 arasında olması sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyona son olarak; agaroz + fitajel (3.5 g/L + 1.5 g/L) ilave edilerek, erlenin üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyoların üstüne streç film çekilmiştir, solüsyon ve diğer yardımcı malzemeler otoklav cihazına yerleştirilmiştir. 121°C, 75dk otoklavda steril edilen ürünler 4 gün sonra kullanıma hazır duruma gelmiştir.

3.2.8. Verilerin toplanması ve istatistik analizlerinin yapılması

Organogenezis denemeleri kapsamında Afrika menekşesinden alınacak yaprak eksplantları BA (2 mg/L) + NAA (1 mg/L), BA (2 mg/L) + TDZ (1 mg/L), 2 BA (2 mg/L), 1 BA (1 mg/L), 0.5 BA (0.5 mg/L) ve Kontrol içeren MS bazal ortamında kültüre alınmıştır. Organogenezis denemeleri, 3 farklı çiçek renkli Afrika menekşesi*6 BBD*10 tekkerrür (her tekerrürde 3 yaprak eksplantı) = 180 petri, *in vitro* çiçeklenme denemelerinde ise 3 farklı çiçek renkli Afrika menekşesi*3 farklı ışık*3 farklı modifiye MS bazal ortamı*6 farklı BBD x 10 tekerrür (her tekerrürde 3 bitkicik) = 540 olacak şekilde faktöriyel düzende tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Elde edilecek yüzde değerler hesaplandıktan sonra açılı transformasyonu uygulanacak ve verilerin analizi JMP (versiyon 5.01) paket programı ile yapılmıştır. Ortalamaların önem seviyeleri LSD (P<0.01) testi ile karşılaştırılmıştır.



4. BULGULAR

Tez çalışmasında üç farklı renkte Afrika menekşesi kullanılmıştır. Her bir genotipte , farklı konsantrasyonlara ait BBD ve MS bazal denenmiştir. Yürütülen tez çalışmasında *in vitro* koşullarda organogenezis, çiçeklenme ve köklendirilme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

4.1. Organogenezis denemelerinde bitki boyuna ait bulgular

Organogenezis çalışmasında üç farklı çiçek rengine sahip, Afrika menekşelerinin yapraklarından bistüri ile kesilen eksplantlar 6-8 haftada rejenere edilmiştir, elde edilen bitkiciklerin bitki boyları farklı MS bazal konsantrasyonları içeren besiyerlerinde gözlemlenmiştir. MS bazal konsantrasyonlarının üç farklı çiçek rengine sahip Afrika menekşelerinde, bitki boyuna etkisi incelenmiştir. Gözlem sonucu elde edilen bitki boylarına ait veriler analiz edilmiştir. Analiz sonucu elde edilen veriler çizelge 4.1.'de verilmiştir. Bitki boyu ortalamaların önem seviyeleri LSD ($P<0.0001$) testi ile karşılaştırılmıştır, önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Afrika menekşelerine ait organogenezis denemesinde bitki boyuna (cm) ait veriler

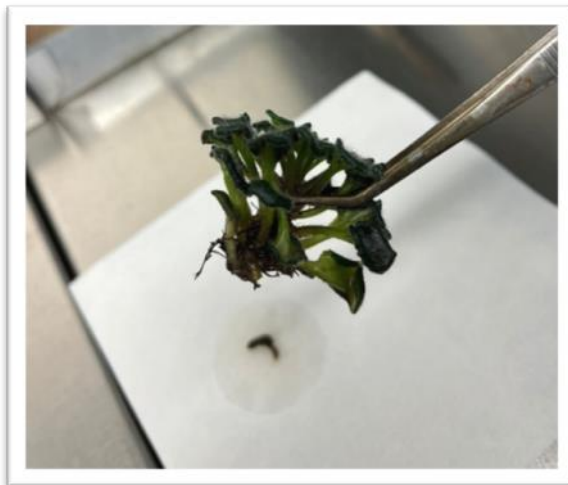
Afrika Menekşesi Çiçek Rengi	BBD	MS Dozları	Bitki Boyu (cm)	BBD Ortalaması	Genotip Ortalaması
Pembe	Kontrol	1.1 mg/L	0,78	0,81gh	1,96 A
		2.2 mg/L	0,54		
		4.4 mg/L	1,12		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	1,06	1,66de	
		2.2 mg/L	0,84		
		4.4 mg/L	3,08		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	1,36	1,93bcd	
		2.2 mg/L	1,84		
		4.4 mg/L	2,58		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	0,50	2,34ab	
		2.2 mg/L	1,88		
		4.4 mg/L	4,64		
2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	0,82	2,26abc		
	2.2 mg/L	2,50			
	4.4 mg/L	3,48			
2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	2,32	2,75a		
	2.2 mg/L	3,02			
	4.4 mg/L	2,92			
Mor	Kontrol	1.1 mg/L	0,24	0,57h	1,04 B
		2.2 mg/L	0,50		
		4.4 mg/L	0,96		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	0,70	0,99gh	
		2.2 mg/L	0,84		
		4.4 mg/L	1,44		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	0,78	1,08fg	
		2.2 mg/L	1,08		
		4.4 mg/L	1,38		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	0,50	0,79gh	
		2.2 mg/L	0,78		
		4.4 mg/L	1,10		

Çizelge 4.1. devamı

Mor	2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	0,82	1,23def	1,76A
		2.2 mg/L	1,10		
		4.4 mg/L	1,76		
	2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	0,80	1,55def	
		2.2 mg/L	1,58		
		4.4 mg/L	2,28		
Beyaz	Kontrol	1.1 mg/L	0,56	0,97gh	
		2.2 mg/L	1,32		
		4.4 mg/L	1,04		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	1,36	1,64de	
		2.2 mg/L	1,70		
		4.4 mg/L	1,86		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	0,80	1,93bcd	
		2.2 mg/L	2,02		
		4.4 mg/L	2,98		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	0,80	1,76cd	
		2.2 mg/L	1,88		
		4.4 mg/L	2,60		
	2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	0,82	2,03bcd	
		2.2 mg/L	2,04		
		4.4 mg/L	3,24		
	2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	1,02	2,23bc	
		2.2 mg/L	2,36		
		4.4 mg/L	3,30		

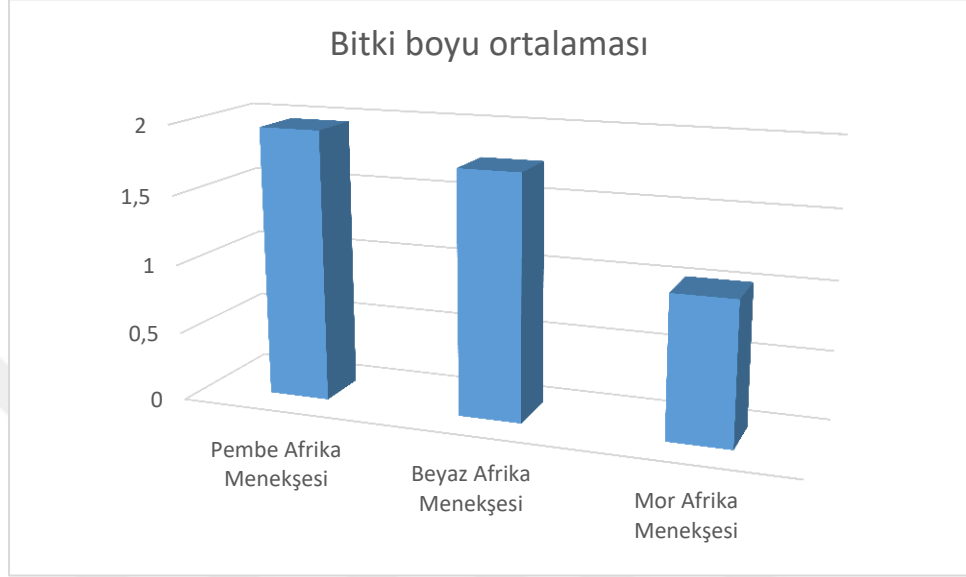
LSD_{genotip}: 0,208LSD_{MS}: 0,208

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri Tam MS (4.4 g/L) içeren besiyerlerinde maksimum gelişim göstermiştir. Besiyerinde bulunan MS miktarının azalmasına bağlı olarak, bitki boylarının daha kısa olduğu gözlenmiştir. En yüksek bitki boy uzunluğu pembe renkli Afrika menekşesinde gözlenmiştir. Diğer iki renge kıyasla, daha kısa bitki boy uzunluğuna sahip bitki, mor renkli Afrika menekşesi olmuştur.



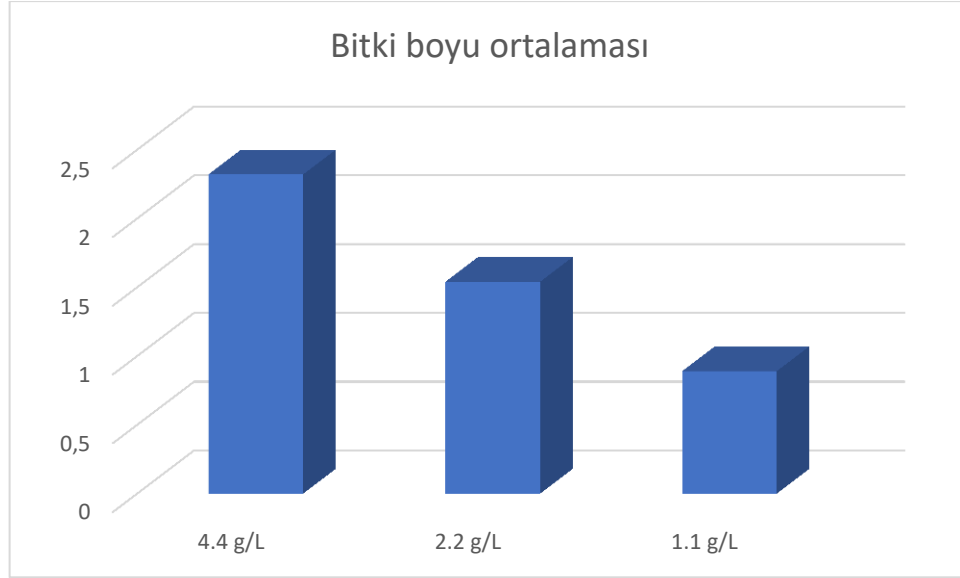
Şekil 4.1. Mor çiçek renkli Afrika menekşesinin bitki boyuna ait görüntü

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri farklı miktarlarda BBD içeren besiyerlerinde gelişimleri incelenmiştir. Kontrol(hormon-BBD yok), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren ortamlar hazırlanmıştır. 6 - 8 hafta boyunca üç farklı çiçek renkli Afrika menekşelerinde bitki boyları cm cinsinden not edilerek, veriler toplanmıştır.



Şekil 4.2. Afrika menekşesi * bitki boyu ortalaması grafiğinin gösterimi

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri organogenezis denemesinde BBD * bitki boyu kriterine göre değerlendirilmiş, pembe renge sahip Afrika menekşesinde 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren ortamda bitki boyu 2,75 cm ile en yüksek olduğu olarak saptanmıştır.. Beyaz ve mor çiçek renkli Afrika menekşelerinde de aynı içeriğe sahip (2 mg/L BA + 1 mg/L NAA) besiyerinde bitki boyu en yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesinde bitki boyu 2,23 cm iken, mor renkli Afrika menekşesinde bitki boyu 1,55 cm olarak saptanmıştır.

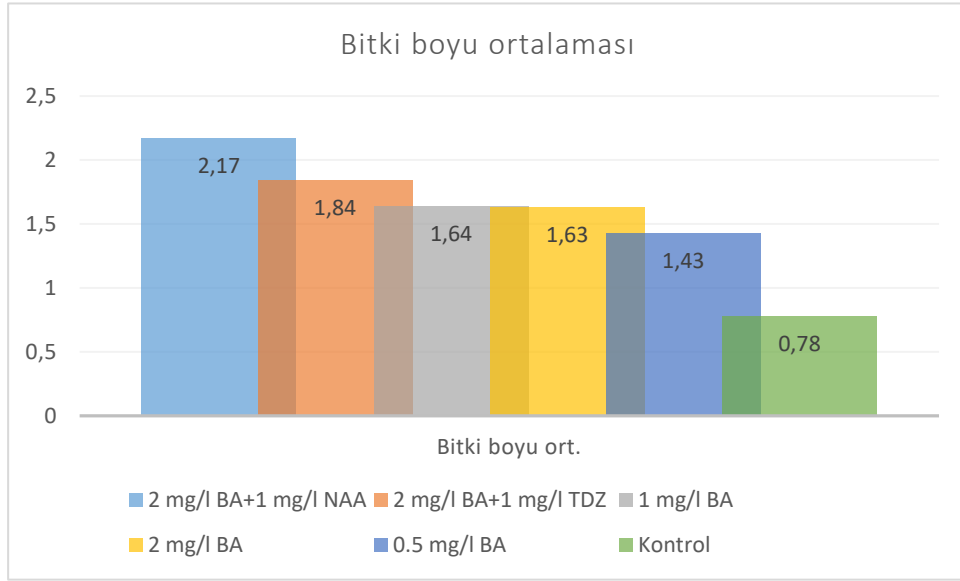


Şekil 4.3. MS bazal * bitki boyu ortalaması grafiğinin gösterimi

Her üç farklı çiçek renkli (beyaz, pembe ve mor) Afrika menekşeleri organogenezis denemesinde BBD * bitki boyu kriterine göre değerlendirildiğinde, en kısa bitki boyu bitki büyüme düzenleyici içermeyen besiyerlerinde gözlemlenmiştir. Bu verilerin ışığında en düşük bitki boy uzunluğu 0,57 cm ile mor çiçek renkli Afrika menekşesinin kontrol grubu besiyerinde gözlemlenmiştir. Pembe çiçek renkli Afrika menekşesinin kontrol grubu besiyerindeki bitkinin boy uzunluğu 0,81 cm iken, Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesinin kontrol grubu besiyerindeki bitki boyu 0,97 cm olarak saptanmıştır.

Pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 6 farklı hormon ve kontrol grubu ile her hormon ve kontrol grubunda üç farklı dozda MS bazal miktarı içeren ortamlarda gelişimi incelenmiştir. 6 - 8 haftalık incelenen gelişim neticesinde; bitki boyu, yaprak sayısı ve kardeşlenme sayısı faktörleri araştırılmıştır. En yüksek bitki boyu uzunluğu, 4,64 cm ile 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. En düşük bitki boyu uzunluğu, 0,78 cm ile 1.1 g/L MS bazal ve kontrol grubu(hormon yok) içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir.

Mor çiçek renkli Afrika menekşesi, 6 farklı hormon ve kontrol grubu ile her hormon ve kontrol grubunda üç farklı dozda MS bazal miktarı içeren ortamlarda gelişimi incelenmiştir. 6 - 8 haftalık incelenen gelişim neticesinde; bitki boyu, yaprak sayısı ve kardeşlenme sayısı faktörleri araştırılmıştır. En yüksek bitki boyu uzunluğu, 2,28 cm ile 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. En düşük bitki boyu uzunluğu, 0,24 cm ile 1.1 g/L MS bazal ve kontrol grubu(hormon yok) içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. BBD * bitki boyu ortalaması grafiğinin gösterimi

Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi, 6 farklı hormon ve kontrol grubu ile her hormon ve kontrol grubunda üç farklı dozda MS bazal miktarı içeren ortamlarda gelişimi incelenmiştir. 6 - 8 haftalık incelenen gelişim neticesinde; bitki boyu, yaprak sayısı ve kardeşlenme sayısı faktörleri araştırılmıştır. En yüksek bitki boyu uzunluğu, 3,30 cm ile 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. En düşük bitki boyu uzunluğu, 0,56 cm ile 1.1 g/L MS bazal ve kontrol grubu (hormon yok) içeren besiyerinde sağlanmıştır.

4.2. Organogenezis denemelerinde yaprak sayısına ait bulgular

Organogenezis çalışmasında üç farklı çiçek rengine sahip, Afrika menekşelerinin yapraklarından 6-8 haftada rejenere edilmiştir, elde edilen bitkiciklerin yaprak sayıları farklı MS konsantrasyonları içeren besiyerlerinde gözlemlenmiştir. MS bazal konsantrasyonlarının üç farklı çiçek rengine sahip Afrika menekşelerinde, yaprak sayısına etkisi incelenmiştir. Gözlem sonucu elde edilen yaprak sayısına ait veriler analiz edilmiştir. Gözlem sonucu elde edilen yaprak sayıları çizelge 4.2.'de verilmiştir. Yaprak sayısı ortalamaların önem seviyeleri LSD ($P < 0.0001$) testi ile karşılaştırılmıştır, önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Afrika menekşelerine ait organogenezis denemesinde yaprak sayısına (adet) ait veriler

Afrika Menekşesi Çiçek Rengi	BBD	MS Dozları	Yaprak sayısı (adet)	BBD Ortalaması	Genotip Ortalaması
Pembe	Kontrol	1.1 mg/L	4,80	4,67g	15,93A
		2.2 mg/L	4,20		
		4.4 mg/L	5,00		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	10,6	16,80c	
		2.2 mg/L	16,6		
		4.4 mg/L	23,2		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	13,8	19,53ab	
		2.2 mg/L	21,0		
		4.4 mg/L	23,8		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	11,2	14,13ef	
		2.2 mg/L	12,2		
		4.4 mg/L	19,0		
	2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	14,2	17,73bc	
		2.2 mg/L	16,4		
		4.4 mg/L	22,6		
	2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	7,40	16,13cde	
		2.2 mg/L	15,8		
		4.4 mg/L	25,2		
Mor	Kontrol	1.1 mg/L	1,0	1,87h	13,46C
		2.2 mg/L	1,6		
		4.4 mg/L	3,0		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	12,6	16,53c	
		2.2 mg/L	16,8		
		4.4 mg/L	20,2		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	13,0	16,47cd	
		2.2 mg/L	15,6		
		4.4 mg/L	20,8		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	11,2	14,40def	
		2.2 mg/L	13,0		
		4.4 mg/L	19,0		
	2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	12,2	17,80bc	
		2.2 mg/L	18,6		
		4.4 mg/L	22,6		
	2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	8,80	13,73f	
		2.2 mg/L	13,0		
		4.4 mg/L	19,4		
Beyaz	Kontrol	1.1 mg/L	4,2	5,27g	15,93A
		2.2 mg/L	5,4		
		4.4 mg/L	6,2		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	15,2	17,47bc	
		2.2 mg/L	19,2		
		4.4 mg/L	18,0		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	15,0	19,13b	
		2.2 mg/L	17,4		
		4.4 mg/L	25,0		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	12,0	16,27cd	
		2.2 mg/L	17,8		
		4.4 mg/L	19,0		
	2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	13,6	21,60a	
		2.2 mg/L	21,4		
		4.4 mg/L	29,8		
	2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	8,8	15,87cde	
		2.2 mg/L	15,0		
		4.4 mg/L	23,8		

LSD_{genotip}: 0,848

LSD_{MS}: 0,848

LSD_{BBD}: 1,200

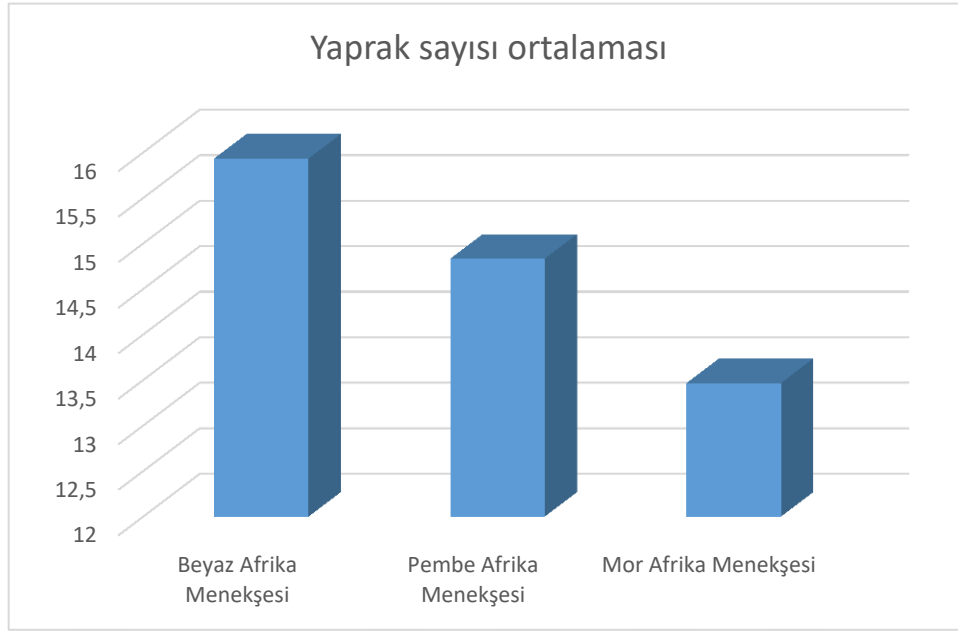
LSD_{MS*BBD}: 2,079

Beyaz, Pembe ve Mor çiçek renkli Afrika menekşeleri Tam (4.4 g/L) MS bazal içeren besiyerlerinde bitkicikler maksimum gelişim göstermiş, en fazla yaprak sayısına ulaşan bitkicikler gözlemlenmiştir. 4.4 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde, Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi'nde 20,30 adet yaprak oluştuğu gözlemlenmiş, bu bitki için en yüksek sayıdır. 1.1 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde ise, 11,46 adet yaprak oluştuğu gözlemlenmiş, bu bitki için en düşük sayıdır. 4.4 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde, Mor çiçek renkli Afrika menekşesi'nde 17,50 adet yaprak oluştuğu gözlemlenmiş, bu bitki için en yüksek sayıdır. 1.1 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde ise, 9,80 adet yaprak oluştuğu gözlemlenmiş, bu bitki için en düşük sayıdır. 4.4 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde, Pembe çiçek renkli Afrika menekşesi'nde 19,80 adet yaprak oluştuğu gözlemlenmiş, bu bitki için en yüksek sayıdır. 1.1 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde ise, 10,33 adet yaprak oluştuğu gözlemlenmiş, bu bitki için en düşük sayıdır. Her üç bitkideki veriler incelendiğinde en yüksek yaprak oluşturan bitki, 4.4 g/L MS bazal içeren besiyerlerinde, 20,30 adet yaprak ile Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi'dir. Bitkideki çiçek renginin yaprak sayısına bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.



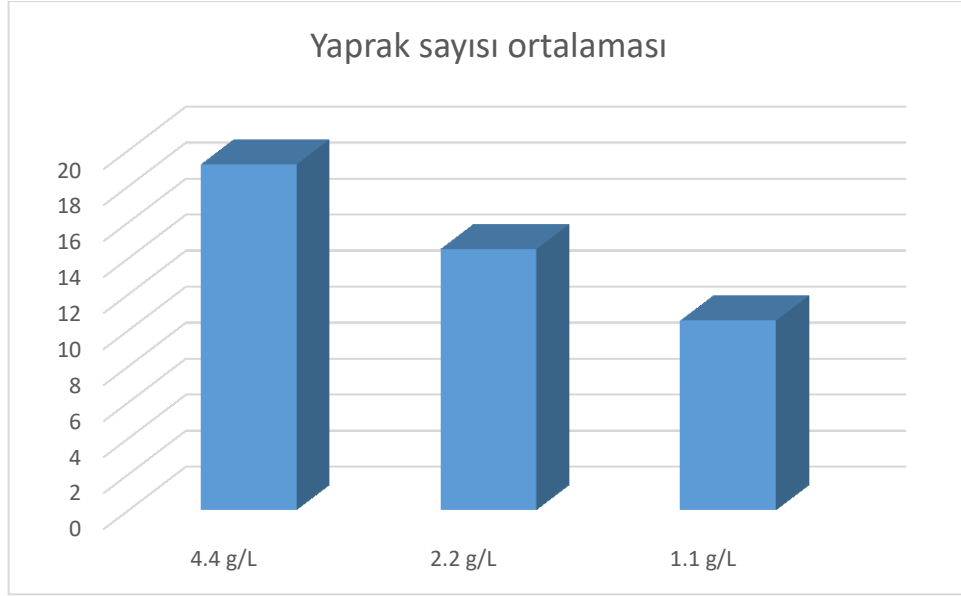
Şekil 4.5. Afrika menekşesinin yaprak sayısına ait görüntü

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri farklı miktarlarda BBD içeren besiyerinde gelişimleri gözlemlenmiştir. Kontrol (hormon-BBD yok), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren ortamlar hazırlanmıştır. 6 - 8 hafta boyunca beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri bitkilerinin yaprak sayısı adet cinsinden veriler not edilmiş, daha sonra analizi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6. Afrika menekşesi * yaprak sayısı ortalaması grafiğinin gösterimi

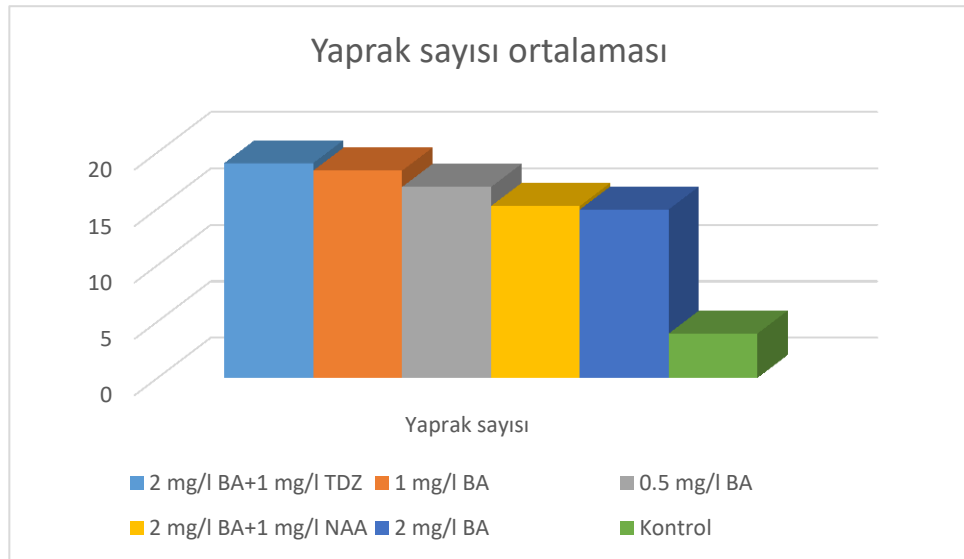
Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesinde; 0,5 mg/L BA, 1 mg/L BA ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ hormonlarını içeren besiyerlerinde bitkinin daha fazla yaprak oluşturduğu gözlemlenmiştir. Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesinde, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ hormonlarını içeren besiyerlerinde bitki 21,60 adet yaprak oluşturduğu gözlemlenmiştir, bu değer bitki için en yüksek değerdir. Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesinde en düşük yaprak sayısına ait değer ise, kontrol grubu içeren besiyerinde 5,27 adet yaprak ile gözlemlenmiştir. Mor çiçek renkli Afrika menekşesinde, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ hormonlarını içeren besiyerlerinde bitki 17,80 adet yaprak oluşturduğu gözlemlenmiştir, bu değer bitki için en yüksek değerdir. Mor çiçek renkli Afrika menekşesinde en düşük yaprak sayısına ait değer ise, kontrol grubu içeren besiyerinde 1,87 adet yaprak ile gözlemlenmiştir. Pembe çiçek renkli Afrika menekşesinde, 1 mg/L BA hormonu içeren besiyerlerinde bitki 19,53 adet yaprak oluşturduğu gözlemlenmiştir, bu değer bitki için en yüksek değerdir. Pembe çiçek renkli Afrika menekşesinde en düşük yaprak sayısına ait değer ise, kontrol grubu içeren besiyerinde 4,67 adet yaprak ile gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7. MS bazal* yaprak sayısı ortalaması grafiğinin gösterimi

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri bitkilerinde 1 mg/L BA ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ hormonlarını içeren besiyerlerinde bitkinin daha fazla yaprak oluşturduğu gözlemlenmiştir. Her üç bitki incelendiğinde, en fazla yaprak sayısı üreten ortam ve bitki; beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ hormonu içeren besiyeridir. Söz konusu ortamda bitki, 21,60 adet yaprak üretmiştir. Her üç bitki incelendiğinde, en az yaprak sayısı üreten ortam ve bitki; mor çiçek renkli Afrika menekşesi ve kontrol(hormon yok) grubunu içeren besiyeridir. Söz konusu ortamda bitki, 1,87 adet yaprak üretmiştir.

Pembe renkli Afrika menekşesinde; en yüksek yaprak sayısı, 25,2 adet ile 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. En düşük yaprak sayısı, 4,20 adet ile 2.2 g/L MS bazal ve kontrol grubu (hormon yok) içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. BBD * yaprak sayısı ortalaması grafiğinin gösterimi

Mor renkli Afrika menekşesinde; en yüksek yaprak sayısı, 22,6 adet ile 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. En düşük yaprak sayısı, 1,00 adet ile 2.2 g/L MS bazal ve kontrol grubu(hormon yok) içeren besiyerinde olduğu saptanmıştır.

Beyaz renkli Afrika menekşesinde; En yüksek yaprak sayısı, 29,8 adet ile 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ içeren besiyerinde ulaştığı tespit edilmiştir. En düşük yaprak sayısı, 4,2 adet ile 2.2 g/L MS bazal ve kontrol grubu (hormon yok) içeren besiyerinde olduğu saptanmıştır.

4.3. Organogenezis denemelerinde kardeşlenme katsayısına ait bulgular

Organogenezis çalışması için üç farklı çiçek rengine sahip Afrika menekşelerinin yapraklarından 6 - 8 haftada rejenere edilmiştir, elde edilen bitkiciklerin kardeşlenme katsayısı farklı MS bazal konsantrasyonları içeren, besiyerlerinde gözlemlenmiştir. Gözlem sonucu elde edilen kardeşlenme katsayısına ait veriler analiz edilmiştir. Analiz sonucu elde edilen veriler çizelge 4.3.'de verilmiştir. Kardeşlenme katsayısı ortalamaların önem seviyeleri LSD ($P < 0.0001$) testi ile karşılaştırılmıştır, önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Organogenezis denemesinde kardeşlenme katsayısına ait veriler

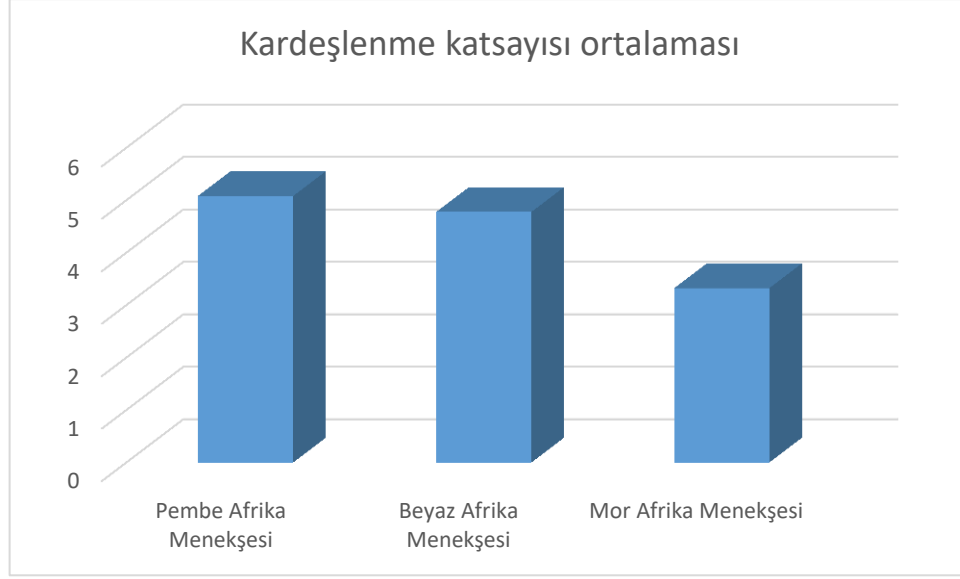
Afrika Menekşesi Çiçek Rengi	BBD	MS Dozları	Kardeşlenme Katsayısı	BBD Ortalaması	Genotip Ortalaması
Pembe	Kontrol	1.1 mg/L	0,64	4,67g	5,08A
		2.2 mg/L	1,10		
		4.4 mg/L	1,50		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	3,00	16,80c	
		2.2 mg/L	5,80		
		4.4 mg/L	6,80		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	3,00	19,53ab	
		2.2 mg/L	4,60		
		4.4 mg/L	6,20		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	2,80	14,13ef	
		2.2 mg/L	4,40		
		4.4 mg/L	4,40		
	2 mg/L BA+1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	4,60	17,73bc	
		2.2 mg/L	7,00		
		4.4 mg/L	11,4		
	2 mg/L BA+1 mg/L NAA	1.1 mg/L	3,00	16,13cde	
		2.2 mg/L	8,40		
		4.4 mg/L	12,80		

Çizelge 4.3. devamı

Mor	Kontrol	1.1 mg/L	0,1	1,87h	3,32B
		2.2 mg/L	0,32		
		4.4 mg/L	0,6		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	1,0	16,53c	
		2.2 mg/L	2,8		
		4.4 mg/L	2,4		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	1,8	16,47cd	
		2.2 mg/L	2,8		
		4.4 mg/L	4,0		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	1,8	14,40def	
		2.2 mg/L	2,2		
		4.4 mg/L	4,4		
2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	2,2	17,80bc		
	2.2 mg/L	6,4			
	4.4 mg/L	7,8			
2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	2,2	13,73f		
	2.2 mg/L	6,6			
	4.4 mg/L	10,4			
Beyaz	Kontrol	1.1 mg/L	1,14	5,27g	4,77A
		2.2 mg/L	0,74		
		4.4 mg/L	1,30		
	0.5 mg/L BA	1.1 mg/L	2,60	17,47bc	
		2.2 mg/L	2,80		
		4.4 mg/L	4,0		
	1 mg/L BA	1.1 mg/L	3,0	19,13b	
		2.2 mg/L	4,40		
		4.4 mg/L	6,60		
	2 mg/L BA	1.1 mg/L	3,80	16,27cd	
		2.2 mg/L	6,80		
		4.4 mg/L	4,40		
	2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ	1.1 mg/L	4,80	21,60a	
		2.2 mg/L	8,60		
		4.4 mg/L	10,2		
2 mg/L BA + 1 mg/L NAA	1.1 mg/L	3,80	15,87cde		
	2.2 mg/L	7,40			
	4.4 mg/L	9,60			

LSD_{genotip}: 0,457LSD_{MS}: 0,457LSD_{BBD}: 0,647LSD_{MS*BBD}: 1,120

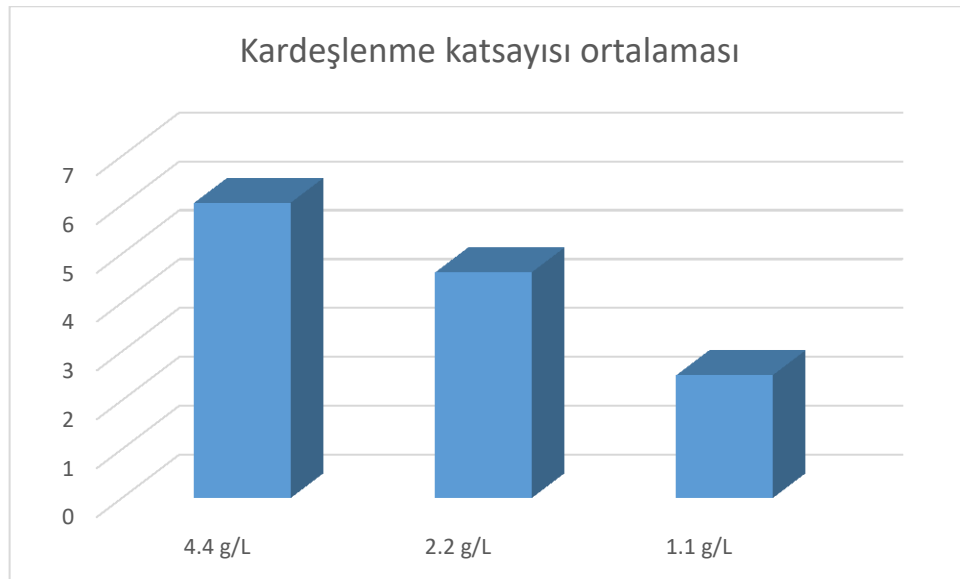
Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri tam MS bazal (4.4 mg/L) içeren besiyerlerinde maksimum gelişim göstermiştir. Besiyerlerinde bulunan MS bazal miktarının azalmasına bağlı olarak, kardeşlenme katsayısı azaldığı gözlenmiştir. Üç farklı çiçek renkli Afrika menekşelerindeki yaprak sayısı verileri ile benzerdir. Bitkideki rengin kardeşlenme katsayısına bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.9. Afrika menekşesi * kardeşlenme katsayısı ortalaması grafiğinin gösterimi

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri için, kontrol (BBD yok), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren ortamlar hazırlanmıştır. 6 farklı BBD içeren besiyerinde beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşelerinin gelişimleri 6-8 hafta boyunca incelenmiş, gelişim sonucunda elde edilen veriler not edilmiştir. Veriler daha sonra analiz edilmiş ve analiz sonucunda Çizelge 4.3. oluşturulmuştur.

Pembe çiçek renkli Afrika menekşesinde, 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA hormonu içeren besiyerinde 8,07 adet kardeşlenme katsayısına ulaştığı gözlemlenmiştir. Pembe çiçek renkli Afrika menekşesinde, en az kardeşlenme sayısı ise, kontrol grubu (BBD içermeyen) besiyerinde gözlemlenmiştir. 1,08 kardeşlenme katsayısı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.10. MS bazal * kardeşlenme katsayısı ortalaması grafiğinin gösterimi

Mor çiçek renkli Afrika menekşesinde, 2 mg/L BA+1 mg/L NAA hormonu içeren besiyerinde 6,40 adet kardeşlenme katsayısı saptanmıştır. Mor çiçek renkli Afrika menekşesinde, en az kardeşlenme sayısı ise, kontrol grubunu(hormon içermeyen) içeren besiyerinde saptanmıştır. 0,34 kardeşlenme katsayısı saptanmıştır.

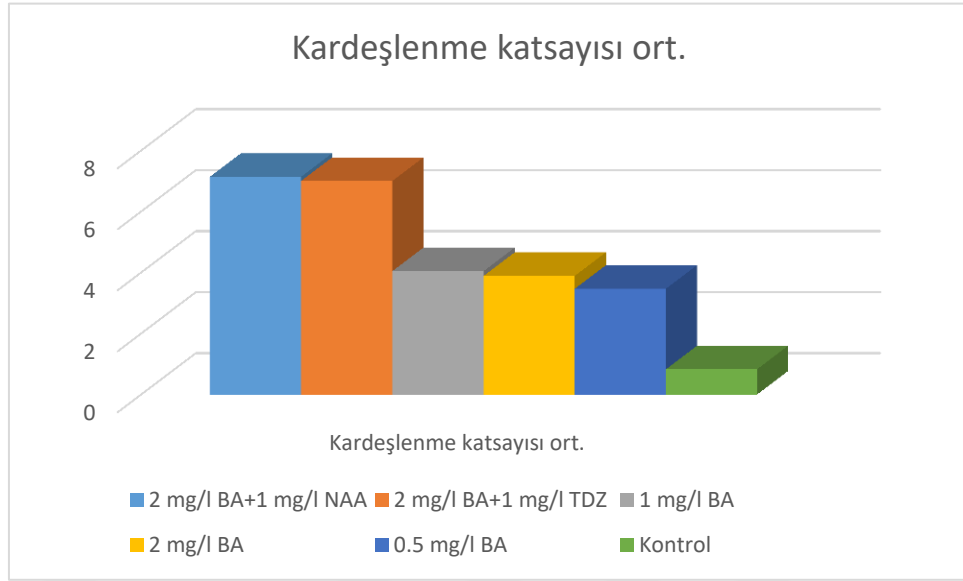
Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesinde, 2 mg/L BA+1 mg/L TDZ hormonu içeren besiyerinde 7,87 adet kardeşlenme katsayısı saptanmıştır. Mor çiçek renkli Afrika menekşesinde, en az kardeşlenme sayısı ise, kontrol grubunu(hormon içermeyen) içeren besiyerinde saptanmıştır. 1,06 kardeşlenme katsayısı saptanmıştır.

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri bitkilerinde BBD * kardeşlenme katsayısı kriterlerine göre en yüksek kardeşlenme sayısı, 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA hormonu içeren besiyerinde, 8,07 adet kardeşlenme katsayısı ile pembe çiçek renkli Afrika menekşesinde saptanmıştır. Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri bitkilerinde BBD * kardeşlenme katsayısı kriterlerine göre en düşük kardeşlenme sayısı, kontrol grubu (BBD içermeyen) besiyerinde, 0,34 adet kardeşlenme katsayısı ile mor çiçek renkli Afrika menekşesinde saptanmıştır.

Pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyerinde 12,80 adet ile maksimum sayıda kardeşlenme katsayısı saptanmıştır.En düşük kardeşlenme sayısı ise 0,64 adet ile 1.1 g/L MS bazal ve kontrol grubu (BBD içermeyen) besiyerinde saptanmıştır.

Mor çiçek renkli Afrika menekşesi, 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA içeren besiyerinde 10,4 adet ile maksimum sayıda kardeşlenme katsayısı saptanmıştır.En düşük Kardeşlenme sayısı ise 0,1 adet ile 1.1 g/L MS bazal ve kontrol grubu (BBD içermeyen) besiyerinde saptanmıştır.

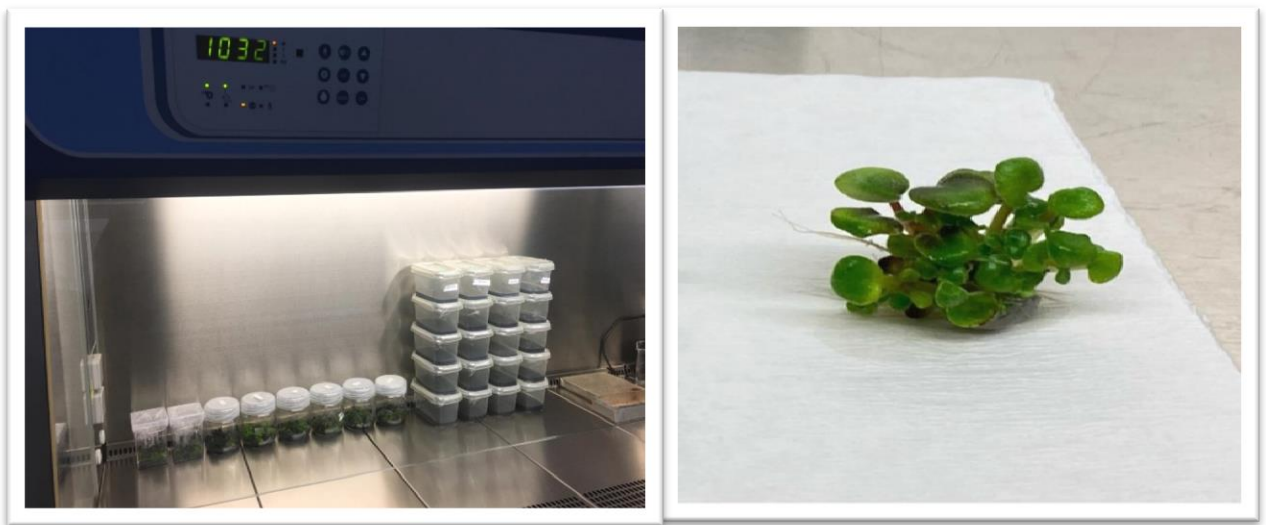
Beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi, 4.4 g/L MS bazal ve 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ içeren besiyerinde 10,2 adet ile maksimum sayıda kardeşlenme katsayısı saptanmıştır.En düşük Kardeşlenme sayısı ise 0,74 adet ile 2.2 g/L MS bazal ve kontrol grubu (BBD içermeyen) besiyerinde saptanmıştır.



Şekil 4.11. BBD * kardeşlenme katsayısı ortalaması grafiğinin gösterimi

4.4. Afrika menekşelerinin köklenme denemelerine ait bulgular

Organogenezis çalışmalarından elde edilmiş Afrika menekşelerinde, kontrol ve dört farklı konsantrasyona (0.25 mg/L, 0.50 mg/L, 0.75 mg/L, 1 mg/L) sahip IBA içeren köklendirme denemeleri kurulmuştur. Köklendirilme çalışmasında MS bazal, agaroz + fitajel ve süktroz miktarları hepsinde sabit tutulmuş, tek değişken IBA konsantrasyonları olmuştur. Aşağıda verilen Çizelge 4.4’de Afrika menekşesi bitkiciklerinden elde edilen köklendirme sonuçları mevcuttur. Köklenme yüzdesinin ortalamaların önem seviyeleri LSD ($P < 0.0001$) testi ile karşılaştırılmıştır, önemli bulunmuştur.



Şekil 4.12. Afrika menekşesi köklenme denemelerine ait görüntü

Çizelge 4.4. Afrika menekşelerine ait kök denemesinde köklenme yüzdesine ait veriler

Afrika Menekşesi Çiçek Rengi	BBD	MS Dozları	Köklenme Yüzdesi
Pembe	Kontrol	4.4 g/L MS bazal	10.87 C
	0.25 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	21.74 B
	0.50 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	29.83 A
	0.75 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	9.660 CD
	1 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	7.542 D
Mor	Kontrol	4.4 g/L MS bazal	11.10 C
	0.25 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	20.89 B
	0.50 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	31.03 A
	0.75 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	8.702 CD
	1 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	7.911 D
Beyaz	Kontrol	4.4 g/L MS bazal	11.34 C
	0.25 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	20.92 B
	0.50 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	31.03 A
	0.75 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	8.702 CD
	1 mg/L IBA	4.4 g/L MS bazal	8.702 CD

Beyaz renkli Afrika menekşesi 0.50 mg/L IBA içeren besiyerinde en yüksek köklenme yüzdesine sahip olmuştur. En düşük köklenme yüzdesi, 1 mg/L IBA içeren besiyerinde gerçekleşmiştir. Kontrol grubundan itibaren IBA miktarı artarken, bitki köklenme yüzdesi artmıştır. 0.50 mg/L IBA içeren besiyerinde optimum köklenme sağlanmış, 0.75 mg/L ve 1 mg/L IBA içeren besiyerlerinde bitki köklenme yüzdesi kontrol grubundaki bitki köklenme yüzdesinden daha düşük oranda gerçekleşmiştir. Pembe ve mor renkli Afrika menekşelerinde de benzer durumlar gözlenmiştir. Beyaz, pembe ve mor renkli Afrika menekşeleri, 0.50 mg/L IBA içeren besiyerinde maksimum köklenme yüzdesi göstermiştir.

4.5. Fotoperiyod denemesine ait bulgular

Organogenezis denemelerinden üretilen pembe, mor ve beyaz renkli Afrika menekşelerinde, *in vitro* şartlarda çiçeklenebilmesi için stres faktörü olarak, üç farklı aydınlanma sürelerine sahip fotoperiyod, üç farklı dozlarda MS bazal ve 6 farklı bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır. Fotoperiyod denemesinde üç tip uygulama gerçekleşmiştir. Bunlardan ilk uygulama 16 saat aydınlanma - 8 saat karanlık sürelerini içeren, fotoperiyottur. İkinci uygulama fotoperiyod denemesinde ise 12 saat aydınlık -12 saat karanlık sürelerini içeren, fotoperiyottur. Son uygulama ise, 8 saat aydınlık - 16 saat karanlık sürelerini içeren fotoperiyottur.

Her bir denemede bitki büyüme düzenleyicileri farklılığı oluştururken, sükröz (30 g/L), MS bazal (4,4 g/L) ve agaroz + fitajel (3,5 mg/L + 1,5 mg/L) miktarları sabit kalmıştır. Herbir bitki büyüme düzenleyicisi içeren kavanozda tek bitki ve 10 tekrür olacak şekilde üç farklı çiçek renkli Afrika menekşesi bitkiciklerine fotoperiyod uygulanmıştır. Toplamda 6 farklı bitki büyüme düzenleyici içeren besiyerlerinde $6 * 10 * 3 = 180$ bitkicik olacak şekilde deneme kurulmuştur. Üç farklı fotoperiyod uygulandığı için toplamda $180 * 3 = 540$ bitkiciğin *in vitro*'da çiçeklenebilmesi için fotoperiyod uygulanmıştır.

4.5.1. Fotoperiyod 1. uygulama (16 saat aydınlık – 8 saat karanlık)

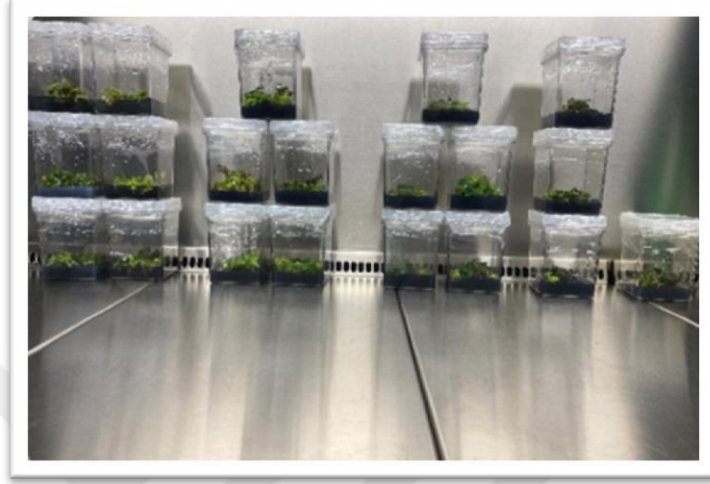
Organogenezis denemesi ile elde edilen bitkicikler, *in vitro* çiçeklenme denemesi için, 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi içeren besiyerlerinde kültüre alınmıştır. Söz konusu kültüre alınan besiyeleri içerikleri çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Fotoperiyod denemesinde kullanılan besiyeri içeriği

BA+NAA	BA+TDZ	2BA	1BA	0.5BA	KONTROL
30 g/L sükröz	30 g/L sükröz	30 g/L sükröz	30 g/L sükröz	30 g/L sükröz	30 g/L sükröz
4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal	4.4 g/L MS bazal
2 mg/L BA + 1mg/L NAA	2 mg/L BA + 1mg/L TDZ	2 mg/L BA	1 mg/L BA	0.5 mg/L BA	Hormonsuz
3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel	3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel
Distile su	Distile su	Distile su	Distile su	Distile su	Distile su

Çizelge 4.5.'te bahsedildiği gibi 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi ve üç farklı miktarda MS bazal ortamı içeren her bir ortamda 10'ar adet bitkicik olacak şekilde, üç farklı çiçek renkli Afrika menekşeleri ayrı ayrı olacak şekilde magenta kablarna aktarılmıştır. Toplamda her renk için 60 adet bitkicik kültüre alınmıştır. Bitkiciklere uzun gün bitkilerine ait, ışık süresi uygulanmıştır. Üç alt kültür süresi boyunca 16 saat aydınlık uygulanırken, 8 saatte karanlık uygulanmıştır. 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi içeren, 60 adet bitkicik büyütme odasında raflara düzenli bir şekilde dizilmiştir.

Kültüre alınan bitkiler her 4 haftada bir alt kültüre alınmıştır. Toplamda 3 alt kültür yapılmıştır. Her alt kültürde veriler, bitki gözlem formuna not edilmiştir. 3. alt kültür sonucunda, 60 adet bitkicide vejetatif gelişim gözlenirken, generatif gelişim gözlenmemiştir. Fotoperiyod için besiyerine aktarılan Afrika menekşeleri, Şekil 3.2’de gösterilmektedir.



Şekil 4.13. Fotoperiyod için besiyerine aktarılan Afrika menekşelerine ait görüntü

4.5.2. Fotoperiyod 2. uygulama (12 saat aydınlık – 12 saat karanlık)

Çizelge 4.5.’te bahsedildiği gibi 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi ve üç farklı miktarda MS bazal içeren her bir ortamda 10’ar adet bitkicik olacak şekilde, üç farklı çiçek renkli Afrika menekşeleri ayrı ayrı magenta kablarına aktarılmıştır. Toplamda her renk için 60 adet bitkicik kültüre alınmıştır. Bitkiciklere nötr gün bitkilerine ait, ışık süresi uygulanmıştır. Üç alt kültür süresi boyunca 12 saat aydınlık uygulanırken, 12 saatte karanlık uygulanmıştır. 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi içeren, 60 adet bitkicik büyütme odasında bulunan, ışık geçirmeyen karton kutunun içerisine, aydınlatma aracı ile düzenli bir şekilde dizilmiştir.

Kültüre alınan bitkiler her 4 haftada bir alt kültüre alınmıştır. Toplamda 3 alt kültür yapılmıştır. Her alt kültürde veriler, bitki gözlem formuna not edilmiştir. 3. alt kültür sonucunda, 60 adet bitkicide vejetatif gelişim gözlenirken, generatif gelişim gözlenmemiştir.

4.5.3. Fotoperiyod 3. uygulama (8 saat aydınlık – 16 saat karanlık)

Çizelge 4.5.’te bahsedildiği gibi 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi ve üç farklı miktarda MS bazal içeren her bir ortamda 10’ar adet bitkicik olacak şekilde, üç farklı çiçek renkli Afrika menekşeleri ayrı ayrı olacak şekilde magenta kablarına bitkicikler aktarılmıştır. Toplamda her renk için 60 adet bitkicik kültüre alınmıştır. Bitkiciklere kısa gün bitkilerine ait, ışık süresi uygulanmıştır. Üç alt kültür süresi boyunca 8 saat aydınlık uygulanırken, 16 saatte karanlık uygulanmıştır. 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi içeren, 60 adet bitkicikler büyütme odasında

bulunan, ışık geçirmeyen karton kutunun içersine, aydınlatma aracı ile düzenli bir şekilde dizilmiştir.

Kültüre alınan bitkiler her 4 haftada bir alt kültüre alınmıştır. Toplamda 3 alt kültür yapılmıştır. Her alt kültürde veriler, bitki gözlem formuna not edilmiştir. 3. Alt kültür sonucunda, 60 adet bitkicikte vejetatif gelişim gözlenirken, generatif gelişim gözlenmemiştir.



5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında ticari değeri yüksek olan bazı Afrika menekşelerinde organogenesis ve *in vitro* koşullarda çiçeklenme olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Daha önceki çalışmalarda çiçeklenme üzerine etkili olduğu düşünülen hormon, besiyeri ve fotoperiyodun, etkileri incelenmiştir. IAA, zeatin, amonyum nitrat ve sukrozun, *in vitro*'da kültüre alınan *Torenia* kök segmentlerinde çiçek tomurcuklarının başlatılması ve gelişmesi üzerindeki etkileri var olduğu bildirilmiştir Tanimoto ve Harada, (1981).

Altı farklı BBD (Kontrol (Hormon yok), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA), üç farklı MS(1.1 g/L, 2.2 g/L ve 4.4 g/L) içeren besiyerlerinde üç farklı fotoperiyod (16 saat aydınlık/8 saat karanlık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık) koşullarında yaprak eksplantlarından gelişen bitkiciklerin *in vitro* tomurcuklanma ve çiçeklenme performansları incelenmiştir. Çizelge 4.5.'te ifade edilen besiyerlerinde, bitkiciklerde vejetatif gelişim gözlenirken, çiçeklenme gözlemlenmemiştir. Bitkinin çiçeklenebilmesi için yeterli bitki büyüme düzenleyicisi miktarı, ışık yoğunluğu ve ışıklenme süresine ulaşamamış olması öngörülmektedir. Farklı renkte LED'ler kullanılarak, tekrar fotoperiyod denemesinin kurulması önerilmektedir. Çiçek oluşumunu teşvik eden uyarıların uyarılması, translokasyonları ve çiçek morfogenezleri burada yer alan kilit adımlardır. *In vitro* çiçeklenme için önemli faktörler karbonhidratlar, büyüme düzenleyicileri, kültür ortamının ışığı ve pH olarak bildirmiştir (Heylen ve Vendrig, 1988).

Çiçek oluşumunu teşvik eden uyarıların uyarılması, translokasyonları ve çiçek morfogenezleri burada yer alan kilit adımlardır. *In vitro* çiçeklenme için önemli faktörleri, karbonhidratlar, büyüme düzenleyicileri, kültür ortamının ışığı ve pH olarak bildirmişlerdir (Heylen ve Vendrig, 1988).

In vitro koşullarda çiçeklenmenin gerçekleşmesi için bitkicikler çeşitli stres faktörü altında değerlendirilmiştir. Sözkonusu stres faktörleri fotoperiyod, bitki büyüme düzenleyicisi ve üç farklı oranda MS bazal içeriği kullanılmıştır. Yapılan tez çalışmasında, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyod rejimleri uygulanmıştır. MS içeriği olarak; ¼ MS(1.1 g/L), ½ MS(2.2 g/L) ve Tam MS(4.4 g/L) kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi olarak; Kontrol((Hormonsuz)), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA kullanılmıştır. Çizelge 1.3.'de ifade edildiği gibi, pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 4,64 cm ile en yüksek bitki boy uzunluğuna ulaşmıştır. Bitkiciğin boyca uzun olmasını sağlayan, bitkinin bulunduğu besiyeri ortamında NAA hormonunun olduğu düşünülmektedir. Çizelge 1.4.'de ifade edildiği gibi, beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 29,8 adet ile en yüksek yaprak sayısına ulaşmıştır. Bitkiciklerin bulunduğu besiyerindeki sitokinin (BA + TDZ) hormonlarının

hücre bölünmesini ve sürgün oluşumunu teşvik ederek, bitkinin daha fazla sayıda yaprak oluşturduğu düşünülmektedir. Çizelge 4.3.'te ifade edildiği gibi, pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA ve 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 12,80 adet ile en yüksek kardeşlenme sayısına ulaştığı tespit edilmiştir. Bitkinin bulunduğu ortamda bulunan sitokinin ve oksin hormonunun oranına bağlı olarak, hücre bölünmesini, büyüme ve gelişmeyi hızlandırma yönünde etkilediği düşünülmektedir.

In vitro çiçeklenme, aynı zamanda çiçeklenme fizyolojisinin anlaşılmasını da kolaylaştırmaktadır. Büyük ölçüde ekzo ve endojen fitohormonların, şekerlerin, minerallerin ve fenoliklerin seviyesine ve etkileşimine bağlı bulunmaktadır. Bitkinin, fotoperiyod, genetik faktörler ve çevresel tepkiler bir arada ve uygun koşullarda bulunduğu çiçek açtığını saptamışlardır. Bu koşullar sıklıkla değiştirilebilmekte, bu sayede bitkinin erken üreme aşamasına girmesi için uyarı sağlanabileceğini bildirmiştir (Tissarat ve Galletta, 1995).

In vitro koşullarda çiçeklenmenin gerçekleşmesi için bitkicikler stres faktörü altında değerlendirilmiştir. Sözkonusu stres faktörleri fotoperiyod, bitki büyüme düzenleyicisi ve üç farklı miktarda MS bazal içeriği kullanılmıştır. Yapılan tez çalışmasında, 16 saat aydınlık-8saat karanlık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyod rejimleri uygulanmıştır. MS içeriği olarak; ¼ MS (1.1 g/L), ½ MS (2.2 g/L) ve Tam MS (4.4 g/L) kullanılmıştır. bitki büyüme düzenleyicisi olarak; Kontrol (BBD içermeyen), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA kullanılmıştır. Deney neticesinde genetik faktörler, ekzo ve endojen fitohormonlar, şekerler, mineraller ve fenoliklerin seviyesi bitkinin çiçeklenebilmesi için eşik değere ulaşamadığı düşünülmektedir. *In vitro* çiçeklenme olanaklarının artırılması için, ortamda bulunan sükroz miktarları değiştirilmesi önerilmektedir.

Orkidelerdeki bazı çalışmalar, BA, karbonhidrat ve azot oranının çiçek tomurcuğunun açmasında etkili olduğunu göstermiştir. Doriella Tiny orkide'sinde, 10 g/L sükroz ve 5 mg/L BAP içeren ortamda çiçek tomurcukları oluştuğunu bildirmiştir (Hew ve Yong, 1997).

Saintpaulia sp. yaprak eksplantlarından organogenezis ile elde edilen bitkicikleri 30g/L sükroz, üç farklı konsantrasyona sahip BA (0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA), üç farklı konsantrasyona sahip MS ((¼ MS (1.1 g/L), ½ MS (2.2 g/L) ve Tam MS (4.4 g/L)) ortamlarında *in vitro* şartlarda vejetatif gelişim gözlenmiş, çiçek tomurcuğu ve çiçeklenme gözlenmemiştir. *In vitro* çiçeklenme olanaklarının artırılması amacıyla daha farklı bitki büyüme düzenleyicileri ve farklı MS konsantrasyonlarının kullanılması önerilmektedir.

Çiçeklenme için önemli kriterlerin; pH, karbonhidrat, agaroz, ışık yoğunluğu, eksplantların büyüklüğü, ortam bileşenleri tür ve konsantrasyonu ve bitki büyüme düzenleyicileri olduğu belirtmişlerdir (Taylor ve van Staden, 2006).

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri için hazırlanan besiyerlerinin tamamında pH değeri 5.7 - 5.8 arasındadır. Besiyerleri için kullanılan agaroz ve fitajel miktarı 3.5

g/L + 1.5 g/L'de toplam 5 gramdır. Eksplant boyutu ise, 1cm x 1cm olacak şekilde kesilmiştir. Işık yoğunluğu ve ışık şiddeti tüm deneylerde aynıdır, değişkenlik göstermemektedir. Fotoperiyod denemelerinde ışık yoğunluğu ve ışık şiddeti değil, karanlık/aydınlık süreleri farklılık göstermektedir. Çiçeklenme için stres faktörü olarak; fotoperiyod, MS miktarı, bitki büyüme düzenleyicileri değişkenleri kullanılmıştır

Çiçeklenme teşvik edilecekse, GA₃'ün yüksek konsantrasyonunun, bastırılmış çiçek tomurcuk indüksiyon ve çiçeklenmeyi artırdığı görülmüştür. Birçok ön çalışma, ABA'nın *in vitro* çiçeklenmeyi önlediğini göstermektedir. Giberellik asit (GA₃) ve sitokininlerin, çiçeğin teşvik edilmesinden sorumlu bitki büyüme düzenleyicileri olduğu saptanmıştır *In vitro* çiçeklenmenin, çiçek organı gelişimi ve çiçek yaşlanması gibi üreme sürecinin tüm mekanizmalarını ve çiçeklenmeye özgü yönlerini incelemek için uygun bir araç olduğunu bildirmişlerdir (Vu ve ark., 2006).

Afrika menekşesinin çiçeklenmesi için bitki büyüme düzenleyicisi olarak, Kontrol ((Hormonsuz)), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA kullanılmıştır. Birçok ön çalışmada çiçeklenmeyi engelleyen ABA kullanılmamıştır. Tez çalışmasında kullanılan üç farklı çiçek renkli Afrika menekşesinde çiçeklenme ve tomurcuklanma gözlenemediği için GA₃ hormonu için ekstra bir deneme kurulmamıştır.

Sitokininlerin, fotoperiyodun ve alt kültür zamanının güller dahil birçok bitki türünde *in vitro* çiçeklenmeyi teşvik ettiğini belirtmişlerdir. 9 haftalık kültürden sonra 2 mg/L BA içeren MS ortamında *in vitro* çiçeklenmeyi gözlemişlerdir. BA'yı, birçok gülde *in vitro* çiçeklenme için yaygın olarak kullanmışlardır. Sitokininlerin uygulanmasının çiçek geçişi ile ilişkili moleküler değişiklikleri teşvik ettiğini, BA ve alt kültür zamanının, *in vitro*'da çiçeklenmenin başlatılmasında etkisi bulunduğunu belirtmişlerdir (Kanchanapoom ve ark., 2009).

Tez çalışmasında elde edilen verilere göre, kullanılan 6 farklı bitki büyüme düzenleyicileri içeren besiyerlerinde, vejetatif gözlemlenmiştir. Çiçeklenme ve tomurcuklanma gözlenmemiştir. BA hormonunun farklı konsantrasyonları (0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L) ve kombinasyonları (2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA) kullanılmıştır. Çiçeklenme olanaklarının artırılması amacıyla daha farklı, sitokinin yoğunluğu ve daha farklı fotoperiyod denemelerinin kullanılması önerilmektedir.

In vitro çiçeklenme için önemli faktörler; fotoperiyod, sıcaklık, ışık yoğunluğu ve GA₃'ün *in vitro* büyüme ve çiçeklenme üzerindeki etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir Sri Rama Murthy ve ark., (2012).

Beyaz, Pembe ve Mor renkli çiçeklere sahip Afrika menekşelerinde üç farklı fotoperiyod (16 saat aydınlık/8 saat karanlık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık) uygulaması yapılmıştır. *In vitro* çiçeklenme çalışması için, kültür odasının sıcaklığı 24±2°C'dir. BA hormonunun farklı konsantrasyonları (0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L) ve

kombinasyonları (2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA) kullanılmıştır. Tüm bu olasılıkları içeren ortamlarda vejetatif gelişim gözlenmiştir, çiçeklenme ve tomurcuklanma gözlenmemiştir. Çiçeklenme olanaklarının artırılması amacıyla daha farklı bitki büyüme düzenleyicisi içeren ortamların hazırlanarak, bitkiciklerin kültüre alınması ve farklı dalga boylarına sahip ışıklandırmalar önerilmektedir.

Mercimek ve faba fasulyesi bitkilerinde flurprimidol, indol-3-asetik asit ve zeatin kombinasyonunu kullanarak, faba fasulyesinde %100 *in vitro* çiçeklenme oranı elde ederken, mercimekte ise %90 *in vitro* çiçeklenme yüzdesi elde ettiğini bildirmişlerdir (Said Hassanzade Mobini ve ark., 2014).

Tez çalışmasında BA hormonunun farklı konsantrasyonları (0.5 mg/L, 1mg/l, 2 mg/L) ve kombinasyonları (2 mg/L BA+1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA+1 mg/L NAA) kullanılmıştır. Afrika menekşelerinde *in vitro* çiçeklenme gözlenmemiştir. *In vitro* çiçeklenme için stres faktörü olarak fotoperiyod, MS içeriğinin farklı dozları ($\frac{1}{4}$ MS (1.1 g/L), $\frac{1}{2}$ MS (2.2 g/L) ve Tam MS (4.4 g/L) ve Bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır.

Sitokininler ve GA₃ çiçek oluşumunu teşvik ederken, oksinler inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Semiarti ve ark., 2014).

In vitro çiçeklenme çalışması için hazırlanan besiyerlerinde sitokinin olarak kullanılan BA hormonunun miktarı, oksin grubu olarak kullanılan NAA'dan miktar olarak fazladır. Ayrıca sitokinin hormonu olan BA'nın farklı dozlarında da *in vitro* çiçeklenmeye olan katkısını görmek için çalışmalar yapılmıştır. Kullanılan tüm hormon grubu ve kombinasyonlarında çiçeklenme gerçekleşmezken, sitokinin hormonunun fazla olduğu besiyeri ortamlarında bitkilerin daha fazla yaprak oluşturduğu Çizelge 4.2'de ifade edilmiştir, bitki boyunun en uzun olduğu Çizelge 4.1'de ifade edilmiştir.

Ortam bileşenlerinin, bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonlarının, *in vitro* çiçeklenme ve mikro çoğaltımı önemli ölçüde etkilediğini bildirmişlerdir (Kaviani ve ark., 2014).

Beyaz, pembe ve mor çiçek renkli Afrika menekşeleri *in vitro* çiçeklenme için 6 farklı bitki büyüme düzenleyici (Kontrol(BBD içermeyen), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA)), 3 farklı fotoperiyod (16 saat aydınlık/8 saat karanlık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık) uygulaması ve 3 farklı dozda MS ($\frac{1}{4}$ MS (1.1 g/L), $\frac{1}{2}$ MS (2.2 g/L) ve Tam MS (4.4 g/L)) uygulaması gerçekleşmiştir. Yapılan tüm çalışmada vejetatif gelişim gözlenmiştir, çiçeklenme gözlenmemiştir.

Anethum graveolens bitkisinin yapraklarını kullanarak *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirmiştir. Adenin sülfatın kallus rejenerasyon sıklığını arttırdığını ifade etmiştir. *In vitro* çiçeklenme denemelerinde farklı karbonhidratlar(früktöz, glukoz, mannoz ve sorbitol) kullanarak bitkinin çiçeklenmesini sağladığını bildirmişlerdir (Sonali Jana ve Gyan Singh Shekhawat, 2010)

Beyaz, Pembe ve Mor renkli çiçeklere sahip Afrika menekşelerinde eksplant kaynağı olarak taze yaprakları kullanılmıştır. Yaprakların eni ve boyu 1cmx1cm olacak şekilde bistüri ile

kesilerek katı besiyerine aktarımı sağlanmıştır. Organogenez çalışmasında elde edilen veriye göre bitki boyunun en yüksek olduğu, 2 mg/L BA+1 mg/L NAA hormonunu içeren ortamdır. *In vitro* çiçeklenme için kullanılan karbonhidrat ise, 30 g/L sükroz'dur. Çiçeklenme olanaklarının artırılması amacıyla daha farklı miktarda sükrozun kullanılması ve daha farklı karbonhidrat çeşitlerinin denenmesi önerilmektedir.

Yüksek Fosfor ve düşük Azot'un *Dendrobium*'da çiçek oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir. Buna ek olarak, *in vitro*'da çiçeklenme çalışmalarının çoğunda tek bir bitki büyüme düzenleyicisi 6-benziladenin, N6-izopenteniladenin, Thidiazuron, Paclobutrazol, Absisik asit, Kinetin, Giberellik asit, 2,3,5-triiodobenzoik asit veya 1-Naftalenasetik asit, 2,4-diklorofenoksiasetik asit ve zeatin (Wen ve ark., 1999) veya diğer kombinasyonlar ve besinler, *in vitro* çiçeklenmeyi teşvik etmek için kullanıldığını bildirmişlerdir (Teixeira da Silva ve ark., 2014).

Afrika menekşelerinde *in vitro* çiçeklenme çalışması için stres faktörü olarak fotoperiyod(16saat aydınlık/8saat karanlık, 12saat aydınlık/12saat karanlık, 8saat aydınlık/16saat karanlık), 6 farklı bitki büyüme düzenleyicileri(Kontrol((Hormonsuz), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA+1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA+1 mg/L NAA) ve üç farklı konsantrasyona sahip MS ((¼ MS (1.1 g/L), ½ MS (2.2 g/L) ve Tam MS (4.4 g/L)) kullanılmıştır. Çalışmaların sonucunda vejetatif gelişim gözlenmiştir, *in vitro* çiçeklenme gerçekleşmemiştir. Çiçeklenme olanaklarının artırılması amacıyla daha farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanılması önerilmektedir.

Afrika menekşesinde Meta-topulin ve farklı sitokinin türevleri kullanarak, metatopulin'nin farklı sitokinin türevlerine göre; *in vitro* mikro çoğaltımı ve sürgün gelişimi açısından daha etkili olduğunu ifade etmiştir (Nevzat Sevgin, 2019),

Tez çalışmasında üç farklı çiçek rengine sahip Afrika menekşeleri kullanılmıştır. Her bitkinin organogenezis denemeleri için 6 farklı bitki büyüme düzenleyicisi + 30 g/L sükroz + 4.4 g/L MS bazal + 3.5 g/L agaroz + 1.5 g/L fitajel + 0.7 g/L Aktif karbon ve distile su kullanılmıştır. Organogenezis deneyinden elde edilen verilere göre; Çizelge 4.1'de ifade edildiği gibi, pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 4,64 cm ile en yüksek bitki boy uzunluğuna ulaşmıştır. Çizelge 4.2.'de ifade edildiği gibi, beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 29,8 adet ile en yüksek yaprak sayısına ulaşmıştır.

Çizelge 4.3.'de ifade edildiği gibi, pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA ve 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 12,80 adet ile en yüksek kardeşlenme sayısına ulaştığı tespit edilmiştir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında, Beyaz, pembe ve mor renkli çiçeklere sahip Afrika menekşelerinin organogenezis ve *in vitro* çiçeklenme olanakları araştırılmıştır. Organogenezis ve *in vitro* çiçeklenme çalışmaları için bitkinin taze yaprakları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Eksplantlardan organogenezis ile oluşturulan bitkicikler, *in vitro* çiçeklenme çalışması için stres faktörü fotoperiyod (16saat aydınlık/8saat karanlık, 12saat aydınlık/12saat karanlık, 8saat aydınlık/16saat karanlık), 6 farklı bitki büyüme düzenleyicileri (Kontrol((Hormonsuz), 0.5 mg/L BA, 1 mg/L BA, 2 mg/L BA, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA) ve üç farklı konsantrasyona sahip MS (($\frac{1}{4}$ MS(1.1 g/L), $\frac{1}{2}$ MS(2.2 g/L) ve tam MS(4.4 g/L)) kullanılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda organogenezis çalışması için, bitki boyu, yaprak sayısı, kardeşlenme sayısı ve köklenme yüzdesi verileri analiz edilmiştir. *In vitro* çiçeklenme verileri alınmıştır. Organogenezis çalışmaları değerlendirildiğinde, Çizelge 4.1.'de belirtildiği gibi, pembe çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde, 4,64 cm ile en yüksek bitki boy uzunluğuna ulaşmıştır. Çizelge 4.2.'de ifade edildiği gibi, beyaz çiçek renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 1 mg/L TDZ ve 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 29,8 adet ile en yüksek yaprak sayısını sağlamıştır. Çizelge 4.3'de belirtildiği gibi, pembe renkli Afrika menekşesi, 2 mg/L BA + 1 mg/L NAA ve 4.4 g/L MS bazal bulunan besiyerinde 12,80 adet ile en yüksek kardeşlenme sayısına ulaşmıştır. Köklenme denemesinde köklenme yüzdesinin en yüksek olduğu besiyeri, %31,03 ile 4.4 mg/L MS bazal ve 0.50 mg/L IBA hormonunu içeren ortam olarak bulunmuştur. *In vitro* çiçeklenme denemelerinin sonucunda organogenezis ile yeni bitkicikler oluşmuş fakat *in vitro* çiçeklenme gerçekleşmemiştir. Üç farklı çiçek rengine sahip Afrika menekşelerinin *in vitro* koşullarda çiçeklenmeme sebebi, tek tip ışık rengine ait ve tek tip ışık yoğunluğuna sahip fotoperiyodun denenmiş olması olarak düşünülmektedir. *In vitro* çiçeklenme çalışmasının başarısını arttırmak için, daha farklı ışık rengine sahip LED'lerin, daha farklı ışık yoğunluklarının, daha farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin, enerji kaynağı olarak kullanılan sükrozun farklı miktarlarının ve farklı karbonhidratların, kullanılması, önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S., 2002. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 374s.
- Batuk, M., 2020. Asma ağlama suyunda Afrika menekşesi'nin(*Saintpaulia ionantha Wendl.*) mikroçoğaltımı. Yüksek Lisans tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 7. ve 11. s.
- Çakın, I., 2015. Afrika menekşesi (*Saintpaulia ionantha*)bitkisinde protoplast izolasyonu, füzyonu ve rejenerasyonların sağlanması. Yüksek Lisans tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 34s.
- Demirci, E., 2015. Farklı mediaların, bitki büyüme düzenleyici maddelerin, sucrose, NaCl ve ışığın 'Aprikola' (*Rosa sp.*) gülünün in vitro çiçeklenmesi üzerine etkileri. Yüksek Lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 7, 8 ve 10. s.
- Erdağ, B.B., Emek, Y.Ç., 2008, Adventitious Shoot Regeneration and in vitro Flowering of *Anthemis xylopoda* O. Schwarz, a Critically Endangered Turkish Endemic, Turkish Journal of Biology, 1(1):322-323
- Geekiyana, S., Tomoyuki, T., Shin, W., Seiichi, F. and Tomohiro, K. (2006). The combined effect of photoperiod, light intensity and GA₃ on adventitious shoot regeneration from cotyledons of spinach (*Spinacia oleracea* L.) *Plant Biotechnology* 23, 431-435.
- Hew, C. S. and Yong, J. W. H. (1997). *The Physiology of Tropical Orchids in Relation to The Industry*. World Scientific Publ. 370 p.
- Heylen, C. and Vendrig, J. C. (1988). The influence of different cytokinins and auxins on flower neoformation in thin cell layers of *Nicotiana tabacum* L. *Plant Cell Physiol.* 29: 665-671.
- Kanchanapoom,K.,Posayapisit,N.and Kanchanapoo,K.(2009). *In vitro* flowering from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* l.) *Not. bot. hort. agrobot. cluj* 37 (2), 261-263.
- Kaviani,B., Zamirae,F., Zanjani,B., Tarang,A. and Torkashvand, A.M. (2014). *In vitro* flowering and micropropagation of *Lisianthus (Eustoma grandiflorum)* in response to plant growth regulators (NAA and BA) *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 13(4) 145-155.
- Mahipal ve ark., (2016). Micro-Structural Stability of Micropropagated Plants of *Vitex negundo* L., *Microscopy and Microanalysis*, Volume 27, Issue 3, 1 June 2021, Pages 626–634
- Murthy, R. Kondamudi, PV. Chalapathi Rao. (2012) *In vitro* flowering-A review, *Journal of Agricultural Technology* 2012 Vol. 8(5): 1517-1536.
- Pratheesh, P.T. ve Kumar, M. A., 2012. *In vitro* flowering in *Rosa Indica* L. *International Journal of Pharmacy and Biological Science Congress*, Kottayam, India
- Said Hassanzade Mobini ve ark., (2014). Green Synthesis and Characterization of a ZnO-ZrO₂ Heterojunction for Environmental and Biological Applications. *Crystals*, Vol. 11 1500-1502, 2021.

- Semiarti, E., Mercuriani, I.S., Slamet, A., Sulistyaningsih, B., Bestari, I. A. P., Jang, S., Machida, Y. and Machida, C. (2015). Induction of *In Vitro* Flowering of Indonesian Wild Orchid, *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume, The 3rd International Conference on Biological Science, ISSN 2413-0877 Volume 2 (2015) 398-404 2013.
- Sevgin, N., (2019), Meta –Topolin ve Farklı Sitokinin Türevlerinin Afrika Menekşesi (*Saintpaulia ionanthac* Wendl.)’ in *In vitro* Mikro Çoğaltımı ve Sürgün Gelişimi Üzerine Etkisi, Şirnak Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, ISSN: 2667-7083, 6(2):5-8 s.
- Shekhawat, M. S., Manokari, M. and Ravindran, C. P. (2016). Implications of plant growth regulators on induction of *in vitro* flowering in *Aerva lanata* (L.) Juss. ex Schult. WSN 32 84-94.
- Shuvra Kanta Behera ve ark., (2018). In vitro flowering in *Oldenlandia umbellata* L., Journal of Ayurveda and Integrative Medicine Volume 9, Issue 2, 99-103 s., April - June 2018,
- Sonali Jana ve Gyan Singh Shekhawat, (2010). Plant growth regulators, adenine sulfate and carbohydrates regulate organogenesis and *in vitro* flowering of *Anethum graveolens*, Acta Physiologiae Plantarum volume 33, pages 305–311 (2011)
- Tanimoto, S. and Harada, H. (1981). Effects of IAA, zeatin, ammonium nitrate and sucrose on the initiation and development of floral buds in *Torenia* stem segments cultured *in vitro*. Plant Cell Physiol, 122:1553-1560.
- Taylor ve van Staden, (2006). Towards an understanding of the manipulation of *in vitro* flowering. Floriculture, ornamental and plant biotechnology, 2006: 1-22.
- Teixeira da Silva, J.A., Kerbauy, G.B., Zeng, S., Chen, Z. and Duan, J. (2014) *In vitro* flowering of orchids, Crit Rev Biotechnol, 34(1): 56-76.
- Tisserat, B. and Galletta, P.D. (1995). *In vitro* flowering and fruiting of *Capsicum frutescens* L. Hort. Sci. 30:130-132.
- Ven ve ark. (2014). *In vitro* flowering of *Dendrobium*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 119(3):447-456
- Vu, N.H., Anh, P.H. and Nhut, D.T. (2006). The role of sucrose and different cytokinins in the *in vitro* floral morphogenesis of rose (hybrid tea) cv. ‘First Prize’. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 87: 315-320.

ÖZGEÇMİŞ

Emrah SÜNDÜK, İlköğretim ve Ortaöğretimi ADANA’da tamamladı.. 2014 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. 2018 yılında Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimini başladı. 2020 yılında Ceyhan Meslek Yüksekokulu Sivil Savunma ve İtfaiyecilik Programına başladı 2022 yılında Ceyhan Meslek Yüksekokulu Sivil Savunma ve İtfaiyecilik Programından Bölüm 1’incisi MYO 2’ncisi olarak mezun oldu. 2023 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimini tamamladı. 2019 yılında Adana Şehir Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde Biyolog olarak çalışmaya başladı.

