



Yabani Çuhaçiçeğinin Doku Kültürü İle Kitlesele Üretimi

Mass Propagation of Wild Primrose by Tissue Culture

Merve ANDIÇ¹, Mehmet TÛTÛNCÛ²

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Atakum, Samsun
• merve.andic55@gmail.com • ORCID > 0000-0002-3869-2458

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Atakum, Samsun
• mtutuncu.tr01@gmail.com • ORCID > 0000-0003-4354-6620

Makale Bilgisi / Article Information

Makale Türü / Article Types: Araştırma Makalesi / Research Article

Geliş Tarihi / Received: 24 Şubat/ February 2022

Kabul Tarihi / Accepted: 23 Eylül/ September 2022

Yıl / Year: 2022 | Cilt – Volume: 37 | Sayı – Issue: 3 | Sayfa / Pages: 571-582

Atıf/Cite as: Andiç, M., Tütüncü, M. "Yabani Çuhaçiçeğinin Doku Kültürü İle Kitlesele Üretimi"
Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 37(3), Ekim 2022: 571-582.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Mehmet TÛTÛNCÛ

YABANI ÇUHAÇIÇEĞİNİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE KİTLESEL ÜRETİMİ

Z:

Çuhaçiçeği (*Primula acaulis*) Primulaceae familyası içerisinde yer alan erken ilkbaharda çiçeklenen mevsimlik çiçek ya da saksılı süs bitkisi olarak üretilmektedir. Çuhaçiçeği, yavru bireylerin ana bitkiden ayrılması Şeklinde oğaltılabilmekle beraber çoğaltım kat sayısının düşük olması ve tohumlarında görülen düzensiz ve geç çimlenme kitlesel üretimini engellemektedir. Bu nedenle, yapılan bu çalışma ile doğal olarak yayılış gösteren yabani uha çiçeklerinin *in vitro*'de da kültüre alınarak kitlesel üretimi amaçlanmıŐtır. Doğadan toplanan bitkiler sera koŐullarında kültüre alınmış ve eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonu gerçekleŐtirilen rizom eksplantları Benziladenin (BA) (0.5, 1.0 ve 3.0 mg L⁻¹) ve İndol bütirik asit (IAA) (0.5 mg L⁻¹) büyüme düzenleyicileri içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Çalışma sonucunda en yüksek çoğaltım kat sayısı 1.0 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IAA içeren MS ortamında 7.85 olmuştur. Elde edilen sürgünlerin 1 mg L⁻¹ IBA içeren MS ortamda kültüre alınmasıyla %75 oranında kklenme başarısı sağlanmıştır. Torf:perlit ortamında kültüre alınan bitkilerde %62.5 hayatta kalma oranı elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: oğaltma, uha, Gen Kaynağı, In Vitro.



MASS PROPAGATION OF WILD PRIMROSE BY TISSUE CULTURE

ABSTRACT

Primrose (*Primula acaulis*), in the Primulaceae family, blooms in early spring and is produced as a seasonal flower or potted ornamental. Even though primroses can be propagated by separating the offspring from the mother plant, the reproduction coefficient is low and the irregular and late germination seen in their seeds that prevent mass production. Therefore, with this study, it was aimed to mass production of wild primroses by culturing *in vitro*. Plants collected from nature were cultured in greenhouse conditions and used as explant source. Surface sterilized rhizome explants were cultured in MS medium containing growth regulators Benzyl adenine (BA) (0.5, 1.0 and 3.0 mg L⁻¹) and Indole butyric acid (IAA) (0.5 mg L⁻¹). As a result of the study, the highest multiplication coefficient was 7.85 in MS medium containing 1.0 mg L⁻¹ BA and 0.5 mg L⁻¹ IAA. Rooting success of 75% was achieved by culturing the shoots in MS medium containing 1 mg L⁻¹ IBA. A survival rate of 62.5% was obtained in plants cultured in peat:perlite medium.

Keywords: Propagation, Primrose, Germplasm, In Vitro.

1. GİRİŞ

Çuhaçiçeği (*Primula acaulis*) *Primulaceae* familyasının, *Primula* cinsi içerisinde yer almaktadır ve familya içerisindeki en büyük cinsi oluşturmaktadır (Karlsson, 2001). Çuhaçiçeği ilk kez 1753'te Carl Linne tarafından keşfedilmiş ve baharda en erken çiçek açan türlerden biri olduğundan Latince 'ilk' kelimesinden türetilmiş ve cinse *Primula* ismi verilmiştir (Enache ve Băbeanu, 2008). Çuhaçiçeği son yıllarda, erken ilkbaharda çiçeklenen ve farklı çiçek rengi ile ön plana çıkan popüler bir süs bitkisidir. Avrupa, Güney Amerika, Asya ve Kuzey Afrika'nın ılıman iklim kuşağında doğal olarak yayılış göstermektedir (Jia ve ark., 2014). Çuhaçiçeği ekonomik anlamda genellikle baharda kullanılmak üzere mevsimlik çiçek ya da saksılı süs bitkisi olarak üretilmektedir (Hayta ve ark., 2016). Ülkemizde de doğal olarak yayılış gösteren çuha, ikisi endemik olmak üzere toplamda 16 takson ile temsil edilmektedir. Çuha türleri yöresel olarak; dağtutyası, evvelbahar çiçeği, felç otu, zarınga, yayla tutyası, çayır tutyası, zarif çuha, mart çiçeği ve ayrançiçeği gibi isimlerle bilinmektedir (Güner ve Aslan, 2012). Genellikle yüksek rakımlı yerlerde yetişen çuha türleri, yöre halkı tarafından görsel güzelliğinin yanında; cilt yaralarının tedavisinde (Uce ve Tunçtürk, 2014) kullanılmaktadır.

Primula cinsi içerisinde yer alan *Primula acaulis* (Syn. *Primula vulgaris*) türü Karadeniz Bölgesi florasının doğal bir üyesidir. Ticari olarak üretimi yapılan çuha çiçekleri arasında en yaygın olarak satışı yapılan *P. acaulis* türünün F1 hibrit çeşitleri olup, ülkemizde doğal olarak yayılış göstermesine karşın yerli çeşit bulunmamaktadır. Ticareti yapılan F1 hibrit çeşitler tohumla çoğaltılmakta olup, ayırma yöntemi ile de üretim yapılabilmektedir. Ancak F1 hibrit tohumları da dahil olmak üzere birçok çuhaçiçeği tohumlarında görülen düzensiz ve geç çimlenme kitlesele üretimi engellemektedir (Morozowska ve Wesolowska, 2004; Sharaf ve ark., 2011).

Çuhaçiçekleri heteromorfik çiçek yapısına sahiptir ve sporofitik uyumsuzluk söz konusudur (Li ve ark., 2011; 2015; Keller ve ark., 2016). Çuha çiçeği döllenme biyolojisi bakımından yabancı döllenmiş bir türdür. Çiçeklerde heterositili görülür ve bu nedenle aynı türe ait bazı genotiplerde dişicik tepesi erkek organlardan daha yukarıda iken bazılarında ise erkek organ daha yukarıda konumlanmıştır. Heterostili ve döllenme biyolojisindeki diğer düzensizlikler aynı çiçek yapısında kendine döllenmeyi engellemektedir. Aynı çiçek yapısına sahip olan çiçekler kendi aralarında döllenemez ve tohum oluşturmazlar (Cahalan ve Gliddon, 1985; Live ark., 2011). Bu gibi durumlarda bitkinin çoğaltılmasında doku kültürü çalışmaları önemli bir yere sahiptir.

Çuhaçiçeği belirtildiği üzere bitkinin dip kısımlarından meydana gelen yavru bireylerin ana bitkiden ayrılması şeklinde çoğaltılabilse de çoğaltım kat sayısı doku kültürü ile çoğaltma ile kıyaslanamayacak kadar düşüktür. Ayrıca, bir kere *in vitro* ortama alınan eksplantlardan doku kültürü ile çoğaltma tekniğiyle yıl boyu üretim

imkanı sağlanmaktadır. Bu nedenle, yapılan bu çalışma ile Karadeniz Bölgesi Samsun ilinde doğal olarak yayılış gösteren yabani uha çiçeklerinin *in vitro*'da kültüre alınarak kitlesel üretimi gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Çalışmada Karadeniz'de doğal olarak yayılış gösteren yabani uhaieği Ondokuz Mayıs niversitesi kampüs alanından toplanmıştır. 50 adet bitki kampüsün farklı alanlarından ve mevcut popülasyona zarar verilmeden toplanarak uygulama seralarına getirilmiş ve bir örnek popülasyon oluşturulmuştur. Bitkiler torf:perlit (1:1) içeren yetiştirme ortamlarında ısıtmasız serada plastik saksılarda kültüre alınmıştır. Bitkiler saksıya dikilmeden önce yavru bitkiler ayırma yöntemiyle birbirinden ayrılmış ve saksılara dikilmiştir (şekil 1). Saksılar serada tezgahların üzerine yerleştirilmiş ve güneş işığından zarar görmemeleri için yaz aylarında bitkilere gölgeleme yapılmıştır. Musluk suyu ile haftada bir 300 ml saksı⁻¹ olacak şekilde sulanmış ve iki ayda bir N:P:K (20:20:20) gübrelemesi %0.2'lik solüsyonu hazırlanarak kültürel bakım işlemleri yapılmıştır.



şekil 1. a: Doğadan sökümü yapılan uha bitkileri, b: ana bitkiden ayrılan bitkicikler

Figure 1. a: Primrose gathered from nature, b: plantlets separated from the mother plant

2.2. Yüzey Sterilizasyonu ve Eksplantların Hazırlanması

Saksılardan sökülen bitkilerin yüzey kirlerinden arındırılması amacıyla akan musluk suyu altında kök bölgesi topraktan arındırılmış ve yaşlı yapraklar uzak-

laştırılmıştır. Bu işlemden sonra tüm sterilizasyon denemelerinde eksplantlar ilk olarak 60 dakika süreyle akan musluk suyu altında bekletilmiştir. Yüze kirlerinden arındırılan örnekler sırasıyla 10 dakika %10'luk hidrojen peroksit (H_2O_2) ve 20 dakika %0.1'lik $HgCl_2$ ile muamele edilmiştir. Daha sonra steril kabin içerisine alınan örnekler %70'lik etil alkolde 1-2 dk., %20 ticari NaOCl (Domestos) çözeltisinde 20 dk bekletilmiştir. Her uygulama sonrasında eksplantlar steril saf su ile 3-5 kez yıkanmıştır (Şekil 2). Yüze sterilizasyonu tamamlanan rizomlar 5 cm uzunluğunda kesilmiş, kahverengileşmiş ölü dokular uzaklaştırıldıktan sonra eksplant olarak kullanılmıştır.



Şekil 2. a: saksılara dikilen yabani çuha çiçekleri, b: akan musluk suyu altında örneklerin yıkanması, c: yaşlı yaprakların uzaklaştırılması, d: yüze sterilizasyon işleminin yapılması, e: eksplantların steril saf su ile durulanması

Figure 2. a: wild primroses planted in pot, b: washing samples under tap water, c: removing leaves, d: surface sterilization of the samples, d: rinsing samples with distilled water

2.3. Eksplantların in Vitro Ortamda Kültüre Alınması

Sterilizasyon işlemi yapılan rizom eksplantlarından sürgün uyartımı amacıyla eksplantlar BA (0.5, 1.0 ve 3.0 mg L⁻¹) ve IAA (0.5 mg L⁻¹) büyüme düzenleyicileri içeren MS (Murashige ve Skoog) temel besi ortamlarında kültüre alınmıştır. Besi ortamları hazırlanırken karbon kaynağı olarak 20 gL⁻¹ sakkaroz ilave edilmiş ve katılaştırıcı olarak 7 g L⁻¹ agar kullanılmıştır. Besi ortamlarının pH'sı otoklavlanmadan önce 5.7-5.8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamlarından 50 ml alınarak

660 cc cam kavanozlara dökülmüş ve kullanılacak olan diğer ekipmanlarla birlikte 121 °C'de, 1.5 p.s.i. basınçta 15 dakika süreyle otoklavda steril edilmiştir. Eksplantlar 16:8 saat aydınlık-karanlık fotoperiyotta 23-25 °C'de, beyaz floresan (75 µmol m⁻²s⁻¹) ışık altında kültüre alınmış ve 4-6 hafta aralıkla alt kültür işlemi gerçekletirilmitir. Çalışma kapsamında eksplantlarda kararma oranı (%), kallus gelişme oranı (%), sürme oranı (%), kardelenme oranı (%) belirlenmiştir.

2.4. Sürgünlerin Kklendirilmesi ve Bitkiciklerin Dış Koşullara Alıtırılması

Kültür ortamına alınan eksplantlardan oluşan sürgünler IBA hormonunun 1 mg L⁻¹ konsantrasyonunu içeren MS besi ortamı içeren kavanozlarda kültüre alınarak köklenme oranı belirlenmiştir. Köklenen sağlıklı bitkiler besi ortamından ayrılarak musluk suyu altında yıkanmış ve kök bölgesi besi ortamından arındırılmıştır. Daha sonra, steril torf:perlit içeren ortamlarda kültüre alınmış, bu süreçte ilk 2 hafta kontrollü şartlarda büyütme odasında dış ortama alıtırılmı, 2 hafta sonrasında bitkiler seraya transfer edilmiştir. Yaklaşık 1 ay sonra bitkilerin hayatta kalma oranları (%) tespit edilmiştir.

2.5. Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler

Mikroçğaltım denemelerinde kontrol dahil 4 farklı bitki büyüme düzenleyicisi içeren besi ortamı kullanılmıştır. Deneme her bir kombinasyon için 5 tekrrr (5 kavanoz) her tekrrrde 2 eksplant olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre yrtlmtir. Elde edilen yüzde değerlere istatistiksel analiz öncesinde aı transformasyonu uygulanmıştır. Tüm veriler JMP (versiyon 8.00) paket programı ile varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamaların önem seviyeleri LSD (p<0.01) testi ile karılatırılmıtır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada yabani çuha çiçekleri doğal yaşam alanlarından toplanarak *in vitro* ortamda kültüre alınmış ve kitlesel üretim olanakları belirlenmiştir. Yüzey sterilizasyonu gerçekletirilen rizom eksplantları BA ve IAA içeren MS besi ortamında kültüre alınmış ve mikroçğaltım denemeleri sonrasında sağlıklı sürgünler IBA içeren besi ortamında kklendirilmitir. Köklenen sürgünler son aşamada dış koşullara aktarılarak serada kültüre alınmıştır (ekil 3).



Şekil 3. Çuhaçiçeğinin *in vitro* çoğaltım aşamaları a: eksplantlardan sürgün gelişimi b: kültü ortamında kardeşlenme c: dış koşullara transfer edilen biticikler

Figure 3. *In vitro* propagation stages of primrose a: shoot growing from explant b: multiplication in media c: acclimatized plantlets

In vitro çoğaltım denemeleri sonucunda besi ortamlarına alınan eksplantlarda kararma, sürme ve kallus oluşturma bakımından hormon konsantrasyonlarının istatistiksel olarak önemli bir etkisi bulunmamıştır. Diğer taraftan sonuçlar irdelendiğinde eksplantların yaklaşık %40'ında kararma meydana geldiği tespit edilmiştir. Eksplantlara 6-8 haftada bir alt kültür işlemi uygulanmıştır. Her ne kadar yüzey sterilizasyonu yapılan materyalin çoğaltılması ile denemeler kurulmuş olsa da kültürün ilerleyen aşamasında bakteriyel kontaminasyonlar meydana gelmiştir.

Eksplantlardan en yüksek kallus oluşum oranı %80 ile 3.0 mg L^{-1} BA+ 0.5 mg L^{-1} IAA içeren besi ortamından elde edilirken, en düşük kallus oluşumu hormon içermeyen kontrol ortamından elde edilmiştir. *In vitro*'da kültüre alınan eksplantlardan besi ortamlarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmasa da %70-80 oranında yeni sürgün oluşumu meydana gelmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. *In vitro* kültüre alınan eksplantlarda kararma ve rejenerasyon

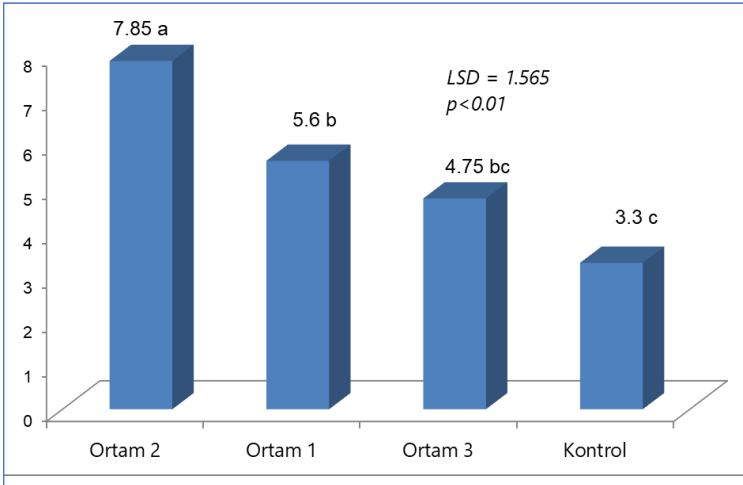
Table 1. Blackening and regeneration of explants cultured in *in vitro*

Besi Ortamı (MS) BA+IAA mg L^{-1}	Kararma (Ö.D.)	Kallus (Ö.D.)	Sürgün (Ö.D.)
Kontrol	40.0 (36.0)	30.0 (27.0)	70.0 (63.0)
Ortam 1 (0.5+0.5)	40.0 (36.0)	60.0 (54.0)	80.0 (72.0)
Ortam 2 (1.+0.5)	40.0 (36.0)	70.0 (63.0)	70.0 (63.0)
Ortam 3 (3+0.5)	30.0 (27.0)	80.0 (72.0)	80.0 (72.0)

Ö.D.: İstatistiksel olarak ortalamalar arası farklar önemli değil, aç transformasyon değerleri parantez içerisinde gösterilmiştir.

Besi ortamlarına alınan eksplantların kardeşlenme oranı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. En yüksek kardeşlenme oranı $1.0 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$ içeren ortamda 7.85 olmuştur. Bu oranı 5.6 kardeşlenme kat sayısı ile $0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA} + 0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$ içeren MS ortamı takip etmiştir. Üçüncü en yüksek kardeşlenme oranı 4.75 ile kallus oluşum oranının en yüksek olduğu $3 \text{ mg L}^{-1} \text{ BA}$ ve $0.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ IAA}$ içeren ortamdan elde edilmiştir. En düşük kardeşlenme oranı 3.3 ile hormon içermeyen besi ortamında meydana gelmiştir (Şekil 3).

Elde edilen bitkiciklerden bir kısmı 20 g L^{-1} sakkaroz ve IBA hormonunun 1 mg L^{-1} konsantrasyonunu içeren katı MS besi ortamı içeren kavanozlarda kültüre alınmıştır. Yaklaşık 6 hafta sonra kültüre alınan bitkiciklerde köklenmelerin başladığı gözlenmiştir. Köklendirme ortamına alınan bitkilerde %75 oranında köklenme başarısı sağlanmıştır. Farklı ortamlardan gelişen ve köklenen 40 adet sağlıklı bitki besi ortamlarından arındırılarak torf: perlit ortamında saksılarda kültüre alınmıştır. Dış ortamda kültüre alınan bitkilerde 3-4 hafta sonra yapılan gözlemlerde 25 adet bitkinin sağlıklı bir şekilde büyümeye devam ettiği belirlenmiştir. Aklimatizasyon sonucunda bitkilerin hayatta kalma oranı % 62.5 olmuştur.



Şekil 3. BA ve IAA içeren MS ortamında kültüre alınan eksplantlarda kardeşlenme oranı

Figure 3. Multiplication rates of explants cultured on MS media supplemented with BA and IAA

Günümüzde bitki ıslahı ve yetiştiriciliği sürecinde başarılı sonuçlar elde etmek için farklı biyoteknolojik yöntemler uygulanmaktadır. Bitki biyoteknolojinin en kapsamlı uygulamalarından biri bitki doku kültürüdür. Bitki doku kültürü teknikleri kullanılarak, bitki genetik kaynaklarının korunması mümkündür (Dönmez, 2022; Tütüncü ve ark., 2020) Çalışmamızda ülkemizde doğal olarak yetişen yabani çuha çiçeği doğadan toplanarak *in vitro* ortamda başarılı bir şekilde kültüre alınmıştır.

Doğadan toplanan materyallerde gözlenen kontaminasyon riskine karşın yüzey sterilizasyon öncesinde eksplant kaynakları %0.1'lik HgCl₂ ile muamele edilmiştir. Yüzey sterilizasyonu yapılan eksplantlarda ilk etapta herhangi bir bulaşıklık gözlenmemiştir. Ancak alt kültür aşamalarında bazı bitkiciklerin solduğu, renklerinin matlaştığı ve besi ortamında bakteriyel kontaminasyon oluştuğu tespit edilmiştir. Kültür ortamında gözlenen bu durum yabani eksplantların endojen kontaminantları barındırdığını düşündürmektedir. Nitekim, Schween ve Schwenkel (2002) birçok çuha türünde endojen kontaminantların varlığını bildirmiştir. Sterilizasyonda civa klorür kullanımı yüzeysel kontaminantların sterilizasyonunda etkili olsa da eksplantların kararmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Mikroçoğaltım çalışmalarında besi ortamına eklenen bitki büyüme düzenleyicilerin tipi ve konsantrasyonu bitkiden bitkiye farklılık göstermektedir (Kaçar ve ark., 2020). Jia ve ark. (2014) *Primula forbesii* türünde yaptıkları anter kültürü çalışmalarında 1.0 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ 2,4-D eklenen MS besi ortamında kallus oluşumunun en az iki kat arttığını bildirmişlerdir. Schween ve Schwenkel (2002), *P. vulgaris* ve *P. elatior* türlerinde çiçek sapı eksplantlarından en yüksek kallus oluşumunun 4 mg L⁻¹ 2,4-D ve 2 mg L⁻¹ TDZ içeren MS besi ortamında %80 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda farklı sitokinin grubundan BA'nın farklı konsantrasyonları (0.5, 1.0 ve 3.0 mg L⁻¹) ile oksin grubundan IAA (0.5 mg L⁻¹) kullanılmıştır. Oksin ile sitokinin kullanımı eksplantlardan kallus oluşum oranını arttırmıştır. Önceki çalışmalara benzer olarak besi ortamına eklenen oksin ve sitokinin büyüme düzenleyicilerinin kallus uyartımında etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak önceki çalışmalar da göz önünde bulundurulduğunda kallus uyartım etkinliğinin veya kullanılan oksin ve sitokinin dengesinin türden türe değişiklik gösterdiği söylenebilir.

Eksplantlardan sürgün uyartımında her ne kadar ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmasa da kardeşlenme oranına bakıldığında ortamlar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, en yüksek kardeşlenme sayısı 1.0 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IAA içeren MS besi ortamında 7.85 olmuştur. Schween ve Schwenkel (2003) *P. vulgaris* Dark blue V 22 genotipinde kalluslardan eksplant başına 11.6 oranında sürgün gelişimi olduğunu ancak çalışmada yer alan 3 genotipte ise herhangi bir sürgün oluşmadığını bildirmiştir. Morozowska ve Wesołowska (2004), *P. veris* türünde yapmış oldukları

alışmalarında BA (4.44 μM) ve 2,4-D (1.13 μM) içeren MS ortamında sürgün çoğaltım oranı 5.9 olmuştur. Grigoriadou ve ark. (2020) ise *P. veris* türünde 6.6 μM BA içeren MS besi ortamında çoğaltım kat sayısını 2.2 olduğunu bildirmiştir. nceki çalışmalarla kıyaslandığıında 7.85 çoğaltım kat sayısı kabul edilebilir bir oran olduğu görülmektedir. *Primula* türlerinde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında bizim çalışmamızda da olduğu gibi BA'nın rejenerasyonda önemli bir rol oynadığı, ancak kullanılan BA içeriğinin türden tre ve hatta genotipten genotipe değiştiği gözlenmektedir. Ayrıca, BA ile birlikte kullanılan oksin grubu büyüme düzenleyicilerinin sürgün oluşumunu arttırdığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda IBA hormonunun 1 mg L⁻¹ konsantrasyonunu içeren MS besi ortam MS besi ortamı %75 oranında köklenme başarısı sağlanmış ve dış ortama şaşırtılan bitkilerde hayatta kalma oranı %62.5 olmuştur. Mizuhiro ve ark. (2001) *P. obconica* ve *P. malacoides* türünde doku kültüründe elde ettikleri kallusların alt kültür sırasında hormonsuz ½ MS besi ortamında kendiliğinden kklendiğini bildirmiş ve elde edilen *P. obconica* türünde tüm bitkiler dış ortama aktarıldığıında hayatta kalırken, *P. malacoides* türünde 26 bitkiden 18'inin dış ortama başarılı bir şekilde transfer etmişlerdir. Jia ve ark. (2014) *P. forbesii* türünde mikroçoğaltım-la elde ettikleri sürgünlerin hormonsuz besi ortamında %98 oranında köklendiği, ortama eklenen IBA dozu arttıka köklenmenin azaldığı ve kök yapılarının daha kısa olduğunu, dış ortama aktarılan bitkilerden %62'sinin hayatta kaldığıını bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlar diğer uha türlerinde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermekte olup, farklılıkların kültüre alınan türlerin farklı olmasından, kullanılan yöntem ve büyüme düzenleyicilerin miktarlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4. SONUÇ

uhaieği (*P. acaulis*) lkemizde başta Karadeniz bölgesi olmak üzere birçok bölgesinde doğal olarak yayılış göstermektedir. uhaieği türleri süs bitkisi olarak kullanılmakla birlikte, içerdiği kimyasallar bakımından da oldukça önemlidir. uhaieği tohum ve ayırma yöntemleriyle çoğaltılabilmektedir. Ancak tohumların çimlenmesi düzensiz ve çimlenme oranı düşük iken, ayırma ile çoğaltmada çoğaltım kat sayısı doku kültürüne göre oldukça düşüktür. Çalışmamızda doğal olarak yetişen *P. acaulis* rnekleri doğadan toplanarak doku kültüründe çoğaltım olanakları incelenmiştir. Çalışmada rizom örnekleri eksplant olarak kullanılmış 1.0 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IAA içeren MS besi ortamında 7.85 çoğaltım kat sayısı elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler 1 mg L⁻¹ IBA içeren MS ortamında köklendirilmiş ve köklendirilen bitkiciklerin hayatta kalma oranı %62.5 olmuştur. Kültür sırasında bitkinin taşıdığı endojen kontaminasyon problemleri görülmekle birlikte H₂O₂ ve HgCl₂ beraber kullanımı nispeten başarılı olmuştur. Ancak yoğun sterilizasyon nedeniyle eksplantların karardığı düşünülmektedir. Bu nedenle, daha düşük konsantrasyonlarda ancak daha uzun süre sterilizasyon işleminin kontaminas-

yon ve kararına oranını düşüreceği öngörülmektedir. Diğer taraftan köklendirme aşamasında daha düşük konsantrasyonlarda oksin kullanımı veya hormonsuz besi ortamında köklendirmenin gerçekleştirilmesi daha ekonomik üretim için tercih edilebilir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik

Bu çalışma etik kurul onayı gerektirmez.

Yazar Katkı Oranları

Çalışmanın Tasarlanması: MA (%65), MT (%35)

Veri Toplanması: MA (%70), MT (%30)

Veri Analizi: MA (%50), MT (%60)

Makalenin Yazımı: MA (%55), MT (%45)

Makalenin Gönderimi ve Revizyonu: MA (%25), MT (%75)

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında desteklenmiştir (Proje Adı: Samsun İlinde Doğal Olarak Yayılış Gösteren Yabani Çuha Çiçeği (*Primula* sp.)'nin *in vitro* Çoğaltım Olanaklarının Araştırılması).

KAYNAKLAR

- Calahan, C. N., & Gliddon, C. 1985. Genetic neighbour hood sizes in *Primula vulgaris*. *Heredity*, 54, 65-70.
- Dönmez, D. 2022. Regeneration of Plants from Alginate-encapsulated Shoot Tips of Myrtle (*Myrtus communis* L.). *Erwerbs-Obstbau*, 1-8.
- Enache, M., & Băbeanu, N. 2008. Micropropagation Of Garden Plants (2): Rare Primulas Micropropagarea Plantelor De Grădină (2): Primule Rare. *Scientific Bulletin Biotechnology, UŞ AMV Bucharest, Serie F*, 13, 5-9.
- Grigoriadou, K., Sarropoulou, V., Krigas, N., & Maloupa, E. 2020. *In vitro* propagation of *Primulaveris* L. subsp. *veris* (Primulaceae): A valuable medicinal plant with ornamental potential. *International Journal of Botany Studies*, 5(5), 532-539.
- Güner, A., & Aslan, S. 2012. *Türkiye bitkileri listesi;(damarlı bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul. ss. 1290.
- Hayta, S., Smedley, M. A., Li, J., Harwood, W. A., & Gilmartin, P. M. 2016. Plant regeneration from leaf-derived callus cultures of Primrose (*Primula vulgaris*). *Hort Science*, 51(5), 558-562.
- Jia, Y., Zhang, Q. X., Pan, H. T., Wang, S. Q., Liu, Q. L., & Sun, L. X. 2014. Callus induction and haploid plant regeneration from baby primrose (*Primula forbesii* Franch.) anther culture. *Scientia Horticulturae*, 176, 273-281.

- Kaçar, Y. A., Dönmez, D., Biçen, B., Erol, M. H., Şimsek, Ö., & Mendi, Y. Y. 2020. Micropropagation of *Spathiphyllum* with temporary immersion bioreactor system. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(5), 1195-1200.
- Karlsson, M. G. 2001. Primula culture and production. *Hort Technology*, 11(4), 627-635.
- Keller, B., de Vos, J. M., Schmidt-Lebuhn, A. N., Thomson, J. D., & Conti, E. 2016. Bothmorph-and-species-dependent asymmetries affect reproductive barriers between heterostylous species. *Ecology and Evolution*, 6(17), 6223-6244.
- Li, J., Webster, M. A., Smith, M. C., & Gilmartin, P. M. 2011. Floral heteromorphy in *Primula vulgaris*: progress towards isolation and characterization of the S locus. *Annals of botany*, 108(4), 715-726.
- Li, J., Webster, M. A., Wright, J., Cocker, J. M., Smith, M. C., Badakshi, F., Heslop-Harrison, P., & Gilmartin, P. M. 2015. Integration of genetic and physical maps of the *Primula vulgaris* locus and localization by chromosome in situ hybridization. *New Phytologist*, 208(1), 137-148.
- Mizuhiro, M., Kenichi, Y., Ito, K., Kadowaki, S., Ohashi, H., & Mii, M. 2001. Plant regeneration from cell suspension-derived protoplasts of *Primula malacoides* and *Primula obconica*. *Plant Science*, 160(6), 1221-1228.
- Morozowska, M., & Wesolowska, M. 2004. In vitro clonal propagation of *Primula veris* L. And preliminary phytochemical analysis. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 46, 169-175.
- Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Schween, G., & Schwenkel, H. G. 2002. In vitro regeneration in *Primula* ssp. via organogenesis. *Plant cellreports*, 20(11), 1006-1010.
- Schween, G., & Schwenkel, H. G. 2003. Effect of genotype on callus induction, shoot regeneration, and phenotypic stability of regenerated plants in the greenhouse of *Primula* ssp. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72(1), 53-61.
- Sharaf, A. R. N., Hamidoghli, Y., & Zakizadeh, H. (2011). In vitro seed germination and micropropagation of primrose (*Primula heterochroma* Stapf.) an endemic endangered Iranian species via shoot tip explants. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52(3), 298-302.
- Tütüncü, M., Sevindik, B., Tolga, İ., Yılmaz, Ö., Kaynak, G., Çürük, P. E., & Mendi, Y. 2020. Efficient Micropropagation protocol for *Lamium garganicum* L. subsp. *striatum* (Sm.) Hayek var. *striatum* Grown Naturally in Turkey. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 35(2), 89-98.
- Uce, İ., & Tunçtürk, M. 2014. Hakkâri' de doğal olarak yetişen ve yaygın olarak kullanılan bazı yabancı bitkiler. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7(2): 21-25.