

## Tunceli Sarımsağı (*Allium tuncelianum*) Tohumlarının *In Vitro* Koşullarda Çimlendirilmesi ve Bitki Gelişimi Üzerine GA<sub>3</sub> Uygulamalarının Etkisi

Hasibe YILDIZ<sup>1\*</sup>, Selçuk BİNİCİ<sup>2</sup>, Bekir ŞAN<sup>2</sup>, Fatma YILDIRIM<sup>2</sup>, İsa TELCİ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Isparta

<sup>2</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Isparta

<sup>3</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Isparta

\*Sorumlu Yazar: [hasibeyldz@gmail.com](mailto:hasibeyldz@gmail.com)

Geliş Tarihi: 25.05.2022 Düzeltme Geliş Tarihi: 21.06.2022 Kabul Tarihi: 05.07.2022

### Öz

Tunceli sarımsağının kültüre alınarak üretiminin yapılabilmesi için tohumlarındaki çimlenme sorunun ortadan kaldırılması gerekmektedir. Bu çalışmada Tunceli sarımsağı tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlenmesi ve çoğaltılması üzerine GA<sub>3</sub> uygulamalarının etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Tunceli sarımsağı tohumlarının sterilizasyonu amacıyla 4 farklı sodyum hipoklorit dozu denenmiş ve en başarılı sonuç tohumların %10 sodyum hipoklorit içerisinde 10 dakika + %20 sodyum hipoklorit içerisinde 20 dakika çalkalanmasıyla elde edilmiştir. Tohum çimlendirme denemesinde MS ortamı (Murashige ve Skoog, 1962) kullanılmıştır. Araştırmada bitki büyüme düzenleyicisi olarak gibberellik asidin (GA<sub>3</sub>) 4 farklı (0,5, 1, 1,5 ve 2 mg l<sup>-1</sup>) konsantrasyonu incelenmiştir. Araştırmada en iyi çimlenme 2. ayda % 33,34 oranıyla 0,5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> uygulamasında tespit edilmiştir. Çalışmada en yüksek sürgün sayısı (5 adet) 0,5 ile 1 mg l<sup>-1</sup> içeren MS ortamında tespit edilirken en düşük sürgün sayısı (2 adet) kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. Soğan sayısı bakımından değerlendirildiğinde ise 1 ve 1,5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren MS ortamlarının ön plana çıktığı belirlenmiştir. Kök sayısı açısından en iyi doz 1,5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren uygulamada tespit edilmiştir. Kök oluşum yüzdesi en fazla 1 ve 1,5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren ortamda görülmüştür. Kallus oluşumu (kallus boyu ve eni) 0,5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** MS Ortamı, Doku kültürü, Yumru oluşumu, Kallus, Morfolojik özellikler

### Effects Of GA<sub>3</sub> Applications On *In Vitro* Germination and Plant Growth Of Tunceli Garlic (*Allium tuncelianum*) Seeds

#### Abstract

In order for Tunceli garlic to be cultivated and produced, the germination problem in its seeds must be eliminated. In this study, it was aimed to determine the effects of GA<sub>3</sub> applications on the germination and reproduction of Tunceli garlic seeds *in vitro*. For the sterilization of Tunceli garlic seeds, 4 different sodium hypochlorite doses were tried and the most successful result was obtained by shaking the seeds in 10% sodium hypochlorite for 10 minutes + 20% sodium hypochlorite for 20 minutes. MS medium (Murashige and Skoog, 1962) was used in the seed germination experiment. In the study, 4 different (0,5, 1, 1,5 and 2 mg l<sup>-1</sup>) concentrations of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) as a plant growth regulator were investigated. In the study, the best germination was determined in the 2nd month with a rate of 33.34% in 0.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> application. In the study, the highest number of shoots (5 pieces) was determined in MS medium containing 0.5 to 1 mg l<sup>-1</sup>, while the lowest number of shoots (2 pieces) was determined in the control application. When evaluated in terms of onion number, it was determined that MS media containing 1 and 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> came to the fore. In terms of root number, the best dose was determined in the application containing 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>. Root formation percentage was seen at the most in the medium containing 1 and 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>. Callus formation (callus length and width) was observed in MS medium containing 0.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>.

**Key words:** MS Medium, Tissue culture, Tubertization, Callus, Morphological properties

## Giriş

Tunceli Sarımsağı, Liliaceae familyası *Allium* cinsine ait bir bitki türüdür. Türkiye *Allium* türleri yönünden zengin bir ülkedir. Dünyada 750 kadar *Allium* türü bulunmakta, bunların yaklaşık 170 tanesine Türkiye’de rastlanmaktadır. Ülkemizdeki *Allium* türlerinin yaklaşık %40’ ının endemik olduğu belirtilmektedir (Rice-Evans ve ark., 1997). Tunceli sarımsağı olarak isimlendirilen *A. tuncelianum*, endemik bir bitki türü olup, Tunceli ili ve çevresinde ve özellikle Ovacık çevresinde yaygın olarak bulunmaktadır (Takim, 2015).

Tunceli sarımsağı tek dişli, krem beyazı soğancıklar (yumru) üzerinde beyazdan mora çiçek salkımına sahip olup, Doğu Anadolu bölgesinde, özellikle Tunceli ili ve çevresindeki Munzur dağlarına özgü endemik bir türdür (Baktır, 2005; Yanmaz ve ark., 2010). Çiçek soğanları, propagüller olarak aseksüel olarak üretilir (yani, ana çiçek soğanının ana gövde arkasına bağlı vejetatif olarak üretilen çiçek soğanları); ancak yayımları ve çoğalmaları nispeten yavaştır. Tohumla üretilen Tunceli sarımsakları 2-3 yıl sonra olgun bitki halini almaktadır. Tunceli sarımsağı biyolojik olarak aktif, organik kükürt bileşiği ve allisin (tio-2-propen-1-sülfinik asit Sallyl ester) içerir. Allisin, antikoagulan, anti-hipertansif, anti-mikrobiyal, anti-biyotik, anti-parazitik, anti-mikotik, anti viral, anti-tümör, antioksidan ve yaşlanma karşıtı aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Jacop 2006; Özkan ve ark., 2013). Allisin ayrıca ağır metalleri detoksifiye ettiği, hipo-lipidemik (yani lipid düşürücü), antikanserijenik ve anti-mutajenik olduğu bilinmektedir (Munchberg ve ark., 2007; Iciek ve ark., 2009; Özkan ve ark., 2013). Aynı zamanda *A. tuncelianum* yüksek miktarda p-coumarik asit içermekte ve *A. sativum* L'den daha güçlü bir antioksidan ve antiradikal aktiviteye sahiptir. *A. tuncelianum* tüketimi vücudun bağışıklık sistemini uyarır, şeker seviyesini düşürür, kandaki kolesterol ve kan dolaşımını iyileştirir, böylece kalp krizi riskini azaltığı yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Ağbas ve ark., 2013; Aasim, 2015; Atila ve ark., 2017).

Türkiye için önemli bir endemik tür olan Tunceli sarımsağı 1980'lerde yetiştirilmeye başlanmış olup, soğanları ve genç yaprakları sebze ve baharat olarak kullanılmaktadır. Lezzet bakımından *A. sativum*' a çok benzediği bildirilmiştir (Özhatay ve Mathew 1995; Etoh ve Simon, 2002; Yanmaz ve ark., 2010).

“Tehlike Altındaki Türlerin Uluslararası Ticaretine İlişkin Sözleşme (CITES)” ile uyumlu olarak, koruma amacıyla Türkiye’de nesli tükenmekte olan geofitlerin ticaret için toplanması yasaklanmıştır. Ancak *A. tuncelianum*, Türkiye’de aktarlar ve yöre halkı tarafından evsel ve tıbbi amaçlı olarak doğadan toplanmaktadır. Bu nedenle

doğadan bilinçsizce ve aşırı yararlanılması nedeniyle yok olma tehlikesiyle karşı karşıyadır (Yanmaz ve ark., 2010; Aasim, 2015). Bu bakımdan kültüre alınarak yetiştiriciliğinin yapılması gerekmektedir. Ancak tohumlarının çimlenme yüzdesi ve soğan oluşumunun yetersiz olmasının yanında yeni başların elde edilmesi 2-4 yılı alabilmektedir (Yanmaz ve ark., 2010; Kızıl ve ark., 2014). Son yıllarda, *A. tuncelianum*' u yok olmasını engellemek için farklı stratejiler geliştirilmiştir. Bu stratejilerden bir tanesi de doku kültüründe çoğaltılmasıdır. Bilindiği gibi *in vitro* teknikler bitkilerin hızlı çoğaltılabilmesine olanak sağlamaktadır. Endemik *A. tuncelianum*' un korunması için *in vitro* tekniklerinin uygulanması, *A. sativum*' dan daha az yaygındır. Bu nedenle Tunceli sarımsağı için önemli avantajlara sahip doku kültürü tekniklerinin geliştirilmesi için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Koşar ve ark., 2006; Yazar, 2006; Kızıl ve ark., 2014; Aasim, 2015). Bitkilerin çoğaltılmasında sürgün ve kök kültürleri, yaprak kültürü, soğan kültürü, *in vitro* tohum çimlenmesi ve jinogenez gibi *in vitro* teknikler kullanılmaktadır.

Endemik bir tür olan Tunceli sarımsağının ekonomik değeri yüksektir. Fakat doğal koşullar altında üretilmesi sınırlıdır. Bu endemik türün tohumlarının dormant özellikte olması, doğal koşullarda üretimini sınırlandırmaktadır. Dolayısıyla bu endemik türün *in vitro* koşullarda çoğaltılmasını zorunlu hale getirilmesini beraberinde getirmektedir. Bilindiği üzere dormant tohumlar çimlenme için uygun koşullar sağlanmadığında çimlenmemektedir. Tohumların homojen ve hızlı çimlenmeleri için su, ışık, toprak şartları ve sıcaklık gibi faktörler önemli görülmektedir. Eğer bu koşullar sağlanmazsa çimlenme olmaz ve tohumlar fiziksel ve fizyolojik sebeplerden dolayı zorunlu dinlenmeye girerler. Dormansinin içsel Giberellik asit (GA<sub>3</sub>) ve Absisik asit (ABA) ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Dormansiyi kırmak ve olumsuz koşullarda ekilen tohumların homojen bir çimlenme ve çıkış sağlayabilmeleri için hasat sonrası ve ekim öncesi bazı uygulamaların yapılması önerilmektedir (Karakurt ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda gibberelik asitlerin tohum ve tomurcuk dormansisinin kırılmasında, soğuklama ihtiyaçlarının giderilmesinde ve çimlenmeyi teşvik etmede oldukça etkili olduğu bilinmektedir (Olszewski ve ark., 2002; Tyler ve ark., 2004; Şan ve Yıldırım, 2009; Şan ve ark., 2014; Algül ve ark., 2016). Tunceli sarımsağının kültüre alınarak üretiminin yapılabilmesi için tohumlarındaki çimlenme sorunun ortadan kaldırılması gerekmektedir.

Bu çalışmada Tunceli sarımsağı tohumlarının çimlenmesi üzerine *in vitro* koşullarda farklı

konsantrasyonlarda GA<sub>3</sub> uygulamalarının etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, tohumlarda çimlenme oranlarının yanında GA<sub>3</sub> uygulamalarının bitki gelişimi ve soğan oluşumu üzerine etkileri de belirlenmeye çalışılmıştır.

## Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan Tunceli sarımsağı tohumları, 2020 yılı ağustos ayında Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme bahçesinden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan tohumlar 10 Nisan 2021 yılına kadar oda koşullarında (cam kavanozlarda, 24°C'de) bekletilmiştir.

## Yöntem

### Tohumların sterilizasyonu

Tohumların sterilizasyonu amacıyla Sodyum hipoklorit'in (NaClO) dört farklı konsantrasyonu (%10+%20, %10, %15 ve %20) denenmiştir. Araştırmada her uygulamada 3 tekrür ve her tekrürde 10 tohum olmak üzere toplam 150 tohum kullanılmıştır (Çizelge 1). Çalışmada kullanılan sodyum hipokloritin %10, %15 ve %20 konsantrasyonlarda tohumlara uygulama olarak 30 dakika baz alınmıştır. %10+%20'lik konsantrasyonda ise, tohumlar önce 15 dk %10'luk Sodyum hipoklorit çözeltisinde bekletilmiştir. Daha sonra aynı tohumlar tekrar %20'lik Sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dk daha steril edilmiştir.

**Çizelge 1.** Sterilizasyon Uygulaması ve konsantrasyonları

Uygulamalar	Konsantrasyon(%)
1	Kontrol
2	%10 NaClO
3	%15 NaClO
4	%20 NaClO
5	%10+%20 NaClO

### Tohumların çimlendirilmesi

Çimlendirme denemesinde sterilizasyon aşamasında en düşük enfeksiyon oranı sağlanan %10+%20 NaClO dozu baz alınmıştır. Tohum çimlendirme denemesinde MS ortamı (Murashige ve Skoog, 1962) kullanılmıştır. Araştırmada MS besin ortamına tohumlarda çimlenmeyi teşvik etmek amacıyla GA<sub>3</sub>'ün 0.5, 1.0, 1.5, ve 2.0 mg l<sup>-1</sup> dozları ilave edilmiştir. Çimlendirme denemesinde her uygulamada 4 tekrür ve her tekrürde 5 tohum olacak şekilde toplam 100 tohum kullanılmıştır (Çizelge. 2). Kültürler 24±1°C sıcaklık

ve 16 saat aydınlık koşullara ayarlı iklim odasında 6 hafta inkübasyona tabi tutulmuştur. Çimlenme tohum ekiminden 20 gün sonra gözlemlenmeye başlanmıştır. Çimlenme tarihine 30. ve 60. günde bakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, eksplant başına sürgün sayısı, yaprak sayısı, soğan sayısı, kök sayısı ve kallus oluşturma durumları ile sürgün ve kök uzunlukları incelenmiştir.

## İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler MİNİTAB 17 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Önemli çıkan ortalamalar arasındaki farklılık TUKEY çoklu karşılaştırma testine (p≤0,05) göre belirlenmiş ve harflendirme yapılmıştır.

## Bulgular ve Tartışma

Yapılan çalışmada Tunceli Sarımsağı tohumlarına uygulanan sterilizasyon uygulamaları arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p≤0,05). Her iki dönemde de en iyi sterilizasyon %10+%20 sodyum hipoklorit solüsyonunda görülürken en düşük sterilizasyon ise kontrolde görülmüştür. Sterilizasyon işlemi bir yandan doku üzerinde kolaylıkla üreyebilen tüm mikroorganizmaları yok ederken diğer yandan dokunun canlılığını ve rejenerasyon kapasitesini koruması gerekmektedir (Yıldız ve ark., 2012; Karakan, 2021). Tunceli sarımsağında soğanlar eksplant olarak kullanıldığında enfeksiyon sorunu görülmezken, tohumların sterilizasyonunun oldukça zor olduğu bilinmektedir. Nitekim Kızıl ve ark. (2014), tarafından yapılan çalışmada eksplant olarak soğanlar kullanılmış ve %5 sodyum hipoklorit içerisinde 10, 15, 20, 25 ve 30 dakika bekletilen soğanların başarılı bir şekilde sterilize edildiği ifade edilmiştir. Bir başka çalışmada da Tunceli sarımsağı soğanlarının %10'luk sodyum hipoklorit içerisinde 10 dakika ve %25'lik sodyum hipoklorit içerisinde 25 dakika çalkalanmasının başarılı sonuç verdiği bildirilmektedir (Yazar, 2006). Kızıl ve ark 2017 yılında Karakan ise 2021 yılında yaptığı bir çalışmada Tunceli sarımsağı tohumlarını %5 lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dakika bekletmişlerdir. Ancak tohumların sterilizasyonuna yönelik kontaminasyon yüzdesini belirtmemişlerdir. Bizim çalışmamızda 2 aşamalı sterilizasyon uygulamasının daha başarılı sonuç verdiği tespit edilmiş olup, bu sonuçlar Yazar (2006) tarafından elde edilen bulgular ile paralellik göstermektedir.

**Çizelge 2.** Sodyum hipoklorit uygulamasından sonra elde edilen kontaminasyonlu tohum sayısı ve yüzdesi (%)

Uygulama	1.Ay	Kontaminasyon Yüzdesi (%)	2.Ay	Kontaminasyon Yüzdesi (%)
Kontrol	10.00 A	100.0	10.00 A	100.0
%10	7.00 B	70.0	7.33 BC	73.3
%15	8.00 A B	80.0	9.00 AB	90.0
%20	8.33 A B	83.3	9.00 AB	90.0
%10+%20	4.66 C	46.66	6.66 C	66.66

\*Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $p \leq 0,05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

GA<sub>3</sub> uygulanan tohumlarda GA<sub>3</sub> uygulamasının çimlenme üzerine etkisi incelendiğinde uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmasa da ( $p \leq 0,05$ ) (Çizelge 3) araştırmada en fazla çimlenme 2. ayda %33.34 oranıyla 0.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> uygulamasında tespit edilmiştir. 1 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> uygulamasında her iki ayda %20 oranında çimlenme görülmüştür. Sarımsak tohumlarının küçük, canlılığının düşük olması ve dormansinin olması çimlenmenin daha düşük ve uzun sürmesine neden olmaktadır (Etoh ve Simon 2002; Inaba ve ark., 1995; Pooler ve Simon, 1994; Yanmaz ve Ermiş, 2005). Gibberalinler tohum ve tomurcuk dormansisinin ortadan kaldırılması, tohum çimlenmesinin kontrolü ve uyarılmasında rol oynarlar (Arguello ve ark., 2001).

Gibberalinler tohum çimlendirme sürecinde rol olan enzimlerin uyarılması ve çimlenmenin sonraki aşamasında embriyodan endosperme taşınarak  $\alpha$ -amilaz enzimini uyararak gerekli enerjiyi sağlamak için nişastanın şekere dönüşmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (Hartmann ve ark., 1990; Hilhorst ve Karssen, 1992; Karakurt ve ark., 2010). Tohumda doğal olarak bulunan ABA dormansinin oluşmasına neden olarak çimlenmeyi engellemekte, absisik asitin antogonisti olan

gibberelinler ise dormansinin kırılarak çimlenmenin uyarılmasını sağlamaktadır (Ünyayar ve Topçuoğlu, 1998). Karakan (2021) Tunceli sarımsağında yaptığı çalışmada BDS (Dunstan and Short) ve MS ortamlarını kullanmış ve BDS ortamının daha iyi sonuç verdiğini bildirmiştir. Araştırmacı en yüksek çimlenme oranının %17.73 ile 2 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren BDS ortamında elde edildiğini ifade etmiştir. Araştırmada BDS ortamında GA<sub>3</sub> dozunun artması ile çimlenme oranının azaldığı tespit edilmiştir. Yanmaz ve Ermiş (2005) sarımsak tohumlarında yürüttükleri bir çalışmada GA<sub>3</sub>'in 1 mg l<sup>-1</sup> ve 2 mg l<sup>-1</sup> dozlarının çimlenmeyi uyardığı ve çimlenme oranında düşük sıcaklıklara bağlı olarak yaklaşık %18 ile 20 arasında bir artış sağladığını belirlemişlerdir. Yanmaz ve ark. (2010), Tunceli sarımsağında yaptıkları çalışmada MS ortamına bir oksin hormonu olan NAA' in 0.5 mg/l<sup>-1</sup> ve 2 mg l<sup>-1</sup> dozlarını uygulamışlardır. Çalışmada 0.5 mg l<sup>-1</sup> dozunda %17 çimlenme elde ederken 2 mg l<sup>-1</sup> dozunda %3'lük bir çimlenme oranı saptanmıştır. Ayrıca çalışmadaki benzer uygulamalar in vivo ortamda da denenmiştir. Başarılı sonuçlar alınmamıştır. Çalışmamızda elde edilen %33.34'lük çimlenme oranının önceki yapılan çalışmalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 3.** GA<sub>3</sub> uygulamalarının çimlenme üzerine etkisi (%)

Uygulamalar	1.Ay	2.Ay
Kontrol	13.34 A	13.34 A
0.5 mg l <sup>-1</sup>	13.34 A	33.34 A
1 mg l <sup>-1</sup>	20 A	20 A
1.5 mg l <sup>-1</sup>	13.34 A	13.34 A
2 mg l <sup>-1</sup>	13.34 A	13.34 A

\*Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $p \leq 0,05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Yapılan çalışmada GA<sub>3</sub> uygulamalarının *in vitro* da bitki gelişimi üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ) (Çizelge 4). Çalışmada en yüksek sürgün sayısı (5 adet) 0.5 ile 1 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında tespit edilirken en düşük sürgün sayısı (2 adet) kontrol uygulamasında tespit edilmiştir. 1 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren ortam diğer uygulamalara kıyasla yaprak sayısını önemli ölçüde

artırmıştır. Soğan sayısı bakımından değerlendirildiğinde ise 1 ve 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren MS ortamlarının ön plana çıktığı belirlenmiştir. Kök sayısı açısından en iyi doz 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren uygulamada tespit edilmiştir. Kök oluşum yüzdesi en fazla 1 ve 1.5 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren ortamda görülmüştür. Kallus oluşumu (kallus boyu ve eni) 0.5mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında

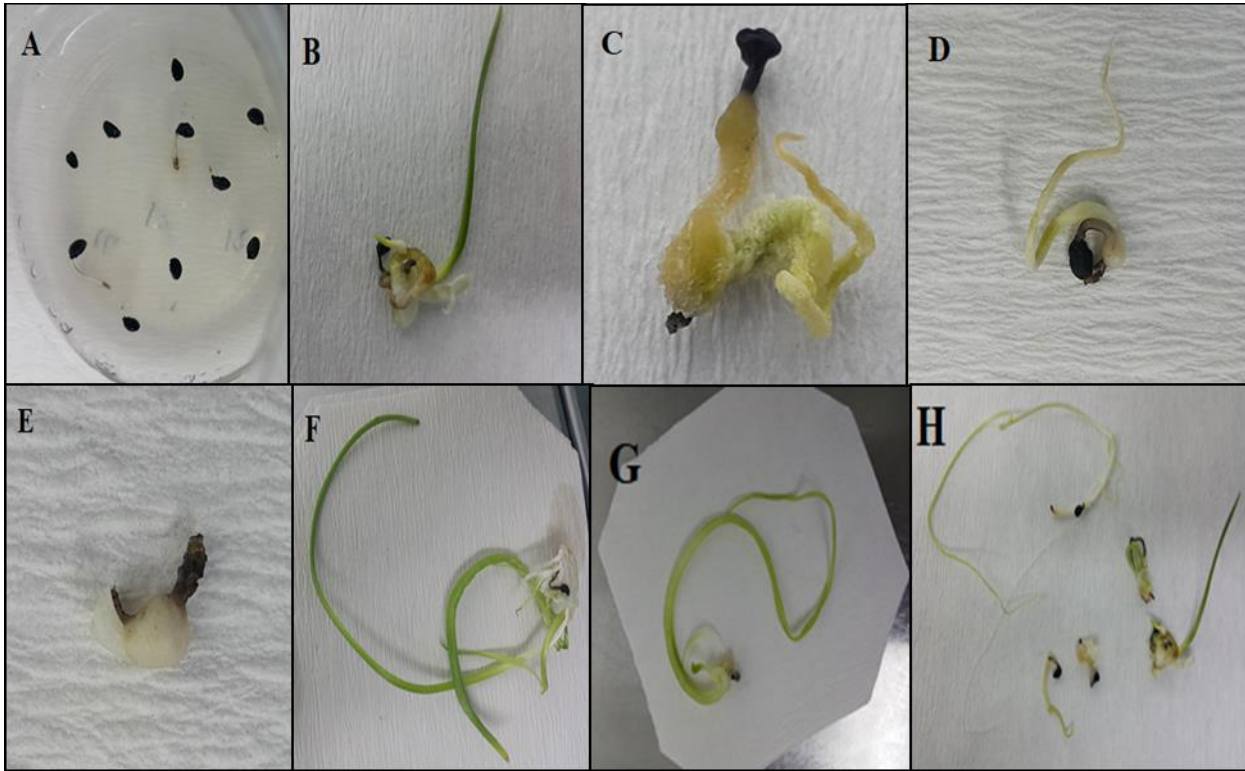
gözlemlenmiştir. Kallus ve soğan boyu ve eni 0.5 mm' den küçük ölçülmüştür. Çalışmada eksplanttan kallus oluşum oranı %30 olarak tespit edilmiştir. Karakan (2021) soğan oluşumu için en uygun ortamın 0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA içeren MS ortamı olduğunu bildirmiştir. Kızıl ve ark., (2014), Tunceli sarımsağında *in vitro* ortamda yaptıkları çalışmada en iyi sürgün oluşumunun 2 ve 3 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren MS ortamında, en iyi soğan oluşumunun ise 5 mg l<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> NAA uygulamasında olduğunu tespit etmişlerdir. Tunceli sarımsağında yapılan çalışmalar incelendiğinde GA<sub>3</sub> dışında farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanıldığı görülmektedir. GA<sub>3</sub>'ün tek başına ya da diğer büyüme düzenleyici maddelerle birlikte kullanımının tohumların çimlenmesi üzerine etkilerine yönelik detaylı araştırmaların yapılması gerekmektedir.

**Çizelge 4.** GA<sub>3</sub> uygulamalarının *in vitro* da bitki gelişimi üzerine etkisi

Uygulama	Sürgün Sayısı (Adet)	Yaprak Sayısı (Adet)	Soğan Sayısı (Adet)	Kök Sayısı (Adet)	Kök Oluşumu (%)	Bitki Boyu (cm)
Kontrol	2.00 B	0 B	0.33 B	0 B	0	0 C
0.5 mg/l <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub>	5.00 A	1.33 B	2.0 B	1.667 AB	15	0.4603 C
1 mg/l <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub>	5.00 A	13.67 A	6.33 A	3.33 AB	50	16.046 A
1.5 mg/l <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub>	2.33 A B	1.40 B	6.33 A	4.00 A	60	7.00 B
2 mg/l <sup>-1</sup> GA <sub>3</sub>	3.25 A B	1.00 B	0.66 B	0.66 B	10	2.111 C

\*Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur.



**Şekil 1.** MS ortamında GA<sub>3</sub> uygulanan tohumların *in vitro* da bitki gelişimi, A:Tohum çimlenmesi B:Sürgün ve yaprak gelişimi C:Kallus oluşumu D:Soğan oluşumu E:Köklenme F: Kardeşlenme G:Bitkicik H:Gelişimin tüm evreleri

## Sonuç ve Öneriler

Tunceli sarımsağının korunması ve çoğaltılması endemik bir tür olması ve insan sağlığı için önemli olan biyokimyasal içeriğe sahip olması nedeniyle önem arz etmektedir. Araştırmalarda, *in vitro* çoğaltma ve koruma için güçlü protokollerin

ortaya konması amaçlanmış ve kısmen başarılı sonuçlar elde edilmiştir. *In vitro* koşullarda Tunceli sarımsağında yapılan çalışmalar incelendiğinde GA<sub>3</sub> dışında farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin de kullanıldığı görülmektedir. Yapılan çalışmada, GA<sub>3</sub> uygulamalarının çimlenme üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırmada özellikle 1 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>

ilave edilmiş besin ortamının hem çimlenme oranı hem de yumru oluşumu bakımından ön plana çıktığı görülmüştür. Bununla birlikte Tunceli sarımsağı'nın çoğaltılması, yetiştirilmesi ve korunması amacıyla daha verimli ve tekrarlanabilir *in vitro* protokollerin geliştirilmesi için kapsamlı çalışmaların yapılması önerilmektedir.

**Çıkar Çatışması Beyanı:** Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

**Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti:** Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

### Kaynaklar

- Aasim, M. 2015. Adventitious bulblet regeneration of endemic Ovacik garlic (*Allium tuncelianum* Kollman, Ozhatay, Mathew, Siraneci) using wintered half clove explant. Romanian Biotechnological Letters, 20(5), 10845–108551.
- Agbas, B., Karakus, D., Adiguzel, G., Keser, S., Demir, E. 2013. Comparison of total antioxidant properties and dry matter content of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum*) and normal garlic (*Allium sativum*), Bilim ve Gençlik Dergisi, 1(2), 50-62. ISSN: 2148- 0273
- Aiazzi, M. T., Carpane, P. D., Di Rienzo, J. A., Arguello, J. A. 2001. Germination of *Atriplex cordobensis* (Gandoger et Stuckert): interaction between water stress and temperature. phyton-international journal of experimental botany, 7-14.
- Algül, B. E., Tekintaş, F. E., Dalkılıç, G. G. 2016. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Kullanımı ve İçsel Hormonların Biyosentezini Arttırıcı Uygulamalar. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 13(2), 87-95.
- Argüello, J. A., Falcón, L. R., Seisdedos, L., Milrad, S., Bottini, R. 2001. Morphological changes in garlic (*Allium sativum* L.) microbulblets during dormancy and sprouting as related to peroxidase activity and gibberellin A3 content. Biocell: Official Journal of the Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica... et. al, 25(1), 1-9.
- Atila, G., Uslu, H., Erdag, D., Ozkan, O. 2017. Antioxidative and antihyperglycemic effects of *Allium tuncelianum* on streptozotocin induced type I diabetes, International Congress on Medicinal and Aromatic Plants, s: 411, May 10-12, 2017, Konya.
- Baktır, I. 2005. *In vitro* micropropagation of *Allium tuncelianum*. In: Proceedings of the GAP IV Agriculture Congress. Sanliurfa, Turkey. 206–208. (In Turkish.)
- Bu H, Du G, Chen X, Xu X, Liu K, Wen S, 2008. Community wide germination strategies in an alpine meadow on the eastern Qinghai-Tibet plateau: phylogenetic and life-history correlates, Plant Ecology, 195: 87–98.
- Corral-Aguirre J, Sanchez-Velasquez LR, 2006. Seed ecology and germination treatments in *Magnolia dealbata*: An endangered species. Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 201(3): 227–232.
- Cousins, S. R., Witkowski, E. T. F., Mycock, D. J. 2014. Seed storage and germination in *Kumara plicatilis*, a tree aloe endemic to mountain fynbos in the Boland, south-western Cape, South Africa. South African Journal of Botany, 94, 190-194.
- Etoh, T., Simon, P. W. 2002. 5 Diversity, Fertility and Seed. *Allium* crop science: Recent advances, 101.
- Hartmann, H. T., Kester D. E., Davies F. T. 1990. Bitki Yayılımı. Tohumla Yayılma İlkeleri. 647 s.
- Hilhorst, H. W. M., Karssen C. M. 1992. Tohum dormansisi ve çimlenmesi: Abisik asit ve gibberalinlerin rolü ve hormon mutantlarının önemi. Bitki Büyüme Yönetmeliği, 11: 225-238.
- Iciek, M., Kwiecień, I. Wlodek, L. 2009. Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. Environmental and Molecular Mutagenesis, 50, 247–265.
- Inaba, A. 1995. Seed productivity and germinability of garlic. Japan, J. Breed., 45, 310.
- Jacop, C. 2006. Bir terapi kokusu: redoks aktif kükürt atomları içeren doğal ürünlerin farmakolojik etkileri. Doğal ürün raporları, 23 (6), 851-863.
- Karakan, F. Y. 2021. The effects of GA<sub>3</sub> treatments and nutrient media on *in vitro* seed germination of *Allium tuncelianum* (Kollman), Özhatay, Matthew, Şiraneci. Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP), 4(2), 103-107.
- Karakurt, H., Aslantaş, R., Eşitken, A. (2010). Tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi üzerinde etkili olan çevresel faktörler ve bazı ön uygulamalar. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 24(2), 115-128.
- Kizil, S., Icgil, D. Y., Khawar, K. M. 2014. Improved *in vitro* regeneration and propagation of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum* L.). The

- Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 89(4), 408-414.
- Kizil, S., Sogut, T., Khawar, K.M., 2017. Germination and bulb formation of *Allium tuncelianum* L. under in vitro condition, ICAB 2017: 19th International Conference on Agriculture and Biotechnology. 13-14 July, Stockholm, Sweden.
- Koşar, M., Koyuncu, M., Başer, KHC 2006. Türkiye'de bazı yabancı ve kültüre alınmış *Allium* türlerinin halk kullanımı. IV. Uluslararası Etnobotanik Kongresi Bildirileri (ICEB 2005), Cilt 87, s. 90.
- Menges ES, 1986. Predicting the future of rare plant populations: demographic monitoring and modelling, *Natural Areas Journal*, 6: 13–25.
- Munchberg, U., Anwar, A., Mecklenburg, S., Jacob, C. 2007. Polysulfides as biologically active ingredients of garlic. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 5, 1505–1518.
- Murashige T. & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Olszewski N, Sun T, Gubler F 2002. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* 14, 61–80.
- Ozhatay, N., Mathew, B. 1995. New taxa and notes on the genus *Allium* (Alliaceae) in Turkey and Arabia, *Kew Bulletin*, 50(4), 723–731.
- Özkan, O., Gul, S., Kart, A., Cicek, B. A., Kılıç, K. 2013. In vitro antimutagenicity of *Allium tuncelianum* ethanol extract against induction of chromosome aberration by the mutagenic agent mitomycin C. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 19, 259–262.
- Pooler, M.R. Simon, P.W. 1994 True seed garlic. *Sexual Plant reproduction* 7, 282-286.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.
- San, B., Yildirim, A. N. 2009. Seed and in vitro embryo germination in aged almond. *Seed Science and Technology*, 37(2), 365-371.
- Schemske DW, Husband BC, Ruckelshaus CG, Goodwillie C, Parker IM, Bishop JG, 1994) Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants, *Ecology*, 75: 584– 606.
- Şan, B., Yildirim, A. N., Yildirim, F. 2014. An in vitro germination technique for some stone fruit species: The embryo isolated from cotyledons successfully germinated without cold pre-treatment of seeds. *HortScience*, 49(3), 294-296.
- Takim, K. 2015. Measurement of in vitro antioxidant activity of Tunceli rural garlic (*Allium tuncelianum*), determination of its effect on the antioxidant enzyme activity and anticancer characteristics on rats. ( Ph. D. Thesis) Inonu University, Institute of Natural Sciences, Department of Chemistry, Malatya, Turkey.
- Tyler L, Thomas SG, Hu J, Dill A, Alonso JM, Ecker JR, Sun T 2004. DELLA Proteins and Gibberellin-Regulated Seed Germination and Floral Development in Arabidopsis. *Plant Physiology*. 135, 1008–1019.
- Ünyayar, S., Topçuoğlu, Ş. F. 1998. Phanerochaete chrysosporium ME 446'dan elde edilen indol-3-asetik asit (IAA), gibberalikalik asit (GA3), absisik asit (ABA) ve zeatin' in biyolojik aktivitelerinin tayini. *Tr. J. of Biology*, 22, 29-42.
- Yanmaz, R., Ermiş, S. 2005. Tunceli sarımsağı (*Allium tuncelianum* Kollman, Özhatay., Matthew, Şiraneci) tohumlarındaki çimlenme probleminin çözülmesi üzerine araştırma. *Türkiye*, 2, 101-106.
- Yanmaz, R., Yazar, E., Kantoğlu, Y., Alper, A. 2010. In vitro plant regeneration and bulblet formation of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum* (Kollman) Ozhatay, Matthew, Siraneci) by shoot and root culture, *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(3&4), 572–576.
- Yıldız, M., Fatih Özcan, S., T Kahramanoğulları, C., Tuna, E. 2012. Sodyum hipoklorit solüsyonlarının doku canlılığı ve in vitro rejenerasyon kapasitesi üzerine etkisi. *Doğal Ürünler Dergisi*, 2(4), 328-331.