

Büyüme hormonları ve aktif kömürün *in vitro* koşullarda kardelen (*Galanthus woronowii* Losinsk.) soğancık oluşumuna etkisi

Effects of plant growth regulators and activated charcoal on *in vitro* formation of bulblet in snowdrop (*Galanthus woronowii*)

Elif YÜZBAŞIOĞLU, Eda DALYAN

İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı, Süleymaniye, İstanbul, Türkiye

Sorumlu yazar (Corresponding author): E. Yüzbaşıoğlu, e-posta (e-mail): aytamka@istanbul.edu.tr

MAKALE BİLGİSİ

Alınış tarihi 03 Mayıs 2017
Düzeltilme tarihi 07 Temmuz 2017
Kabul tarihi 10 Ekim 2017

Anahtar Kelimeler:

Aktif kömür
In vitro
Kardelen

ÖZ

Ülkemiz topraklarında yetişen kardelen, tür çeşitliliği ve endemik zenginliği bakımından önemli bir değere sahiptir. Biyoteknolojik yöntemler kullanılarak, kardelen soğanının sürdürülebilir üretimine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, Karadeniz kardelen soğanının *in vitro* koşullarda üretilmesi için, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ve aktif kömür kullanılarak en verimli ve uygun ortamın bulunması hedeflenmiştir. Bu amaç ile, BAP, NAA, GA₃ ve 2,4-D bitkisel hormon kombinasyonları ve farklı konsantrasyonlarda aktif kömür içeren MS besiyeri ortamlarında soğancık oluşumu teşvik edilmiştir. Uygulanan hormon kombinasyonları arasında 1 mg l⁻¹ BAP ve 0.1 mg l⁻¹ NAA içeren MS ortamında 3.67 adet soğancık elde edilmiştir. En yüksek soğancık sayısı ise, 5 g l⁻¹ aktif kömür içeren MS besiyerinde eksplant başına ortalama 5.95 adet bulunmuştur. Doku kültürü koşullarında elde edilen tüm soğancıklar, 1 g l⁻¹ ve 5 g l⁻¹ aktif kömür içeren MS besiyeri ortamında köklendirilmiş ve dış ortama aktarımları gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, *in vitro* koşullarda kullanılan tüm ortamlar arasında, aktif kömür uygulamasının en yüksek soğancık oluşumunu teşvik ettiği ortaya konmuştur.

ARTICLE INFO

Received 03 May 2017
Received in revised form 07 July 2017
Accepted 10 October 2017

Keywords:

Activated charcoal
In vitro
Snowdrop

ABSTRACT

The snow drop has a wide distribution of our country is an important plant in terms of species diversity and endemic richness. Due to widespread use as ornamental plant, it has commercial economic value. For this reason, sustainable production of snowdrop bulbs is needed using biotechnological methods. In this study, it was aimed to find the optimum and efficient conditions of snowdrop bulb *in vitro* using different plant growth regulators and activated charcoal. For this purpose, BAP, NAA, GA₃ and 2,4-D plant growth regulators combinations and active charcoal at different concentrations were used in MS medium. While bulblet number were found 3.67 in MS medium containing 1 mg l⁻¹ BAP and 0.1 mg l⁻¹ NAA among applied hormone combination, the highest bulblet number per explant as 5.95 were observed on MS medium containing and 5 g l⁻¹ activated charcoal. *In vitro* rooting of bulblets used MS medium supplemented with 1 g l⁻¹ and 5 g l⁻¹ activated charcoal and then acclimatization of bulblet were done successfully. Consequently, the result from the experiment, activated charcoal promoted the highest bulblet multiplication *in vitro*. Among the hormone combinations applied, 3.67 shallots were obtained in MS medium containing 1 mg l⁻¹ BAP and 0.1 mg l⁻¹ NAA.

1. Giriş

Doğadan toplanan ve süs bitkisi olarak ihraç edilen soğanlı bitkilerin ticaretinde ilk sırada kardelen (*Galanthus*) cinsi yer almaktadır. Ülkemizde bu cinsin çok sayıda taksonu bulunmakla birlikte, sadece Toros dağlarında yetişen *Galanthus elwesii* Hook. f. (Toros Kardeleni) ve Doğu Karadeniz dağlarında yetişen *G. woronowii* Losinsk. (Karadeniz

Kardeleni) türlerinin soğanlarının ihracatı yapılmaktadır (Ekim ve ark. 1992; Yüzbaşıoğlu 2012).

Kardelen ihracatı ile ilgili yapılan çalışmalarda, soğanların zamansız, düzensiz, gelişigüzel ve aşırı toplanmasının, bu türlerin popülasyonlarına büyük zarar verdiği gösterilmiştir (Yüzbaşıoğlu 2008; Demir 2010). Bu nedenle ilk olarak 1989

yılında yayımlanan bir yönetmelik ile bu bitkinin doğadan toplanması ve ihracatının yapılması ile ilgili, usul ve koşullar, kontrol altına alınmaya çalışılmıştır (Ekim ve ark. 1992; Anonim 2004; Demir 2010).

Kardelen doğal ortamında tohum ve yeni soğancık oluşumuyla çoğalmaktadır. Tohumdan, yeni olgun bir soğan oluşumu için 3-4 sene gibi uzun bir süre geçmesi gerekmektedir. Hem doğal ortamından soğanların sökülmesi hem de bitkinin doğal hayat döngüsünün uzun olması nedeniyle, kardelen cinsine ait türler giderek azalmakta ve bitkinin üretimine yönelik hızlı çoğaltım yöntemlerinin kullanılması zorunlu hale gelmektedir. Son yıllarda soğanlı bitkiler ile ilgili yapılan *in vitro* çalışmalarda hızlı bir artış gözlenmektedir (Ulus ve Seyidoğlu 2006; Daneshvar-Royandazagh ve ark. 2014; Çığ ve Başdoğan 2015; Özdemir ve ark. 2016). Ülkemizde ilk olarak, Çakırlar ve ark. (1994), *Galanthus elwesii* ve *Galanthus ikariae* Baker türlerinin soğan, yaprak ve çiçek sapını eksplant kaynağı olarak kullanarak, doku kültürü yöntemi ile soğancık üretimini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, soğan pul yapraklarının en uygun eksplant kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, eksplant kaynağı olarak, *G. elwesii* tohumlarından elde edilen olgunlaşmamış embriyolar kullanılmıştır (Nasırıcılar ve Karagüzel 2006). Kardelen soğancık oluşumu çalışmalarında genellikle, benzil amino purin (BAP) ve naftalen asetik asit (NAA) bitkisel hormon kombinasyonları kullanılmıştır (Tıprıdamaz ve ark. 1999; Staikidou ve ark. 2006; Nasırıcılar ve Karagüzel 2006). *G. nivalis*, *G. nivalis* 'Flore Pleno' ve *G. elwesii* türleri ile yapılan diğer bir doku kültürü çalışmasında ise, soğan pul yapraklarından 1 mg l⁻¹ BA ve 0.1 mg l⁻¹ NAA hormon konsantrasyonları içeren MS ortamında soğancık elde edilmiş; aktif kömür içeren MS ortamında, soğancık büyümesinde, kök sayısında ve uzamasında önemli bir artış görülmüştür (Staikidou ve ark. 2006; Staikidou ve Selby 2012). Tıprıdamaz (2003) yaptığı çalışmada, *Galanthus ikariae* soğan pul yapraklarından *in vitro* koşullarda elde edilen soğancıkların NAA içeren MS ortamında etkili oranda köklenme gösterdiğini bulmuştur (Tıprıdamaz 2003).

Yapılan tüm bu çalışmalarda, genellikle BA ve NAA bitkisel hormonlarının az sayıda kombinasyonu kullanılmıştır. Aktif kömür uygulaması ise, sadece soğancık büyümesi üzerine çalışılmıştır. Bu çalışmada ise, Karadeniz kardeleni (*Galanthus woronowii*) soğan pullarından, bitkisel hormonların (BAP, NAA, GA₃ ve 2,4-D) farklı konsantrasyonları ve kombinasyonlarının *in vitro* koşullarda soğancık oluşumu üzerine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, MS ortamında aktif kömürün farklı konsantrasyonlarının teşvik ettiği soğancık oluşumunu çalışılmıştır. Çalışmanın sonucunda, *in vitro* kardelen soğancık üretiminde en verimli ve uygun ortamın bulunması hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmamızda kullanılan bitkisel materyal olan Karadeniz kardeleni (*Galanthus woronowii*) Trabzon ili Sürmene ilçesinden Bilgin Ticaret (Süleyman Bilgin) tarafından temin edilmiştir. Yaklaşık 150 adet olgun kardelen soğanı kullanılmıştır. Bitki doku kültürü ortamı olarak 30 g l⁻¹ sukroz ve 2.5 g pytagel içeren MS (Murashige ve Skoog 1962; Duchefa M0221) kullanılmıştır. MS ortamının pH değeri 5.7 olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamları 121 °C de 20 dk steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası, vitamin karışımı 1 mg l⁻¹ oranında (sigma, M3900) eklenmiştir. Besiyeri ortamı soğuduktan sonra aşağıda belirtilen hormon kombinasyonları

eklenerek steril petrilere ve filtreli kültür kaplarına (Duchefa, E1654-80 mm, E1674-140 mm) dökülmüştür. Bitkisel hormon kombinasyonları 2 mg l⁻¹ BAP (benzil amino purin) ve 0.2 mg l⁻¹ NAA (naftalen asetik asit), 1 mg l⁻¹ BAP ve 0.1 mg l⁻¹ NAA, 1 mg l⁻¹ BAP, 0.1 mg l⁻¹ NAA ve 0.1 mg l⁻¹ GA₃ (giberellik asit), 2.0 mg l⁻¹ GA₃, 0.1 mg l⁻¹ NAA ve 1 mg l⁻¹ 2,4-D, 0.2 mg l⁻¹ NAA ve 2 mg l⁻¹ 2,4-D olacak şekilde kullanılmıştır. MS ortamındaki aktif kömür ise, sterilizasyon aşamasından önce 1 ve 5 g l⁻¹ oranında ilave edilmiştir.

Sterilizasyon işleminde dış kabukları soyulan soğanlar, 30 dk akan musluk suyu altında yıkanmıştır. Daha sonra, 30 dk % 50 çamaşır suyunda bekletilerek, steril koşullarda 4 parçaya bölünmüştür. Parçalanmış soğanlar tekrar 30 dk % 10 çamaşır suyunda bekletildikten sonra, 3 defa steril su ile 10 ar dakika yıkanmıştır. Sterilizasyon işlemi tamamlanan soğan pulları steril filtre kağıdı ile kurularak, 1 cm büyüklüğünde eksplantlar elde edilmiştir. Doku kültürü çalışması, bitki büyüme kabini koşullarında (VB 0714, Bioline, Vötsch Industrietechnik, Almanya; iç boyutlar: 970x750x1400; ışık yoğunluğu:450 mmol m⁻² s⁻¹ @ 200 mm) 18 °C sıcaklıkta ve 16/8 ışık periyodunda yapılmıştır. Denemeler birbirinden bağımsız en az 3 tekrar olacak şekilde yapılmıştır. Soğancık sayımı için, her bir deney kendi içinde en az 5 tekrar olacak şekilde tasarlanmıştır. Petri ortamında 4 adet eksplant, filtreli kültür kaplarında ise yaklaşık 6 eksplant kullanılmıştır. Yaklaşık 4 ay sonunda, soğancık oluşumu gözlenen eksplantlar sayılarak "soğancık görülme sıklığı" yüzde cinsinden hesaplanmıştır. Eksplantlar üzerinde oluşan soğancıklar sayılarak "Eksplant başına düşen soğancık sayısı" yüzde cinsinden ifade edilmiştir. Denemeler yaklaşık 4 hafta sonunda alt kültüre alınmıştır. Soğan pul yapraklarından elde edilen soğancıkların köklendirilmesi 1 mg l⁻¹ ve 5 mg l⁻¹ aktif kömür içeren besiyerleri tüp ve filtreli kültür kapları kullanılarak yapılmıştır. Kök gelişimi tamamlanan soğancıklar, perlit içeren saksılarda dış ortama aktarılmıştır. Soğancıkların ekildiği saksıların üzerine şeffaf poşetler geçirilerek 10 gün boyunca doğrudan hava ile teması engellenerek dış ortama alıştırılması sağlanmıştır.

3. Bulgular

Doğal ortamından toplanmış olgun kardelen soğanları (*Galanthus woronowii*) ticari çamaşır suyu kullanılarak steril edilmiştir. Sterilizasyon işlemi sonrasında yaklaşık % 50 oranında eksplant kaybı gözlenmiştir. Bu nedenle, deney çalışmasının başlangıcında oldukça fazla sayıda petri ve filtreli kültür kabı ile çalışmaya başlanmıştır. Kardelen soğan pullarının sterilizasyonunu takiben doku kültürü ortamında yaklaşık 4 ay süre sonunda yüksek oranda soğancık oluşumu kaydedilmiştir. Çalışmamızda elde edilen veriler, köklenme ortamına alınabilecek büyüklüğe gelen soğanlar sayılarak elde edilmiştir. Ayrıca, bitkisel hormon ve aktif kömür içermeyen MS ortamında da soğancık oluşumu gözlenmiş olmasına rağmen oluşan soğancıklar sayılabilecek büyüklüğe ulaşmadığı için yeterli veri kaydı yapılamamıştır.

3.1. Bitkisel Hormon Kombinasyonlarının Soğancık Oluşumuna Etkisi

Bitkisel hormon kombinasyonlarının tamamında, soğancık oluşumu farklı oranlarda gözlenmiştir. Her bir eksplant üzerinde birden fazla sayıda soğancık oluşumu gerçekleşmiştir. Oluşan soğancık sayısı uygulanan bitkisel hormon içeriğine göre farklılık göstermiştir. 1 mg l⁻¹ BAP ve 0.1 mg l⁻¹ NAA içeren MS ortamında tüm eksplantlarda soğancık oluşumu (% 100) tespit edilmiştir. Çizelge 1'de belirtilen tüm hormon

kombinasyonları içerisinde eksplant başına düşen en yüksek soğancık sayısı 3.67 ile 1 mg l^{-1} BAP ve 0.1 mg l^{-1} NAA içeren MS ortamında bulunmuştur. Sitokinin (BAP) ve oksin (NAA) konsantrasyonu arttıkça soğancık oluşumunda azalma kaydedilmiştir. 2 mg l^{-1} BAP ve 0.2 mg l^{-1} NAA içeren MS ortamındaki eksplantlarda % 76 oranında soğancık oluşumu elde edilmiştir. En düşük soğancık görülme sıklığı ise % 20 oranında 1 mg l^{-1} BAP, 0.1 mg l^{-1} NAA ve 0.1 mg l^{-1} GA₃ içeren MS ortamında gözlenmiştir. NAA ve 2,4-D içeren MS ortamlarında ise konsantrasyon arttıkça eksplant başına düşen soğancık sayısında azalma kaydedilmiştir (Çizelge 1). Tüm ortamlardan elde edilen soğancıklar 1 ve 5 mg l^{-1} aktif kömür içeren MS ortamında köklendirilerek, soğancıkların dış ortama aktarımları yüksek oranda başarı ile tamamlanmıştır.

3.2. Aktif Kömürün Soğancık Oluşumuna Etkisi

MS besiyeri ortamına 1 ve 5 g l^{-1} oranında aktif kömür eklenerek, kardelen soğan pullarından elde edilen tüm eksplantlarda soğancık oluşumu teşvik edilmiştir. 5 g l^{-1} aktif kömür içeren MS ortamında eksplant başına düşen soğancık sayısı 5.95 adet ile en yüksek verimi göstermiştir (Çizelge 2) (Şekil 1). 1 mg l^{-1} aktif kömür içeren MS ortamında ise 2.95 adet eksplant başına soğancık oluşumu bulunmuştur. MS ortamında aktif kömür ilavesi ile elde edilen soğancıklar 1 mg l^{-1} ve 5 mg l^{-1} aktif kömür içeren MS ortamlarında başarılı bir şekilde köklenmiştir (Şekil 2). Köklenen soğancıkların dış ortama aktarımı perlit içeren saksılarda yapılmıştır (Şekil 2).

Çizelge 1. Bitkisel hormon kombinasyonlarının kardelen soğancık oluşumuna etkisi.

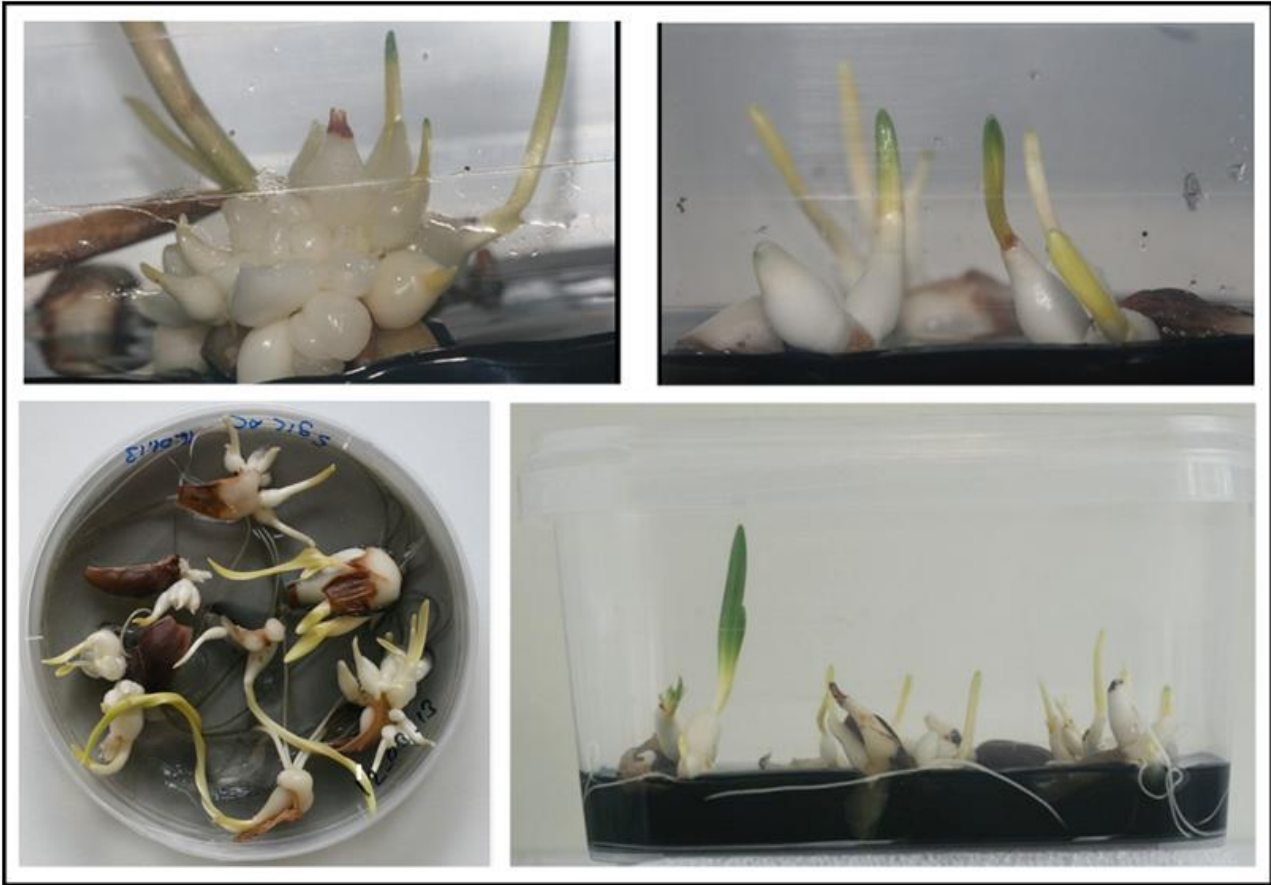
Table 1. The Effect of plant hormone combination on the formation of snowdrop bulblet.

Bitkisel Hormonlar (mg l^{-1})				Soğancık görülme sıklığı (%)	Eksplant başına düşen soğancık sayısı
BAP	NAA	GA ₃	2,4-D		
1.00	0.1			100±0	3.67±0.8
2.00	0.2			76.335±7.63	3.07±0.6
1.00	0.1	0.1		20±0	1.13±0.1
		2.0		35.56±3.8	1.2±0.2
	0.1		1.00	45.71±5.08	1.41±0.32
	0.2		2.00	37.89±4.77	0.61±0.13

Çizelge 2. Aktif kömür içeren MS ortamında soğancık oluşumu.

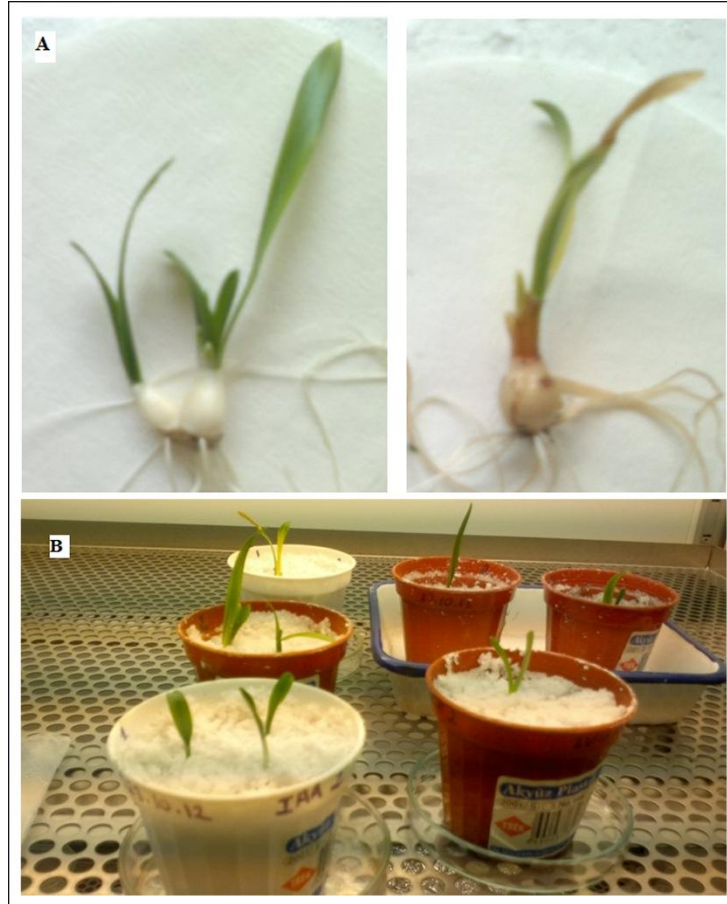
Table 2. The bulblet formation in MS medium including activated charcoal.

Aktif Kömür (g l^{-1})	Soğancık görülme sıklığı (%)	Eksplant başına düşen soğancık sayısı
1.0	100	2.552±0.27
5.0	100	5.95±0.78



Şekil 1. 5 g l^{-1} aktif kömür içeren MS besiyerinde soğancık oluşumu.

Figure 1. The bulblet formation in MS medium including 5 g l^{-1} activated charcoal.



Şekil 2. 1 g l⁻¹ aktif kömür içeren MS besiyerin de köklendirilen kardelen soğanlıkları (A). Doku kültürü koşullarında elde edilen soğanlıkların dış ortama aktarılması (B).

Figure 2. Rooted snowdrop bulbets in MS medium including 1 g l⁻¹ activated charcoal (A). Acclimatization of bulbets obtaining from tissue culture condition (B).

4. Tartışma ve Sonuç

Bitkisel dokuların totipotensi özelliğinden yararlanarak geliştirilen bitki doku kültürü tekniği, günümüzde ticari ve bilimsel amaçlı birçok bitki türünün vegetatif üretiminde kullanılmaktadır. Vegetatif üretimi yapılacak olan bitkinin özelliğine göre, eksplant kaynağı farklı doku ve organlardan seçilmektedir. Geofit olarak bilinen soğanlı bitkilerin doku kültürü çalışmalarında, soğan ve rizom gibi toprak altı sürgünleri sıklıkla kullanılmıştır (Çiğ ve Başdoğan 2015). Bu çalışmada, *in vitro* koşullarda, Karadeniz kardeleni (*Galanthus woronowii*) nin soğan pul yaprakları eksplant kaynağı olarak çalışılmıştır. Soğan pul yapraklarının tamamen steril edilmemesinden dolayı, eksplant kaybı yaşanmıştır. Ancak, olgun kardelen soğanından çok sayıda eksplant elde edilebildiği için, sürgün oluşumu sırasında problem yaşanmamıştır. Aktif kömür (Çizelge 2) ve 1 mg l⁻¹ BAP ve 0.1 mg l⁻¹ NAA içeren MS ortamlarında (Çizelge 1) tüm eksplantlarda soğanlık oluşumu tespit edilmiştir. Kullanılan diğer MS ortamlarında da, soğan pul yapraklarında yüksek oranda soğanlık oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, Karadeniz kardeleninin soğan pul yaprakları *in vitro* koşullarda, verimli bir eksplant kaynağı olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır. Tıprdamaz ve ark. (1999) da yaptıkları çalışmada karadeniz kardeleninin soğan parçası, çift pul yaprak ve soğan pul yaprağı, bazal doku içermeyen pul yaprağının üst kısımlarını eksplant

kaynağı olarak kullanmışlardır. En uygun eksplant kaynağının soğan pul yaprakları olduğunu ifade etmişlerdir.

Bitki doku kültürü çalışmalarında, bitki büyüme düzenleyicileri soğanlık üretiminin teşvik edilmesinde oldukça önemli işlev görmektedir. Bitki büyüme düzenleyicilerinin oranları ve karışım halinde kullanımı soğanlık verimini etkileyen önemli faktörler arasındadır. Bu çalışma ile, sitokinin kaynağı olarak BAP, oksin kaynağı olarak NAA kullanımının soğanlık veriminde yüksek etkisi bulunmuştur. BAP ve NAA hormonlarının konsantrasyonu artırıldığında, soğanlık görülme sıklığı ve eksplant başına düşen soğanlık sayısında azalma gözlenmiştir (Çizelge 1). Karadeniz kardelen soğanının *in vitro* koşullarda üretiminde, 1 mg l⁻¹ BAP ve 0.1 mg l⁻¹ NAA bitkisel hormonları içeren MS ortamında en yüksek soğanlık oluşumu bulunmuştur. *Galanthus nivalis* ile yapılan bir çalışmada, soğan pullarından farklı oranlarda BAP ve NAA kullanarak *in vitro* koşullarda soğanlık üretimi yapılmıştır (Staikidou ve Selby 2012) ve BAP ve NAA konsantrasyonu azaldıkça, soğanlık veriminde azalma bulunmuş, 1 mg l⁻¹ BAP ve 0.1 mg l⁻¹ NAA içeren ortamda en uygun soğanlık oluşumu rapor edilmiştir.

Aktif kömür, bitki doku kültürü çalışmalarında hücre büyüme ve gelişmesinin teşvik edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Thomas 2008). Doku kültürü ortamına aktif kömür eklenmesi, fenolik oksidasyonu önemli miktarda azaltarak, en uygun morfogenez oluşumu için ortamın pH sını düzenlemektedir (Thomas 2008). Kardelen türleri ile yapılan

çalışmalarda, aktif kömür uygulamasının, *in vitro* koşullarda soğancıkların büyümesi ve köklendirilmesini artırdığı bulunmuştur (Staikidou ve ark. 2006; Staikidou ve Selby 2012). Bu çalışmada ise, kardelen soğan pullarından alınan eksplantlar da, 5 mg l⁻¹ aktif kömür içeren MS ortamında yaklaşık 6 adet soğancık oluşumu gözlenmiştir ve uygulanan tüm ortamlar içerisinde en yüksek verim elde edilmiştir. Doku kültürü yöntemi ile kardelen soğancık üretiminde, aktif kömür kullanımının etkili ve verimli sonuç verdiği bulunmuştur.

Sonuç olarak, doku kültürü yöntemi ile kardelen soğanının üretimi başarılı bir şekilde tamamlanmış ve soğancıkların dış ortama aktarımı gerçekleşmiştir. Çalışmamızda, *in vitro* koşullarda aktif kömürün Karadeniz kardelen soğan pullarından yüksek sayıda soğancık oluşumunu teşvik ettiği ortaya konmuştur.

Teşekkür

Bu çalışma Bilim, Sanayi Teknoloji Bakanlığı 1457.TGSD.2012 nolu ve İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi 41364 nolu projeler tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Anonim (2004) Doğal çiçek Soğanlarının sökülmesi, üretimi ve ticaretine ilişkin yönetmelik. Resmi Gazete 24 Ağustos 2004, Ankara.
- Çakırlar H, Tıprıdamaz R, Ellialtıoğlu Ş (1994) Türkiye’de ticari değeri olan *Galanthus* (*G. Elwesii* Hooker Fil. Ve *G. ikariae* Baker.) türlerinin doku kültürü yoluyla üretimi. TÜBİTAK projesi TBGAG-19/A.
- Çığ A, Başdoğan G (2015) *In vitro* propagation techniques for some geophyte ornamental plants with high economic value. International Journal of Secondary Metabolite 2(1): 27-49.
- Daneshvar-Royandazagh S, Pehlivan EC, Teykin EE, Çiftçi HS (2014) *Lilium candidum* L.’da *In vitro* mikroçoğaltım ile kozmetik sanayisine ham madde temini. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences 2: 1911-1916.
- Demir A (2010) Türkiye’de kardelen ticareti ve politik yaklaşımlar. Biological Diversity and Conservation 3(3): 111-120.
- Ekim T, Arslan N, Koyuncu M (1992) Exported flower bulbs from Turkey and measurements taken. Acta Horticulturae 325: 861-865.
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology 15: 473-497.
- Nasırcılar AG, Karagüzel Ö (2006) *Galanthus elwesii* Hook. bitkisinin olgunlaşmamış embriyolarından *in vitro* soğan üretimi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 19(2): 159-164.
- Özdemir FA, Yıldırım MU, Kahriz MP, Kiliç Ö (2016) *In vitro* bulblet regeneration from *Scilla Siberica* Haw. subsp. *armena* (Grossh.) mordak peduncle. Propagation of Ornamental Plants 16(1): 14-18.
- Staikidou I, Selby C, Hanks G (2006) Stimulation of *in vitro* bulblet growth in *Galanthus* species with sucrose and activated charcoal. Acta Horticulturae 725: 421-426.
- Staikidou I, Selby C (2012) Effects of growth regulators and activated charcoal on *in vitro* bulblet multiplication and growth in *Galanthus nivalis* “Flore Pleno”. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 87: 527-530.
- Thomas D (2008) The role of activated charcoal in plant tissue culture. Biotechnology Advances 26: 618-631.
- Tıprıdamaz R, Ellialtıoğlu S, Çakırlar H (1999) The micropropagation of snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker): effects explant type, carbohydrate source and dose and pH changes in the medium on bulblet formation. Turkish Journal of Agriculture & Forestry 23(4): 823-830.

Tıprıdamaz R (2003) Rooting and acclimatization of *in vitro* micropropagated snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker) bulblets. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 16: 121-126.

Ulus A, Seyidoğlu N (2006) Bazı doğal geofitlerin doku kültürü ile üretimi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi 56:1 71-80.

Yüzbaşıoğlu S (2008) The development of non-detriment findings for *Galanthus elwesii* Hook. f., in Turkey. NDF Workshop Case Studies, Mexico, pp. 1-13.

Yüzbaşıoğlu S (2012) Morphological variations of *Galanthus elwesii* in Turkey and difficulties on identification. Bocccone 24: 335-339.