

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ BÖLÜMÜ ANABİLİM DALI**

**BAZI LAVANTA (*Lavandula angustifolia*)
GENOTİPLERİNİN MİKROÇOĞALTIM
ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Bilge AYDIN**

**Danışmanlar
Prof. Dr. Osman GÜLŞEN
Doç. Dr. Hasan PINAR**

Yüksek Lisans Tezi

**Aralık 2020
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ BÖLÜMÜ ANABİLİM DALI**

**BAZI LAVANTA (*Lavandula angustifolia*)
GENOTİPLERİNİN MİKROÇOĞALTIM
ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Bilge AYDIN**

**Danışmanlar
Prof. Dr. Osman GÜLŞEN
Doç. Dr. Hasan PINAR**

**Aralık 2020
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Bilge AYDIN



YÖNERGEYE UYGUNLUK

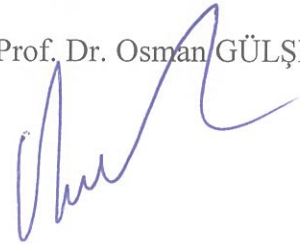
“BAZI LAVANTA (*LAVANDULA ANGUSTİFOLİA*) GENOTİPLERİNİN MİKROÇOĞALTIM ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Bilge AYDIN

**Danışman**

Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

**Bahçe Bitkileri Bölümü A.B.D. Başkanı**

Prof. Dr. Aydın UZUN



Prof. Dr. Osman GÜLŞEN ve Doç. Dr. Hasan PINAR danışmanlığında **Bilge AYDIN** tarafından hazırlanan öğrencinin “Bazı Lavanta (*Lavandula angustifolia*) Genotiplerinin Mikroçoğaltım Etkinliklerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bahçe Bitkileri** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

.../.../2020

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Üye : Prof. Dr.

Üye : Prof. Dr.

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek, akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. Osman Gülşen'e, çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen diğer danışman hocam sayın Doç. Dr. Hasan Pınar'a, çalışmalarım sırasında ümit verdiği ve destek olduğu için hocam sayın Doç. Dr. Mustafa Demirkaya'ya, çalışmam esnasındaki yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Akife Dalda Şekerci'ye, yaşamımın her döneminde birçok fedakarlıklar gösterip beni destekleyerek yanımda oldukları, bana duydukları güven için aileme teşekkür ederim.

Bu Yüksek Lisans tez çalışması Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (ERÜ-BAP) tarafından FYL-2019-9450 koduyla finansal olarak desteklenmiştir.

Bilge AYDIN

Aralık 2020

BAZI LAVANTA (*Lavandula angustifolia*) GENOTİPLERİNİN MİKROÇOĞALTIM ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bilge AYDIN

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2020
Danışmanlar: Prof. Dr. Osman GÜLŞEN
Doç. Dr. Hasan PINAR**

ÖZET

Doku kültüründe geliştirilen ortamların başarısı genellikle genotipe bağlıdır ve her genotip için farklı protokoller gerekli olabilmektedir. Lavantada doku kültüründe mikroçoğaltım yapıldığına dair çok az rapor bulunmaktadır. Bu tez çalışmasıyla seçilen lavanta genotiplerinin doku kültürüne tepki açısından farklılıkları incelenenmiştir. Bu amaçlar doğrultusunda, yürütülen tez çalışması ile genotipler arası farklılıklar gözlemlenmiştir ve doku kültürüyle çoğaltımın kolaylaştırılması ve yaygınlaştırılması sağlanmıştır. Doku kültüründe mikroçoğaltım amacıyla, Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde generatif çoğaltım ile oluşturulmuş olan lavanta popülasyonu içerisinde görünüş bakımından üstün özellikler ve yağ özelliklerine sahip 10 genotip (161, 182, 183, 114, 112, 98, 152, 57, 92) eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Daha önceki çalışmalar dikkate alınarak sürgün elde etme aşamasında, 2 ml/L BAP ve 1.5 gram aktif karbon içeren MS ortamı kullanılmıştır. Kardeşlenme aşamasında, 0.1 mg/L BA ve 1 g/L aktif karbon içeren WPM ortamı kullanılmıştır. Köklendirme aşamasında ise 1 mg/L NAA içeren WPM ortamı kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre maksimum sürgün sayısı (19) 92 numaralı genotipte gözlenmiştir. Minimum sürgün sayısı (1) 57 genotipinde gözlenmiştir. Elde edilen verilere göre maksimum kardeşlenme sayısı (107) 92 genotipinde gözlenmiştir. Minimum kardeşlenme sayısı (10) ise 98 numaralı genotipte gözlenmiştir. Elde edilen verilere göre ortama en iyi adapte olan genotip, kök oluşturma sayısı 6 olan 92 genotipidir. Köklenmesi en düşük olan genotip ise kök oluşturma sayısı (1) 98 numaralı genotipte gözlemlenmiştir. Bu tez çalışmasıyla seçilen lavanta genotiplerinin doku kültürüne tepki açısından farklı olduğu belirlenmiştir. *In vitro* için uygun olarak seçilen genotipler çoğaltımı kolaylaştıracağı kanısındayız. Bu çalışmada lavanta bitkilerinin *in vitro* ortamda kullanılan BAP hormonu lavanta eksplantlarının büyüme ve gelişmesinde etkili olduğu saptanmış ve bu bilgiler ışığında

sonraki çalışmalarda da lavanta bitkileri için uygun protokoller hazırlanarak kullanılmasının başarıyı artıracadı dūřüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: Lavanta (*Lavandula angustifolia*), In Vitro, mikroçoğaltım



**DETERMINATION OF MICROPROPAGATION RESPONSES OF SOME
LAVANDER (*Lavandula angustifolia*) GENOTYPES**

Bilge AYDIN

Erciyes University, Institute of Science and Technology

Master Thesis, December 2020

Supervisors: Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Assoc. Prof. Hasan PINAR

ABSTRACT

There are few reports of micropropagation in tissue culture in lavender. The success of the media generally depends on the genotype and different protocols may be required for each genotype. Differences of lavender genotypes selected in this study for response to microropagation will be examined. With this aim, 10 genotypes (161, 182, 183, 114, 112, 98, 152, 57, 92) with high ornamental plant and oil characteristics among the lavender population created by generative reproduction at Erciyes University Faculty of Agriculture were used as explant source. For shoot initiation, MS medium containing 2 ml / L BAP and 1.5 grams of activate carbon was used. In the tillering stage, WPM medium containing 0.1 mg / L BA and 1 g / L activate carbon was used. In the rooting phase, WPM media containing 1 mg / L NAA was used. According to the data obtained, the maximum number of shoots (19) was recorded in genotype 92. The minimum number of shoots (1) was observed in genotype 57. According to the data obtained, the maximum rooting number (107) was in 92 whereas the minimum tillering number (10) was in 98. According to the data obtained, the genotype that adapts best to the environment was 92 with 6 root formation. The genotype with the lowest rooting was (1) 98. It has been observed that lavender genotypes selected in this thesis are different in terms of response to tissue culture. We believe that genotypes that are properly selected for *in vitro* will facilitate vegetative reproduction for levander. In this study, BAP and BA hormones used in *in vitro* environment of lavender plants were found to be effective in the growth and development of lavender explants.

Key Words: Lavender (*Lavandula angustifolia*), In Vitro, micropropagation

İÇİNDEKİLER

BAZI LAVANTA (*Lavandula angustifolia*) GENOTİPLERİNİN MİKROÇOĞALTIM ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
ÇİZELGELER LİSTESİ	xii

1. BÖLÜM

GİRİŞ	1
-------------	---

2. BÖLÜM

LİTERATÜR ÖZETİ	3
-----------------------	---

3. BÖLÜM

MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal	12
3.2. Metod	12
3.2.1. Örneklerin Alınması	12
3.2.2. Eksplantların Yüzey Sterilizasyonu	12
3.2.3. Besin Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu	13

3.2.4. İklim Kabini Ortamının Şartları	14
3.2.5. İncelenen Parametreler	14

4. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Eksplantların Sürgün Oluşturması	15
4.2. Kardeşlenme Aşaması.....	16
4.3. Köklendirme Aşaması.....	18

5. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER.....	21
KAYNAKLAR	23
ÖZGEÇMİŞ.....	26

SİMGELER ve KISALTMALAR

μl	: Mikrolitre
AgNO₃	: Gümüşnitrat
BAP	: Benzyl-adenine purine
GA₃	: Giberellic acid
IAA	: Indole-3-acetic acid
IBA	: Indole-3-butyric acid
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MS	: Murashige&Skoog Medium
NAA	: Naphthalene acetic acid
NaOH	: Sodyum Hidroksit
ng	: Nanogram
NH₄NO₃	: Amonyumnitrat
WPM	: Woody Plant Medium

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Lavanta türlerinin dünyadaki yayılış alanları.....	4
Şekil 2.	Eksplantların Sterilizasyonu.....	13
Şekil 3.	Eksplantların kesilerek ortama alınması	14
Şekil 4.	Eksplantların iklim kabindeki görüntüsü	14
Şekil 5.	Eksplantların büyümesi ve kardeşlenmesi	17



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1. Türkiye 2015-2019 yılları lavanta kuru çiçek üretim değerleri	4
Çizelge 2. Lavanta bitkisinden elde edilen farklı uçucu yağ bileşenleri.....	5
Çizelge 3. Doku kültürü kullanılarak 10 adet lavanta genotipiyle yapılan çelik kültürü ve kültüre alınan kavanoz sayısı, sürgün oluşturma ortamından elde edilen toplam sürgün sayıları ve kontaminasyon durumu	15
Çizelge 4. Sürgünlerin toplam kardeşlenme ve kontaminasyon durumu	17
Çizelge 5. Genotiplerin köklenme sayıları	18

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Lavanta, dünyada ticareti en fazla yapılan 15 uçucu yağ bitkisinden birisidir. Genel olarak lavanta yağı parfümeri ve ilaç sanayisinde, ayrıca sabun ve diğer endüstri kollarında güzel kokusu için kullanılmaktadır. Lavanta uçucu yağının dünya piyasalarında fiyatı 75 ile 100 € arasında değişmektedir. Lavanta (*Lavandula* sp.), *Lamiaceae* familyasından çok değerli bir uçucu yağ bitkisidir (Guenther, 1952). Çoğu Akdeniz orjinli olan 39 kadar lavanta türü (*Lavandula* sp.) bulunmaktadır. Dünyada ticari değeri yüksek olan üç önemli lavanta türü vardır. Bunlar, lavander (*L. angustifolia* Mill. = *L. officinalis* L. = *L. vera* DC), lavandin (*L. intermedia* (Emeric ex Loisel.) = *L. hybrida* L.) ve spike lavander (*Lavandula spica* = *L. latifolia* Medik.)'dir. İngiliz lavantası olarak adlandırılan lavander çeşitlerinin uçucu yağ kalitesi, melez lavanta olarak adlandırılan lavandin çeşitlerinin ise uçucu yağ verimi daha düşüktür (Beetham ve Entwistle, 1982). Bu üç önemli tür dışında *L. dentata* (Fransız lavantası), *L. stoechas* L. (İspanya lavantası), *L. latifolia* Medik (Geniş yapraklı lavanta), *L. multifida* (Eğreltiotu yapraklı lavanta), *L. canariensis* (Kanarya adaları lavantası), *L. lanata* (Yünlü lavanta), *L. heterophylla* ve *L. x allardii* (*L. dentata* x *L. latifolia* Medik.) gibi daha çok süs bitkisi, kesme çiçek ve potpori olarak yetiştirilen türler de vardır (Tucker, 1985).

Lavanta, içerdiği yüksek oranda ve yüksek kalitede uçucu yağ nedeniyle, dünyada kültürü yapılan önemli bir parfüm, kozmetik ve ilaç bitkisidir (Guenther, 1952). Dünyada her yıl 200 ton kadar lavander yağı, 1000 ton kadar lavandin yağı ve 150 ton kadar Spike lavander yağı üretilmektedir (McGimbsey ve Porter, 1999).

Lavanta bitkisinde diğer aromatik bitkilerde olduğu gibi üretimi ve çoğaltılması generatif ve vejetatif olarak başlıca iki yolla gerçekleştirilir. Bu iki yöntemlede lavanta

tür ve çeşitlerinde çoğaltım yapmanın zor, maliyetli ve uzun zaman aldığı görülmüştür. Diploid (2n) ve tetraploid (4x) olan lavander (*L. angustifolia* = *L. officinalis* = *L. vera*) ve spike lavander (*L. spica*) çeşitleri hem generatif hem de vejetatif olarak çoğaltılabilirken, *L. angustifolia* ve *L. latifolia* melezi olarak triploid olan (3x) lavandin (*L. x intermedia* = *L. hybrida*) çeşitleri kısır olduklarından tohum üretemezler ve bu nedenle vejetatif (klonal) olarak çoğaltılabilmektedir (Baydar, 2010).

Son yıllarda doku kültürleri ile özellikle tıbbi ve aromatik bitkilerin mikroçoğaltım teknikleri konusunda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Mikroçoğaltımın, hastalık ve zararlılardan arındırılmış tek örnek (homojen) bitkisel materyal elde edilmesi, klasik yöntemlerle zor üretilen türlerin daha kolay üretimi, seçilen üstün genotiplerin hızlı üretimi, geniş alanlara ve iş gücüne ihtiyaç duyulmaksızın ve mevsime bağlı kalmaksızın her dönemde üretime imkan tanınması gibi pek çok avantajları vardır (Bajaj ve ark., 1988).

Lavantada doku kültüründe mikroçoğaltım yapıldığına dair çok az rapor bulunmaktadır. Geliştirilen ortamların başarısı genellikle genotipe bağlıdır ve her genotip için farklı protokoller gerekli olabilmektedir. Mikroçoğaltım çalışmaları hakkında mevcut araştırmalar, mikroçoğaltım için uygun bitki parçasını ve ortamları tanımlamak için yapılmıştır. Ancak, yapılması planlanan bu çalışma ile mikroçoğaltım için uygun eksplant ve ortamları tanımlamanın yanı sıra, doku kültürüne tepki açısından genotipler arası varyasyonu belirlemeyi amaçlamıştır. Yaklaşık üç yıl önce üstün nitelikli lavanta çeşitleri geliştirmek üzere Gülşen ve ark. tarafından ıslah programı başlatılmış ve halen bir başka doktora tez çalışması kapsamında yürütülen projede yağ verimi, süs bitkisi özellikleri araştırılmaktadır. Bu projede çok üstün nitelikli olduğu tespit edilen 10 adet lavanta genotipi ön araştırmalarla belirlenmiştir (Dalda-Şekerci, 2019). Sunulan bu tez projesi kapsamında geniş bir varyasyona sahip bir populasyondan seçilen bu 10 genotipin mikroçoğaltım etkinlikleri araştırılması amaçlanmıştır. Bu proje ile ileride tescil edilecek lavanta çeşitlerinin hızlı çoğaltımı konusunda ilerleme kaydedilebilecektir.

2. BÖLÜM

LİTERATÜR ÖZETİ

Lavanta türleri uçucu ve aromatik yağ içermelerinden dolayı farmakoloji ve parfümeri sanayisinde önemli rol oynamakta olup, eterik yağ üretiminde kullanılmakta ve süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir (Seçmen ve ark., 2000). Lavanta uçucu yağı dünyada en fazla üretilen 15 uçucu yağdan biri olup, ilaç sanayisinde özellikle çiçekli dal uçları; parfümeri ve kozmetik, sanayi için ise kısmen kurutulmuş çiçek ve yaprakları kullanılmaktadır. İlaç sanayisinde, bazı preparatlara koku vermede, merkezi sinir sistemini düzenleyici ilaçların bileşiminde, sivilceler, astım, bronşit, saç dökülmeleri, kadın hastalıkları, sinir hastalıkları ve heyecan yatıştırıcı olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla bazı sakinleştirici, uykusuzluk giderici, ağrı kesici, hücre yenileyici, cilt hastalıkları, akciğer hastalıkları, romatizma, tenya, öksürük ve baş dönmesine karşı kullanılan ilaçların bileşiminde yer almaktadır. Ayrıca sanayide bünyelerindeki linalol ve linalil asetattan dolayı, parfümeri ve kozmetikte, cilt temizleyici losyon, kokulu banyo sabunu ve köpüklerinin yapımında kullanılmaktadır (Gilani ve ark., 2000).

Dünyada her yıl 1.9-2.0 milyar dolar arasında uçucu yağ ihracatı yapılmakta ve miktarın yaklaşık 50 milyon dolarını lavanta yağı oluşturmaktadır (Baydar, 2007). Dünyada ise daha çok Akdeniz havzasında bulunan bazı ülkeler, ABD ve bazı uzak doğu ülkelerinde üretimi yapılmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1. Lavanta türlerinin dünyadaki yayılış alanları (Baydar, 2007)
(<http://www.uerkal.com/Posts/Res/p58-DunyaHaritasi.gif>; değiştirerek))

Türkiye’de lavanta üretimi her geçen yıl artmaktadır (Çizelge 1). Örneğin 2012 yılında 509 da olan lavanta alanı 2016’da 5.700 da olmuştur. Üretim miktarı da kuru çiçek olarak 123 tondan 747 tona çıkmıştır. Görüldüğü üzere lavanta alan ve üretim miktarında çok ciddi artışlar olmaktadır. Bu tablodan lavanta ile ilgili ciddi ekonomik büyümeler kaydedilmiştir.

Çizelge 1. Türkiye 2015-2019 yılları lavanta kuru çiçek üretim değerleri (TÜİK, 2019).

YIL	2015	2016	2017	2018	2019
Ekilen alan (da)	3.218	5.700	6.606	8.684	11.903
Hasat edilen alan (da)	2.858	5.528	6.361	8.381	11.614
Üretim (ton)	400	747	845	1.040	1.462
Verim(kg/da)	140	135	133	124	126

Lavandula sp., *Lamiaceae* familyasından çok değerli bir uçucu yağ bitkisidir (Guenther, 1952). Lavanta yağı aromaterapide en çok kullanılan yağlardan biridir, özellikle bergamot, neroli, ıtır ve gül esansları ile iyi bir karışım yapmaktadır. Lavanta çiçeklerinin en önemli etken maddesini, renksiz veya hafif sarı renkte olan uçucu yağlar oluşturmaktadır. Lavanta çiçeklerinde uçucu yağ oranı %1-3 arasında değişmektedir (Baydar, 2007; Hassiotis ve ark., 2010). Lavanta yağının en önemli uçucu yağ bileşenleri linalilasetat, linalol, sineol ve kafur olup, özellikle linalilasetat, lavanta

yağının kalitesini belirleyen en önemli bileşeni olmakta ve parfüm sanayisinde kullanılacak lavanta yağında en az %30 oranında olması istenmektedir (Hui ve ark., 2010) (Çizelge 2).

Çizelge 2. Lavanta bitkisinden elde edilen farklı uçucu yağ bileşenleri (Hui ve ark., 2010)

Uçucu yağ	Oran%
Kafur (camphor)	0.5-1
Kariyofilin (caryophyllin)	3-12
Sineol (cineole)	1-2
Linalol (linalool)	30-49
Linalil asetat (linalylacetate)	30-45
Okimin (ocimene)	2.5-6

Lavanta yağının en önemli uçucu yağ bileşenleri linalilasetat, linalol, sineol ve kafur olup, özellikle linalilasetat, lavanta yağının kalitesini belirleyen en önemli bileşeni olmakta ve lavanta, yarı çalimsı formda çok yıllık bir bitkidir. Yaşlandıkça alttan üste doğru odunlaşmaya başlayan, ortalama 50 cm, en fazla 1 m'ye kadar boylan çok sayıda dalları olan bir süs ve tıbbi aromatik bitkisidir. Bordür ve göbeklerde dikkati çekmek için son dönemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Dallar üzerinde karşılıklı olarak 2-6 cm uzunlukta, çok kısa saplı, grimsi yeşil renkte yapraklar bulunur. Çiçekler, başak şeklindeki 15-20 cm uzunluğundaki sapların ucunda toplanmıştır. Her bir başakta ortalama 5 çiçek kümesi ve her kümede de 5-15 adet çiçek bulunur. Mavi renkli ve hoş kokulu olan lavanta çiçekleri özellikle bal arıları için son derece cazip edicidir (Ceylan, 1996). Çoğu Akdeniz orijinli olan 39 kadar lavanta türü (*Lavandula sp.*) bulunmaktadır. Dünyada ticari değeri yüksek olan üç önemli lavanta türü vardır. Bunlar, lavanta veya lavander (*L. angustifolia* Mill. = *L. officinalis* L. = *L. vera* DC), lavandin (*L. intermedia* Emeric ex Loisel. = *L. hybrida* L.) ve spike lavander (*L. spica* = *L. latifolia* Medik.)'dir. İngiliz lavantası olarak adlandırılan lavander çeşitlerinin uçucu yağ kalitesi, melez lavanta olarak adlandırılan lavandin çeşitlerinin ise uçucu yağ verimi daha yüksektir (Beetham ve Entwistle, 1982). Bu üç önemli tür dışında *L. dentata* (Fransız lavantası), *L. stoechas* L. (İspanya lavantası), *L. latifolia* Medik (Geniş yapraklı lavanta), *L. multifida* (Eğreltiotu yapraklı lavanta), *L. canariensis* (Kanarya adaları lavantası), *L.*

lanata (Yünlü lavanta), *L. heterophylla* ve *L. xallardii* (*L. dentata* x *L. latifolia* Medik.) gibi daha çok süs bitkisi, kesme çiçek ve potpori olarak yetiştirilen türler de vardır (Tucker, 1985).

Bitkilerin değişik gövde ve dal parçaları, meristematik dokuları, kökleri, yaprakları yada özelleşmiş veya değişikliğe uğramış gövde ve kök parçaları kullanılarak yapılan çoğaltmaya vegetatif çoğaltma denir (Ağaoğlu ve ark., 2001). Bir bitkiden kesilen köksüz dal, yaprak, göz, gövde ve kök parçalarına çelik denir. Bunların uygun çevre koşullarında köklendirilmesi ile yeni bitkilerin elde edilmesi işlemine de çelikle çoğaltma denir (Yılmaz, 1992). Çelikler genellikle yeşil çelik, odun çeliği veya kök çeliği olarak kullanılmaktadır. Odun çelikleri ile üretilemeyen türlerin ve anaçlarının yeşil çelikleri hormon ile muamele edilerek, rutubeti ayarlı seralarda, sisleme altında köklendirilir. Vejetatif yollarla üretilen yeni bitkiler, bitki kısmının alındığı ana bitkiye kalıtsal niteliklerle tıpatıp benzer bir bitkidir (Ürgenç, 1982). Çelikle çoğaltımda bazı lavanta türlerinin köklenme kabiliyeti düşüktür (Segura ve Calvo, 1991). Ayrıca çok sayıda fide elde etmek için uygun çelik elde edilmesinde zorluklarla karşılaşılması ve çeliklerin alınacağı büyük bir anaç bahçesine ihtiyaç duyulmaktadır. Çelikle üretimde yeterli miktarda oksin hormonu kullanılması, çeliklerin tabanına karbonhidratların taşınımını artırması ve adventif kök oluşumunu teşvik etmesi nedeniyle birçok türün çelikle köklendirilmesinde anahtar bir rol oynar (Hartmann ve ark., 1997). Özbek ve ark., (1961)'e göre, bitki büyümesini düzenleyici maddeleri çeliklere muamele etmenin amacı, çeliklerde kök oluşumunu sağlamak, köklenmeyi çabuklaştırmak ve çelik başına düşen kök sayısını arttırmaktır. Köklendirmede en yaygın kullanılan büyüme düzenleyici madde, oksin grubundan indolbütirik asit (IBA)'dır. IBA oksini yıkan enzim sistemleri tarafından yavaş parçalanmaktadır. Genelde bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımının (özellikle IBA) köklenme oranlarını önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Güneş, 1997). Tohumla üretimde ise genellikle gelişme yavaş olmakta, tohum çimlenme sorunları oluşabilmekte ve yabancı tozlaşma nedeniyle hem morfolojik olarak hem de uçucu yağ kompozisyonu gibi karakteristik özellikler bakımından da büyük varyasyonlar oluşmaktadır (Nogueira ve Romano, 2002).

Boyadzhieva ve ark. (1977), lavandinin, *L. angustifolia* x *L. latifolia* melezi olup, triploid genomlu ve steril olması sebebiyle tohum üretmediğinden tamamen vejetatif

olarak çoğaltılabildiğini ve bir yaşındaki yıllık sürgünlerden alınan 10 cm uzunluğundaki çeliklerin en iyi köklenen çelikler olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kara ve ark. (2011), farklı çelik alma dönemleri (Mart, Haziran, Eylül) ile IBA dozlarının (kontrol-0, 1000, 2000, 3000 ve 4000 ppm) biberiye (*Rosemary officinalis*), çöşdükotu (*Hyssopus officinalis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) çeliklerinin köklenmesine etkisini belirlemek amacıyla yürüttükleri araştırmada, çelik alma dönemleri ve IBA dozlarının etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu, biberiye, çöşdükotu ve adaçayında en yüksek köklenme oranını (sırasıyla % 85.0, 82.3 ve 81.0), kök sayısını (sırasıyla 28.8, 21.6 ve 10.6 adet/bitki) ve kök uzunluğunu (7.1, 6.1 ve 5.1 cm) Mart döneminde 4000 ppm IBA dozunda saptamışlardır.

Quazi (1980), tüm bitkilerde olduğu gibi lavantada anaç bitkilerin sınırlı veya yetersiz olduğu durumlarda ve bazı değerli çeşitlerin zayıf köklenme yeteneği olduğundan, fide ihtiyacını karşılamak üzere *in vitro* koşullarda mikroçoğaltıma ihtiyaç duyulduğunu, doku költürü tekniklerinden faydalanarak *in vitro* mikroçoğaltım yoluyla sağlıklı çok sayıda lavanta fidesi üretimi yapılabildiğini bildirmiştir.

Sanchez-Gras ve ark. (1996), *L. latifolia* bitkisinin koltukaltı tomurcuklarını, BA hormonu ve NAA ya da kinetin hormonu eklenmiş iki farklı hormon kombinasyonlar içeren ortamda költüre almışlardır. % 20 Hindistan cevizi sütü, 0.57 μ M IAA ve 8.88 μ M BA içeren ortamda alt költüre almışlardır. En iyi sonuçların, sürgün ortamı için 5 μ M BA içeren, köklenme için ise makrobessin elementli yarı katı MS ortamında ortaya çıktığını kaydetmişlerdir.

Jordan ve ark. (1998), *L. dentata* bitkisinin boğum parçalarını BA, kinetin ve NAA içeren ortamlarda költüre almışlardır. En yüksek oranda 5.0 μ M BA veya 20 μ M kinetin ortamında oluşan sürgünleri 8.8 μ M BA ve % 15 Hindistan cevizi sütü içeren ortama transfer etmişlerdir. Alt költür boyunca çoğalma frekansının önemli derecede başlangıç költür ortamındaki sitokinin konsantrasyonundan etkilendiğini gözlemlemişlerdir. Sürgünleri makrobessin elementli hormonsuz MS ortamında kolaylıkla köklendirmişler ve başarıyla toprağa aktarmışlardır.

Sudria ve ark. (1999), 5 mm uzunluğundaki *L. dentata* sürgün uçlarını eksplant olarak kullanmışlar, 0.1 mg/L BA ve IBA ihtiva eden besin ortamlarında başarılı bir şekilde mikroçoğaltım yapılabildiğini tespit etmişlerdir.

Rady ve Saker (2000), *L. angustifolia*'nın sürgün ucu eksplantlarını kullanarak *in vitro*'da en iyi sürgün gelişiminin 4.5 μ M BA ve farklı konsantrasyonlarda NAA içeren ortamlarda ve en yüksek köklenme oranının (% 94.1) 9.85 μ M IBA ortamında olduğunu gözlemlemişlerdir. Köklenen bitkilerden % 80 sağlıklı bitkiler elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Dias ve ark. (2002), *L. viridis*'in (11.69 sürgün / boğum) en yüksek sürgün oranının, yarı mukavemette makrobeseinler ile MS ortamında 0.67 μ M BA ile elde edildiğini belirtmiştir.

Echeverrigaray ve ark. (2005), *L. dentata* L.'nin en yüksek çoğalma hızının, 2.2 uM BA ve 2.5 uM IBA konsantrasyonu ile desteklenmiş MS ortamı kullanılarak elde edildiğini ve köklenme için en iyi ortamın MS ortamı artı 2.5 uM NAA olduğu belirtilmiştir.

Orhan (2007), *L. stoechas*'da *in vitro* kök oluşumu için IBA'nın farklı konsantrasyonları (0.1, 1.0 ve 2.0 mg/L) ile 1 mg/L NAA içeren MS ortamlarının kullanıldığı ön denemelerde kök sayısı bakımından en iyi ortamların NAA ortamı ile 0.1 mg/L IBA içeren MS ortamı olduğunu tespit etmiştir.

Tran Van Minh ve ark. (2017), *L. angustifolia*'da *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine yaptığı araştırmada, lavanta tohumları, 10 dakika içinde %75'lik Javel konsantrasyonunda en iyi şekilde dezenfekte edilmiştir. Bitki büyümesi için uygun ortam WPM olarak tespit edilmiştir. 0.1 mg/L BA, 30 g/L sükröz ile desteklenmiş WPM tomurcuk oluşturma işlemi için, 0.5 mg/L IAA konsantrasyonunun ise *in vitro* kültürde köklendirme işlemi için uygun olduğunu ifade etmişlerdir.

Mitrofanova ve ark. (2017) tarafından, 'Belyanka', 'Record' (lavanta) ve 'Rabat', 'Snezhnyi Bars' (lavandin) gibi önemli çeşitler tohumla çoğaltılamadığı için hastalık ve virüsten ari bir ortamda çoğaltmak amacıyla *in vitro* ortamda çoğaltılması hedeflenmiştir. Eksplantların sterilizasyon işlemi yapıldıktan sonra 0.3 mg L-kinetin, 0.025 mg L-NAA ve 0.25 mg L-GA3 ile hazırlanmış olan MS ortamında kültüre

alınmıştır. Kültüre alınan eksplantlar 16 saatlik fotoperiyot altında 25 ± 1 °C’de iklim kabinine alınmıştır. 4-5 ay boyunca bitkilerin gelişimi gözlemlenmiştir. Bitkilerin biyoteknolojik ve genetik özelliklerini incelemek amacıyla bazı biyokimyasal stres faktörleri, fotosentetik aktivite indeksleri ve su ihtiyaçları incelenmiştir. Açık alanda yetiştirilen bitkiler askorbik asit, fenolik bileşikler bakımından zengin ve redoks enzimlerinin (katalaz, polifenol oksidaz, süperoksit dismutaz) aktif olduğu gözlemlenmiştir. Açık alanda yetiştirilen bitkilerin yaprak dokusu hidrasyon miktarı % 56-62 olarak saptanmıştır. İn vitro ortamına alınan bitkilerde askorbik asit ve fenolik bileşiklerin değeri daha düşük, kültüre alınmayan bitkilerde ise enzimatik aktivite ve prolin konsantrasyonu daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Fotosentetik aktivitede ve canlılık indeksinde, fotoinhibisyon olmadığı gözlemlenmiştir. Lavandin çeşitlerinin çeşitli kültür koşullarında geniş bir kullanım için daha iyi kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur.

Baydar (2012), lavanta (*L. angustifolia* var. Silver) ve lavandin (*L. x intermedia* var. Super A) çeşitlerinde *in vitro* mikropagasyon üzerine farklı etkilerini araştırmak için yapılan bu çalışmada lavanta bitkisinin farklı eksplantlarından sürgün ucu ve kök boğumları *in vitro* ortamına alınmıştır. Sürgün oluşumu aşamasında 2.2 µM BAP + 2.5 µM IBA kullanılırken, köklenme aşamasında 2.5 µM NAA içeren MS ortamı kullanılmıştır. Kültüre alınan eksplantlar 16 saatlik ve 3000 lux ışık yoğunluğu altında 25 ± 2 °C’ de iklim kabininde gözlemlenmiştir. Her iki aşamada da büyüme gösteren eksplantlarda sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kök yoğunluğu, köklü bitki ağırlığı ve sağ kalım oranları ölçülmüştür. Elde edilen istatistik sonuçları “Super A” çeşidinin sürgün ucu eksplantından elde edilen en uzun sürgün (5.80 cm) olduğu, en yüksek kök ağırlığının ise; (1.06 g bitki-1) “Gümüş” çeşidinde olduğu saptanmıştır. Sürgün ucu eksplantında ve en yüksek sürgün sayısı tutma oranı ve kök boğumu eksplantında (1 eksplantta sırasıyla 1.58 sayı ve % 66.9) olduğu saptanmıştır.

Andrysa (2017), bu çalışma, doku kültüründe kullanılan ortamlara eklenen jasmonik asit konsantrasyonunun uçucu yağ bileşimi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla kullanılmıştır. *Lavandula angustifolia* uçucu yağlarının bileşimi üzerine kültür ortamına asit ilave edilmiştir. Kimyasal bileşim kütle detektörüne (GC/MS) birleştirilmiş gaz kromatografisi ile belirlenmiştir. Deney, artan JA konsantrasyonu (0.2, 0.5, 1, 1.5 mg · dm-3) ile takviye edilmiş MS ortamı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen

uçucu yağların, ortamdaki JA içeriğine bağlı olarak kimyasal bileşim açısından değiştiği bulunmuştur. Elde edilen tüm uçucu yağlar, σ -cadinen (% 17.06-29.64), borneol (% 6.66-17.47), karyofilen oksit (% 8.30-14.01), τ -cadinol (% 4.87-9.16), beta- karyofillen (% 3.54-6.57), 1.8-sineol (% 1.94-5.87), β -pinen (% 1.48-3.05), sardunil asetat (% 0.56-2.14) ve mirtenal (% 0.65-2.14) konsantrasyonunda bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

Parkash ve ark. (2017), *Lamiaceae* familyasına ait *L. angustifolia* L.'nin büyük oranda çoğalması için *in vitro* ortamında bir çalışma yürütmüşlerdir. Kültüre alınan bitkilerden 5 gün sonra sonuçlar kaydedilmiştir. En iyi sonuçlar 28. günün sonunda elde edilmiştir. Sonuçların yorumlanması için 10dal ve yaprak sayısı ve büyümesi ölçülmüştür. Maksimum yaprak uzunluğu (118 mm), sap / sürgün ucu eksplantları ile 15 mg / L IBA'da bulunmuştur. Halbuki 0.2 mg / L, 1.0 mg / L, 5.0 mg / L IBA gibi diğer konsantrasyonlar, toplam dal uzunluğunun sırasıyla 96 mm, 102 mm ve 101 mm olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla 15 mg / L IBA, *L. angustifolia*'nın *in vitro* kültürlenmesi için en iyi konsantrasyon olduğu gözlemlenmiştir. Öte yandan, sap / sürgün ucu eksplantları ile 2.0 mg / L BAP'de maksimum yaprak uzunluğu (142 mm) bulunmuştur. Oysa 4.0 mg / L, 6.0 mg / L, 8.0 mg / L BAP gibi diğer konsantrasyonlar, toplam yaprak uzunluklarını sırasıyla 119 mm, 96 mm ve 84 mm olarak göstermiştir. Dolayısıyla 2.0 mg / L BAP, *L. angustifolia*'nın *in vitro* mikroçoğaltımı için en iyi konsantrasyon olmuştur. Ancak 2.0 mg / L BAP konsantrasyonu, bu konsantrasyonda daha fazla yaprak uzunluğu büyümesi gözlemlendiğinden ve 15 mg / L IBA konsantrasyonundan eksplantlar daha iyi gelişme gösterdiğinden iki ortam karıştırılarak yeni bir ortam oluşturulmuştur. Hazırlanan yeni MS ortamına 2.0 mg / L BAP + 15 mg / L IBA ile takviye edilmiş, en çok kallusun elde edildiği konsantrasyon olmuştur.

Mitrofanova (2017), *L. angustifolia* var. *Belyanka* çeşidinde *in vitro* ortamda yeni bir hibrit bitki oluşturmak ve çoğaltmak amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Eksplantlar 0.5-0.7 mm uzunluğunda meristemler apikal tomurcukların uçlarından izole edilmiştir. Eksplantların geliştirilmesi için, büyüme düzenleyicileri ile MS kültür ortamına yerleştirilmiştir. Virüs enfeksiyonun giderilmesi için 5-20 mg L⁻¹ ribavirin kullanılmıştır. Meristem gelişiminin 6 gün sonra başladığı gözlemlenmiştir. Kültüre alınan en iyi eksplant gelişimi daha düşük MS ve hormon düzenleyicileri konsantrasyonlarında olduğu gözlemlenmiştir. MS ortamı içerisinde 0.3 mg L⁻¹ kinetin, 0.025 mg L⁻¹ NAA ve 0.25 mg L⁻¹ GA3 ile birden fazla sürgün geliştirilmiştir. 1.5-2 ay

sonra, hibrid çoğaltma oranı N° 83-91 eksplant başına sürgün sayısı 9.8 ve 18.5 ve sürgünlerin uzunluğu sırasıyla 3.8 ve 3.12 cm olarak ölçülmüştür. Mikroproagasyon sırasında sürgünlerin kendiliğinden köklenmesi gözlenmiştir.

Andrade ve ark. (1999), çalışmada, büyüme düzenleyicilerinin *L. vera* DC'nin *in vitro* ortamda sürgün çoğaltma ve köklenmesi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla çalışılmıştır. Bitkilerden alınan boğum parçaları MS ortamında kullanılmıştır. En yüksek çoğalma oranı, 1.0 mg 1- TDZ (2.25 M) veya BA (2 M) ile takviye edilmiş MS ortamı kullanılarak elde edilmiştir. Bu büyüme düzenleyicilerinin yüksek konsantrasyonlarında hiperhidriklik olduğu gözlemlenmiştir. Değerlendirilen tüm ortamlarda bitkilerin köklenmesi elde edilmiştir. Bununla birlikte, artan NAA konsantrasyonları ve ortamın tuz kuvvetinin azalması ile köklenme oranları ve kök büyümesi artmıştır. Fidanlar başarılı bir şekilde toprağa aktarılmış ve olgunlaşarak büyümüştür. Bitkiler normal homojen bir gelişme göstermiş ve somaklonal varyasyon tespiti gözlemlenmemiştir.

Lavantada doku kültürü üzerinde mikroçoğaltım yapıldığına dair çok az rapor bulunmaktadır. Mikroçoğaltım çalışmaları hakkında mevcut araştırmalar, mikroçoğaltım için uygun eksplantları ve ortamları tanımlamak için yapılmıştır. Ancak, yapılan bu çalışma ile çalışmayla mikroçoğaltım için uygun eksplant ve ortamları tanımlamanın yanı sıra, doku kültürüne tepki açısından genotipler arası farklılıklar var mıdır? sorusuna cevap bulunmaya çalışılmıştır. Doku kültürüyle çoğaltım yapabilmek için belirli bir genotip seçme zorunluluğumuz var mıdır? Sorusunun cevabı ortaya konulmuştur. Kullanılan genotipler yenidir, bize aittir ve çeşit adaylarıdır (Gülşen ve ark.). Ülkemizde yerli lavanta çeşitleri henüz tescil edilmemiştir. Bu nedenle sunulan bu tez çalışmasının özgün değeri yüksektir.

3. BÖLÜM

MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Doku kültüründe mikroçoğaltım amacıyla, Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde generatif çoğaltım ile açılımı oluşturulmuş olan ve bir doktora tez çalışması kapsamında da kullanılan (Dalda Şekerci, 2019) lavanta popülasyonu içerisinde görünüş bakımında üstün özelliklere ve yağ özelliklerine sahip 10 genotip (57, 92, 98, 112, 114, 135, 152, 161, 182, 183) belirlenmiştir. Bunlar daha sonraki dönemlerde üstün özellikleri nedeniyle çeşit adayları olabilir.

3.2. Metod

3.2.1. Örneklerin Alınması

Belirlenen örneklerin taze sürgünleri araziden alınarak doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir. Daha sonra eksplantlar besi ortamına alınmak üzere sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

3.2.2. Eksplantların Yüzey Sterilizasyonu

Sterilizasyon için, kullanılan lavanta sürgünleri kesilmiştir. Kesilen sürgünler behere alınmış ve 25 dk musluk suyu altında yıkanmıştır. Beherlere lavanta boylarını biraz geçkin su konulmuştur. 5-6 damla Tween-20 çözeltisi damlatılarak 1 dakika karıştırılmıştır. Köpük gidene kadar çeşme suyu altında yıkanmıştır. Steril kabine alınan lavanta sürgünleri, %70'lik alkolle 1 dakika yıkanmıştır. Daha sonra saf sudan geçirilmiştir. 0.1 gram civayla 10 dakika karıştırılarak yıkanmıştır. En son lavanta sürgünleri her biri 5'er dakika olmak üzere 3 kez saf sudan geçirilmiştir.

Yüzey sterilizasyonu tamamlanan sürgün parçalarının, boğum kısımları steril cam üzerinde pens ve bisturi yardımıyla kesilmiş ve eksplantlar besin ortamına dikey olarak yerleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan pens ve bisturiler kullanılmadan önce sterilizasyon için alüminyum folyoya sarılmış ve otoklavda 120°C’de 20 dakika bekletilmiştir.



Şekil 2. Eksplantların Sterilizasyonu

3.2.3. Besin Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Sürgün ortamı: Bu konuda daha önceki makaleler dikkate alınarak araştırma yapılmış ve başarı elde edilen konsantrasyonlar uygulamaya alınmıştır. 30 g/L 13sakkaroz, 2 mg/L BAP, 1.5 g/L aktif karbon; 4.3 g/L MS ortamı 1 L saf su ile karıştırılmıştır. Büyüme düzenleyici maddeler içeren besin ortamlarının pH’sı NaOH ve HCl yardımıyla 5.8’e ayarlanmıştır. En son 6 g/L agar eklenerek, kullanılan erlenlerin üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak, otoklava atılmıştır. Otoklavdan çıkarılan ortam kavanozlara bölünerek ortamların katılaşmaları beklenmiştir. Ortamlar katılaştıktan sonra sterilize edilmiş eksplantlar büstiri yardımıyla kesilerek hazırlanan ortamlara dikilmiştir. Bu yapılan çalışmada aktif karbon kullanılmadan denemeleri yapılmış ancak lavantanın içeriği fenolik maddeler bozulmaya kontaminasyona sebep olduğundan başarı elde edilememiştir.



Şekil 3. Eksplantların kesilerek ortama alınması

3.2.4. İklim Kabini Ortamının Şartları

İklim kabininin ışığı $35 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (yaklaşık 3200 lüks) ışık yoğunluğunda, ortam sıcaklığı 24 ± 1 °C olacak şekilde ayarlanmış ve fotoperiyot (zamanlayıcı yardımıyla 16/8 saat ışık/karanlık) uygulanmıştır.



Şekil 4. Eksplantların iklim kabinindeki görüntüsü

3.2.5. İncelenen Parametreler

EETSS; Elde edilen toplam sürgün sayısı, her genotip için sürgün sayıları toplanarak elde edilmiştir.

KBSS; Kavanoz başına sürgün sayısı, Her genotip için toplam sürgün sayısı kavanoz sayısına bölünerek elde edilmiştir.

TKS; Toplam kontaminasyon sayısı, her genotip sayısındaki kontaminasyon sayıları toplanarak elde edilmiştir.

KBKS; Kavanoz başına kontaminasyon sayısı, Her genotip için toplam kontaminasyon sayısı kavanoz sayısına bölünerek elde edilmiştir.

4. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, doku kültürü ortamında mikroçoğaltım amacıyla, Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde generatif çoğaltım ile oluşturulmuş olan lavanta popülasyonu içerisinde yüksek süs bitkisi ve yağ özelliklerine sahip 10 genotip (161, 182, 183, 114, 112, 98, 152, 57, 92) eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.

4.1. Eksplantların Sürgün Oluşturması

Eksplantlar sürgün oluşturmak için hazırlanan ortama alınmıştır. Bu çalışmada 20 küçük kavanoz kullanılmış ve her bir kavanoza 1-2 adet eksplant dikilmiştir. Sürgün oluşturmak için belli oranlarda hormon kullanılarak hazırlanan MS ortamında farklı genotipteki eksplantların *in vitro* ortamda gelişimleri gözlemlenmiş ve not edilmiştir. Eksplantların genotiplerine göre gelişimleri ve kontaminasyon durumu Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Doku kültürü kullanılarak 10 adet lavanta genotipiyle yapılan çelik kültürü ve kültüre alınan kavanoz sayısı, sürgün oluşturma ortamından elde edilen toplam sürgün sayıları ve kontaminasyon durumu

Genotip	KAKS	EETS	KBSS	TKS	KBKS
57	20	1	0.05	4	0.2
114	20	16	0.8	-	0
92	20	19	0.95	1	0.05
135	20	3	0.15	10	0.5
98	20	2	0.1	4	0.2
112	20	10	0.5	-	0
182	20	8	0.4	2	0.1
183	20	4	0.2	8	0.4
161	20	15	0.75	2	0.1
152	20	12	0.6	-	0
Maksimum		19	0.95	10	0.5
Minimum		1	0.05	1	0
Ortalama		9.17	0.45	4.6	0.17

*KAKS; Kültüre alınan kavanoz sayısı, EETS; Elde edilen toplam sürgün sayısı, KBSS; Kavanoz başına sürgün sayısı, TKS; Toplam kontaminasyon sayısı, KBKS; Kavanoz başına kontaminasyon sayısı

Her bir genotip için kültüre alınan kavanoz sayısı KAKS olarak 20 kullanılmıştır. Kültüre alınan kavanoz sayısı bakımından en üstün üç genotip sırasıyla 19 sürgünle 92 numaralı genotip, 16 sürgünle 114 numaralı genotip, 15 sürgünle 161 numaralı genotip olmuştur. Elde edilen verilere göre maksimum EETS 19 olup 92 genotipinde gözlenmiştir. Minimum elde edilen toplam sürgün sayısı (EETS) ise 1 olup 57 genotipinde gözlenmiştir. Genotiplerin ortalama EETS sayısı ise 9.17 olmuştur. Maksimum kontaminasyon sayısı 10 olup 135 genotipidir. Minimum kontaminasyon sayısı 1 olup 92 genotipidir.

Rady ve Saker (2000), *L. angustifolia*'nın sürgün ucu eksplantlarını kullanarak *in vitro*'da en iyi sürgün gelişiminin 4.5 μ M BA ve farklı konsantrasyonlarda NAA içeren ortamlarda ve en yüksek köklenme oranının (% 94.1) 9.85 μ M IBA ortamında olduğunu gözlemlemişlerdir. Sudria ve ark. (1999), 5 mm uzunluğundaki *L. dentata* sürgün uçlarını eksplant olarak kullanmışlar, 0.1 mg/L BA ve IBA ihtiva eden besin ortamlarında başarılı bir şekilde mikroçoğaltım yapılabildiğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da kullanılan BA hormonuna ek olarak aktif karbon kullanılmıştır. Tez çalışmada farklı lavanta genotiplerinin, genotipi etkisi sonucunda farklı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Bununla beraber besin ortamlarına aktif karbonun ilave edilmesiyle bitkilerin sürgün ve kök oluşturmada başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen maksimum sürgün sayısı 19 adet olan 92 genotipinden olmuştur.

4.2. Kardeşlenme Aşaması

Sürgün aşamasından elde edilmiş olan 57, 92, 98, 112, 114, 135, 152, 161, 182, 183 numaralı genotiplerden sadece aşağıdaki Çizelge 4'de bulunan 6 genotipten alınan sürgünler 2 boğumlu olarak WPM ortamına aktarılmış ve 21 gün beklenilmiştir. Sürgünlerin toplam kardeşlenme ve kontaminasyon durumu aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 4. Sürgünlerin toplam kardeşlenme ve kontaminasyon durumu

Genotip	EETSS	EETKS	'KBKS	TKS	KBKS
92	19	107	5.7	84	4.4
112	10	17	1.7	10	1
114	16	23	1.4	12	0.75
98	2	10	5	5	2.5
182	8	14	1.75	12	1.5
161	15	70	4.7	60	4
Maksimum	19	107	5.7	84	4.4
Minimum	2	10	1.4	5	0.75
Ortalama	11.35	44.75	3.41875	34	2.4125

*EETSS; Elde edilen toplam sürgün sayısı, EETKS; Elde edilen toplam kardeş sayısı, 'KBKS; Kavanoz başına düşen kardeş sayısı, TKS; Toplam kontaminasyon sayısı, KBKS; Kavanoz başına kontaminasyon sayısı

Elde edilen verilere göre maksimum kardeşlenme sayısı 107 olup 92 genotipidir. Minimum kardeşlenme sayısı 10 olup 98 genotipidir. Genotiplerin ortalama kardeş sayısı 44.75 olarak elde edilmiştir. Maksimum kontaminasyon sayısı 84 olup 92 genotipidir. Minimum kontaminasyon sayısı 5 olup 98 genotipidir. (Şekil 5.)



Şekil 5. Eksplantların büyümesi ve kardeşlenmesi

Echeverrigaray ve ark. (2005), *Lavandula dentata* L.'nin en yüksek çoğalma hızının, 2.2 uM BA ve 2.5 uM IBA konsantrasyonu ile desteklenmiş MS ortamı kullanılarak

elde edildiğini ve köklenme için en iyi ortamın MS ortamı artı 2.5 uM NAA olduğu belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise kardeş oluşturmak için WPM ortamına BA hormonu eklenerek hazırlanmıştır. Kardeş oluşturma ortamında yüksek oranda 107 adet olup 92 genotipinden kardeşlenme elde edilmiştir.

Jabbarzadeh ve Khosh-Khui (2005), 2,5-3 mg / l BA ve 0.1 mg / l IBA konsantrasyonunun, şam gülünde çoğalma için en uygun ortam olduğunu bulmuştur. Sürgünlerin köklenmesi için en iyi ortam, MS ortamında 2 hafta boyunca 2,5 mg / l 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) olduğu gözlenmiş ve daha sonra eksplantları herhangi bir büyüme düzenleyicisi olmadan MS ortamına transfer edilmiştir.

4.3. Köklendirme Aşaması

Bu konuda daha önceki makaleler dikkate alınarak araştırma yapılmış ve başarı elde edilen konsantrasyonlar uygulamaya alınmıştır.

Kardeşlenme aşamasından elde edilmiş olan 6 genotiplerin kavanozlarından alınan sürgünler WPM ortamına aktarılmıştır. Daha sonra burada 1 ay süreyle köklenmeye bırakılmıştır. Köklendirme aşamasından sonra elde edilen bitkiler torf bulunan saksılara alınarak fideler oluşturulmuştur (Çizelge 5)

Çizelge 5. Genotiplerin köklenme sayıları

Genotipler	EETKS	Kök var	KBKTS	Kök yok	KBKS
98	10	1	0.1	-	0
182	14	2	0.14	-	0
112	17	-	0	1	0.05
161	70	5	0.07	4	0.05
114	23	1	0.04	2	0.08
92	107	6	0.05	3	0.02
Maksimum	107	6	0.14	4	0.08
Minimum	10	1	0	1	0
Ortalama	44.75	3.14	0.07	2.5	0.035

EETKS; Elde edilen toplam kardeş sayısı, KBKTS; Kavanoz başına kök tutma sayısı, KBKS; kavanoz başına köklenmeme sayısı

Yukarıdaki tabloda lavanta genotiplerinden elde edilen köklenme sayıları verilmiştir. Elde edilen verilere göre ortama en iyi adapte olan genotip kök oluşturma sayısı 6 olan 92 genotipidir. Köklenmesi en düşük olan genotip ise kök oluşturma sayısı 1 olup 98 genotipinde gözlemlenmiştir. Genotiplerin köklenme ortalaması 3.14 olarak belirlenmiştir.

Quazi (1980) tüm bitkilerde olduğu gibi lavantada anaç bitkilerin sınırlı veya yetersiz olduğu durumlarda ve bazı değerli çeşitlerin zayıf köklenme yeteneği olduğundan, fide ihtiyacını karşılamak üzere *in vitro* koşullarda mikroçoğaltıma ihtiyaç duyulduğunu, doku kültürü tekniklerinden faydalanarak *in vitro* mikroçoğaltım yoluyla sağlıklı çok sayıda lavanta fidesi üretimi yapılabildiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda 500'ün üzerinde lavanta genotipinden yağ ve süs bitkisi potansiyeli yüksek 10 adet genotip kullanılarak çoğaltılması nispeten kolay lavanta genotipleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Sanchez-Gras vd. (1996), *L. Latifolia* bitkisinin koltukaltı tomurcuklarını, BA'ya NAA ya da kinetin eklenmiş iki farklı makrobesin elementli kombinasyonlar içeren ortamda kültüre almışlardır. % 20 Hindistan cevizi sütü, 0.57 μ M IAA ve 8.88 μ M BA içeren ortamda alt kültüre almışlardır. En iyi sonuçların, sürgün ortamı için 5 μ M BA içeren, köklenme için ise makrobesin elementli yarı katı MS ortamında ortaya çıktığını kaydetmişlerdir.

Orhan (2007) *L. Stoechas*'da *in vitro* kök oluşumu için IBA'nın farklı konsantrasyonları (0.1, 1.0 ve 2.0 mg/L) ile 1 mg/L NAA içeren MS ortamlarının kullanıldığı ön denemelerde kök sayısı bakımından en iyi ortamların NAA ortamı ile 0.1 mg/L IBA içeren MS ortamı olduğunu tespit etmiştir. Yaptığımız çalışmada ise BA hormonuna ek olarak aktif karbon kullanılmıştır. Kök oluşturma ortamından yüksek oranda köklenme elde edilmiştir. **Boyadzhieva ve ark. (1977)** lavandinin, *L. Angustifolia* x *L. Latifolia* melezi olup, triploid genomlu ve steril olması sebebiyle tohum üretemediğinden tamamen vejetatif olarak çoğaltılabildiğini ve bir yaşındaki yıllık sürgünlerden alınan 10 cm uzunluğundaki çeliklerin en iyi köklenen çelikler olduğunu gözlemlemişlerdir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ise doku kültüründe genotipler arasında karşılaştırmalı bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar gelecekte lavanta ve akrabalarında yapılacak doku kültürü, mikroçoğaltım ve diğer çalışmalara yol gösterebilecektir.

Ülkemizde 2012-2016 yılları arasında lavanta alanları 10 kattan fazla, lavanta lağı üretimi ise yaklaşık 5 kat artmıştır (Çizelge 1). Bu alanlarda kullanılan çeşitler yabancı çeşitlerdir ve çoğu durumda herhangi bir ıslahçı/patent hakkı ödenmemekle birlikte ülkemiz koşullarına daha iyi adapte olabilen çeşitler ıslahçılar tarafından geliştirilebilir. Bizim çalışmamızda kullanılan lavanta genotipleri Gülşen ve ark. tarafından geliştirilmiş ve doktora tez çalışması kapsamında (Dalda-Şekerci, 2019) özellikleri değerlendirilmiştir. Bu yüksek lisans çalışması kapsamında mevcut çalışmanın daha ileriye götürülmesi amacıyla yapılmıştır ve lavanta üretim ve tesisi bakımından önemli olabilir.



5. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

In vitro'da lavantada genotipler arasında karşılaştırmalı çalışmalar literatürde yeterli değildir. Ayrıca farklı lavanta genotiplerinin doku kültürü şartları altında performansları farklılık gösterebilir. Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünce üstün özellikli lavantaları da içeren bir populasyon bulunmaktadır ve bunlardan bazıları yerli lavanta çeşit adayı olabilir. Bu çalışma kapsamında kullanılan bu *L. angustifolia* genotiplerinde sürgün oluşturma, kardeş oluşturma ve köklenme durumu bakımından doku kültürü ortamına en uygun olan genotipler araştırılmış ve en hızlı çoğaltılabilen genotipin 92 genotipi olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre ortama en iyi adapte olan 92 genotipidir. Bu genotip kontaminasyon oranı bakımından da oldukça düşük olduğu gözlemlenmiş bu da sonraki *in vitro* lavanta çalışmalarımızda bize kolaylık sağlayacaktır. Bundan dolayı 92 genotipi *in vitro* çalışmalarında kullanılmaya uygundur. Bu çalışmada kullanılan lavanta genotiplerinin *in vitro* ortamda farklı tepki gösterdikleri sonucuna varılmıştır. Bu çalışma önceki çalışmaları destekler niteliktedir.

Elde edilen verilere göre maksimum sürgün sayısı 19 adet olup 92 genotipten elde edilmiştir. Minimum sürgün sayısı 1 adet olup 57 genotipidir. Genotiplerin ortalama sürgün sayısı 9.17 adet olarak elde edilmiştir. Maksimum kontaminasyon sayısı 10 tane olup 135 genotipidir. Minimum kontaminasyon sayısı 1 adet olup 92 genotipidir.

Elde edilen verilere göre maksimum kardeşlenme sayısı 107 adet olup 92 genotipidir. Minimum kardeşlenme sayısı 10 adet olup 98 genotipidir. Genotiplerin ortalama kardeş sayısı 44.75 olarak elde edilmiştir. Maksimum kontaminasyon sayısı 84 adet olup 92 genotipidir. Minimum kontaminasyon sayısı 5 adet olup 98 genotipidir.

Elde edilen verilere göre ortama en iyi adapte olan genotip kök oluşturma sayısı 6 olan 92 genotipidir. Köklenmesi en düşük olan genotip ise kök oluşturma sayısı 1 olup 98 genotibi olduğu elde gözlemlenmiştir. Genotiplerin köklenme ortalaması 3.14 olarak belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasıyla seçilen lavanta genotiplerinin doku kültürüne tepki açısından farklı olduğu gözlemlenmiştir. İn vitro için uygun olarak seçilen genotipler çoğaltımı kolaylaştıracağı kanısındayız. Bu çalışmada lavanta bitkilerinin *in vitro* ortamda kullanılan BAP ve BA hormonları lavanta eksplantlarının büyüme ve gelişmesinde etkili olduğu saptanmış ve bu bilgiler ışığında sonraki çalışmalarda da lavanta bitkileri için uygun protokoller hazırlanarak kullanılmasının başarıyı artıracığı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y. S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A. İ. ve Yanmaz, R., 2001. Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğ. Ar. ve Gel., Vakfı Yayınları No: 5 Ankara
- Andrade, L.B.; Echeverrigaray, S.; Fracaro, F.; Pauletti, G.F. and Rota, L. (1999). The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (*Lavandula vera* DC). Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 56: 79-83.
- Andryushchenko, V. K., Sayanova, V. V., Zhuchenko, A. A. (1981). Modification of the method of proline determination to identify drought-resistant forms of *Lycopersicon* Tourn. Math. **AN MSSR**, 4, 55-60.
- Bajaj, Y.P.S., Furmanowa, M., Olszowska, O., 1988. Biotechnology of the micropropagation of medicinal and aromatic plants. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, 4:60-103.
- Baydar H., Erbaş, S. 2007. Effects of harvest time and drying on essential oil properties in lavandin (*Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.). *I. International Medicinal and Aromatic Plants Conference on Culinary Herbs*, 29 April - 4 May 2007, Antalya-Turkey.
- Baydar, H., 2010. Beyoğlu'na lavanta Isparta'dan gitmelidir. **Tarım Aktüel Dergisi** 15:62-63.
- Beetham J., Entwistle T., 1982. The Cultivated Lavenders. Royal Botanic Gardens, Melbourne.
- Bertram, T. (1982). Encyclopedia of Herbal Medicine, 1st ed., Grace Publishers, Dorset.
- Boyadzhieva, B., Zlatev, S., Koseva, D., Decheva, R., 1977. Studies on the vegetative propagation of lavender. **Rasteniev dni-Nauki**. 14(6):77-85.
- Ceylan, A., 1996. Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 481, İzmir.

- Dalda-Şekerci, A. (2019), Süs bitkisi potansiyeli yüksek olan lavanta genotiplerinin (Lavandula sp.) belirlenmesi, moleküler, morfolojik ve bazı fitokimyasal özelliklerinin karakterizasyonu. Erciyes Üniv. Fen Bil. Ens. Dokt. Tezi.
- Dias, M.C.; Almeida, R and Romano, A. (2002). Rapid multiplication of *Lavandula viridis* L. through in vitro axillary shoot proliferation. **Plant Cell, Tissue and Organ culture** **68**: 99-102.
- Echeverrigaray, S.; Basso, R. and Andrade, L.B. (2005). Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants. **Biologia Plantarum**. **49** (3): 439-442.
- Guenther, E., 1952. The Essential Oils, R.E. Krieger Pub. **Co.** 5:3-38.
- G ne , M., 1997. Tokat y resinde doğal olarak yeti en ku burnuların (Rosa spp.) seleksiyon yoluyla ıslahı ve çelikle  oğaltılması üzerine bir ara tırma.(Doktora Tezi, basılmamı ). YY , Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F., Geneve, Y.R., 1997. Plant Propagation: Principles and Practices. 6th ed. S.770, Prentice-Hall, Upper Saddle River. New Jersey.
- Hui, L., He, L., Huan, L., Lan, L.X., Guo, Z.A., 2010. Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitisrelated bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, **4** (4):309-313
- Jordan, A. M., Calvo, M. C., Segura, J., 1998. Micropropagation of adult Lavandula dentata plants. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, **73** (1):93-96.
- Kara, N., Baydar, H., Erba , S., 2011. Farklı  elik alma dönemleri ve IBA dozlarının in vivo ko ullarında bazı tıbbi bitkilerin köklenmesi üzerine etkisi. *IX. Tarla Bitkileri Kongresi*, 12-15 Eylül 2011, Bursa.
- McGimbsey, J.A., Porter, N.G., 1999. Lavender: A Grower’s Guide for Commercial Production. New Zealand Institute for Crop&Food Research Ltd., New Zealand.

- Mitrofanova, O. V., Mitrofanova, I. V., Lesnikova-Sedoshenko, N. P., Ivanova, N.N. (2014). Use of biotechnological methods in plant cleaning up and diseasefree planting material propagation of promising ornamental crops. *Collection of Scientific Works SNBG*, 138, 5-56.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant**, 15: 473-479.
- Orhan, S., 2007. Karabaş otu (*Lavandula stoechas* L.) bitkisinin farklı in vitro besin ortamlarında kültüre alınması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Quazi, M.H., 1980. In vitro multiplication of *Lavandula* spp. *Ann Bot.* 45:361-262.
- Rady, M. R., Saker, M., 2000. Micropropagation of *Lavandula officinalis* L. through shoot tip culture of mature Plants. **Egyptian Journal of Horticulture**, 27(3):305- 314.
- Sanchez-Gras, M.C., Calvo, M., Del, C., 1996. Micropropagation of *Lavandula latifolia* through nodal bud culture of mature plants. **Plant Cell, Tissue Organ Cult.**, 45(3):259-261.
- Segura, J. and Calvo, M.C. 1991. *Lavandula* spp. (Lavender): in vitro culture, regeneration of plants and formation of essential oils and pigments. In: YPS Bajaj (ed) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 15: 283-310, Medicinal and Aromatic Plants III, Springer-Verlag, Berlin.
- Sudria, C., Pinol, M.T., Palazon, J., Cusido, R.M., Vila, R., Morales, C., Bonfill, C., Canigueral, S., 1999. Influence of plant growth regulators on the growth and essential oil content of cultured *Lavandula dentate* plantlets. **Palant Cell, Tissue and Organ Culture** 58:177-184.
- Takano, T.; Oak, K. and Kawabata, M. (1990). Germination characteristics of herb seeds in labiatae. **Journal of Scientific Reports of the Faculty of Agriculture - Meijo University**. 26: 17-24.
- Tucker, A.O., 1985. Lavender, spike and lavandin. **The Herbarist**, 51, 44-50.
- Ürgeç, S., 1982. Orman Ağaçları Islahı. İ.Ü. Orman Fak., Yayınları. 293:280-290.
- Yılmaz, M., 1992. Modern Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği. Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Bilge AYDIN
Uyruğu : Türkiye(TC)
Doğum Tarihi ve Yeri : 30 Temmuz 1995,Kayseri
Medeni Durumu : Bekar
Tel : 05071917137
Email : blge5070@gmail.com
Adres : Kocatepe mah. Topraklı sit. 3025. Sokak. Kardelen apt.
13/21 Melikgazi- Kayseri

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	ERÜ Seyrani Ziraat Fakültesi	2017
Lise	Arif Molu A.T.L-E.M.L	2013