

## Zambak (*Lilium candidum* L.) Bitkisinin *in vitro* Ortamda Soğan Pulları Kullanılarak Çoğaltılmasının Tarımsal ve Ticari Potansiyeli

İlknur ESKİMEZ<sup>1\*</sup>, Yeşim YALÇIN MENDİ<sup>2</sup>, Mehmet POLAT<sup>3</sup>, Adnan Nurhan YILDIRIM<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ziraat Yük. Müh., Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fak., Bahçe Bitkileri Böl., Isparta; ORCID:0000-0003-4443-505X

<sup>2</sup>Prof. Dr., Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana; ORCID: 0000-0002-4587-5156

<sup>3</sup>Doç. Dr., Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fak., Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta; ORCID: 0000-0002-2415-4229

<sup>4</sup>Prof. Dr., Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Böl., Isparta; ORCID: 0000-0003-2526-040X

### ÖZ

Zambak (*Lilium* spp.), estetik değeri ve ekonomik önemi nedeniyle dünya çapında yaygın olarak yetiştirilen bir süs bitkisidir. Bu bitkinin *in vitro* koşullarda çoğaltılması ve yetiştirilmesi, genetik varyasyonların korunması, hastalıklara karşı dirençli genotiplerin üretilmesi ve ticari üretimin artırılması gibi çeşitli nedenlerle büyük ilgi görmektedir. Bu bağlamda, zambak bitkisinin soğan pulları temelinde *in vitro* ortamda yetiştirilmesi ve çoğaltılması, modern bitki çoğaltma yöntemleri arasında önemli bir uygulama alanını oluşturmaktadır. Bu çalışma, zambak bitkisinin *in vitro* koşullarda soğan pulları üzerine yapılan çalışmaların sonuçlarını ve elde edilen bulguları değerlendirmeyi amaçlamaktadır. *In vitro* kültür teknikleri, bitki hücrelerinin kontrollü koşullarda büyütülmesini ve geliştirilmesini sağlayan güçlü araçlardır. Bu teknikler, bitki fizyolojisi, morfolojisi ve moleküler biyoloji alanlarında çeşitli parametreleri incelemek için kullanılır. Zambak bitkisinin soğan pulları ile *in vitro* çoğaltımı, bitki rejenerasyonu, doku kültürü optimizasyonu, hormonal düzenlemelerin etkisi ve kalite kontrolü gibi konuları içermektedir. Yapılan çalışmalarda, farklı besin ortamları, hormon kombinasyonları, ışık düzenlemeleri ve çoğaltım yöntemleri gibi değişkenlerin, zambağın *in vitro* gelişimi ve soğan pulları üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, zambak bitkisinin *in vitro* çoğaltımının artan verimlilik, kalite ve hastalık direnci açısından nasıl optimize edilebileceği konusunda önemli perspektifler sunmaktadır. Sonuç olarak, zambak bitkisinin *in vitro* ortamda soğan pulları ile çoğaltımı üzerine yapılan çalışmalar, zambak yetiştiriciliğinde verimliliği artırmak, genetik varyasyonları korumak ve hastalıklara karşı dirençli bitki materyali üretmek gibi pratik uygulamalara yönelik önemli bilgiler sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Lilyum, *in vitro*, soğan pulu, rejenerasyon

**Lily (*Lilium candidum* L.) the Agricultural and Commercial Potential of Micropropagation the Plant Using Bulb Scales *in vitro* Environment**

### ABSTRACT

Lily (*Lilium* spp.) is a widely cultivated ornamental plant worldwide due to its aesthetic value and economic significance. The *in vitro* propagation and cultivation of this plant have garnered significant attention for various reasons, including the preservation of genetic variation, the production of genotypes resistant to diseases, and the enhancement of commercial production. In this context, the cultivation and propagation of lilies based on bulb scales in an *in vitro* environment represent a significant application within modern plant propagation methods. This study aims to evaluate the results and findings of research conducted on lilies *in vitro* using bulb scales. *In vitro* culture techniques are powerful tools that allow the controlled growth and development of plant cells. These techniques are employed to investigate various parameters in the fields of plant physiology, morphology, and molecular biology. Lily propagation with bulb scales *in vitro* encompasses topics such as plant regeneration, tissue culture optimization, the effects of hormonal regulation, and quality control. In these studies, variables such as different nutrient media, hormone combinations, light regimes, and propagation methods have been examined for their impact on the *in vitro* growth of lilies and bulb scales. The results of these studies provide important perspectives on how the *in vitro* propagation of lilies can be optimized for increased productivity, quality, and disease resistance. In conclusion, research on the *in vitro* propagation of lilies using bulb scales provides valuable insights for practical applications in lily cultivation, including increasing productivity, preserving genetic variations, and producing plant materials resistant to diseases.

**Keywords:** Lily, *in vitro*, bulb scale, regeneration

### GİRİŞ

Zambak (*Lilium* spp.), gösterişli çiçek yapısı ve hoş kokusu sebebiyle yaygın olarak tercih edilen

önemli kesme çiçek türlerinden biridir [1]. Süs bitkileri içerisinde ekonomik bakımdan önemli olan zambağın, *Lilium longiflorum*, *Lilium speciosum* ve *Lilium auratum* gibi birçok türü bulunmaktadır.

\*Sorumlu yazar / Corresponding author: ilknureskimez01@gmail.com

Zambak çiçekleri, çevresel koşullara kolay adaptasyonu sebebiyle, diğer kesme çiçek türlerine göre daha düşük üretim maliyetine sahiptir. Royal Horticultural Society tarafından 1982-2002 yılları arasında yapılan sınıflandırmaya göre, zambaklar şu kategorilere ayrılmıştır: Asiyatik melezler, Martagon tip melezler, Candidum melezleri, Amerikan tür melezleri, Longiflorum melezleri, Trompet melezler, Oriental melezler ve diğer melez gruplarıdır [2, 3]. Zambak türlerinin sayısız çeşidine rağmen, ekonomik değeri yüksek olan iki ana tür Mis zambağı (*Lilium candidum* L.) ve Nisan zambağı (*Lilium longiflorum* Thunb.) olarak öne çıkmaktadır [4].

Biyoteknolojik araştırmaların temel amacı, geleneksel bitki üretim sistemlerinin kapasitesini artırmak, bitkilerin en uygun büyüme koşullarını sağlamak, sağlıklı bitkiler yetiştirerek verim ve kaliteyi arttırmaktır. Bu hedefe ulaşmak için, bugüne kadar çeşitli biyoteknolojik yöntemler kullanılmıştır. Zambak'ta doku kültürü üretimi uygulamaları 1950'li yıllardan beri yapılmaktadır. Zambak, nişasta, şeker ve protein içeren bir soğanlı bitki türüdür. Soğanın etrafını saran pullar, yeni sürgünler ve bitkiler yetiştirmek için ayrılmakta ve bu yöntem kullanılarak vejetatif olarak çoğaltılmaktadır [5]. Zambak bitkisi ticari olarak bu yöntemle kasalara dikilmekte ya da doku kültürü yöntemi kullanılarak çoğaltılmaktadır [1, 4, 6].

Zambak bitkisinin *in vitro* ortamda soğan pulları ile çoğaltılmasının birçok avantajı bulunmaktadır. Doku kültürünün kullanımı, ticari üretim sürecinde büyük fayda sağlar, çünkü zambakları tarlada ya da kasalarda yetiştirmek, iklim koşullarının uygun olduğu bölgelerde mümkün olabilir; aksi halde soğanlarda mantari hastalıklar meydana gelmektedir. *In vitro* çoğaltım, geleneksel tohumdan veya soğandan yetiştirme yöntemlerine göre daha hızlı bir bitki üretimini mümkün kılar. [6, 7]. Bu sayede piyasanın arz-talep dengesi sağlanabilir. Aynı zamanda, *in vitro* çoğaltım, genetik stabiliteyi sağlamakta ve bu sayede elde edilen bitkilerin özelliklerinin daha homojen olması ve istenmeyen genetik varyasyonların önlenmesi mümkün olmaktadır. *In vitro* çoğaltım sırasında bitkiler steril koşullarda yetiştirilir, bu da potansiyel hastalık ve zararlı organizmaların bitkilere bulaşma riskini azaltır. Bu durum hastalıklardan arındırılmış sağlıklı bitkilerin üretilmesi için kritiktir. Ayrıca, *in vitro* çoğaltım mevsim koşullarından bağımsız olarak yılın herhangi bir zamanında gerçekleştirilebilir. Böylece, belirli bir mevsimde yetiştirilen bitkilerin üretimini artırabilir ve pazar taleplerine yanıt verilebilir. Zambak gibi değerli süs bitkilerinin ticari üretimi için *in vitro* çoğaltım yeni fırsatlar sunar. *In vitro*

çoğaltım, bu bitkilerin ticari üretimini artırabilir ve çiçek endüstrisinde büyümeyi teşvik edebilir [8].

Yirminci yüzyılın ikinci yarısında zambak için doku kültürü yöntemlerinin geliştirilmesi üzerine birçok çalışma yürütülmüştür. Endonezya'da zambak kesme çiçeklerinin geliştirilmesi için *in vitro* teknikler kullanılmıştır. Robb [9] ve Takayama ve Misawa [10], zambak soğan pullarını kültüre alarak *in vitro* ortamda soğan oluşturmuşlardır. Yapılan birçok çalışmada, *in vitro* ortamda, zambak bitkisinin başarılı bir şekilde çoğaltılmasını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar arasında büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonu [5, 6, 7, 11] eksplantların kesim şekli [5, 7] ortam sıcaklığı ve ışık düzeyi gösterilebilmektedir [8].

Soğan pullarının boyutu, *in vitro* kültür koşullarında zambak bitkisinin büyümesi üzerinde belirleyici bir faktördür. Bu faktör, bitkinin büyüme performansını etkileyen çeşitli mekanizmalar aracılığıyla rol oynamaktadır. Öncelikle, daha büyük soğan pulları daha fazla besin maddesi ve enerji depolama kapasitesine sahiptir. Bu durum, bitkinin büyüme ve gelişmesi için daha fazla depo maddesi sağlanmasına yardımcı olmaktadır [10, 21]. Ayrıca, büyük soğan pulları, daha büyük kök sistemlerinin gelişimine destek olarak, bitkinin su ve besin maddelerini daha verimli bir şekilde almasına yardımcı olmaktadır. Su tutma kapasitesi açısından da daha büyük soğan pulları avantaj sağlamaktadır. Bu durum, bitkinin *in vitro* koşullarda suyun daha iyi tutulmasını sağlayarak, su stresi yaşama olasılığını azaltabilir [21]. Ayrıca, daha büyük soğan pulları, bitkinin hastalıklara ve stres koşullarına karşı daha iyi bir bağışıklık geliştirmesine yardımcı olabilir. Genel olarak bütün çalışmalarda olduğu gibi, zambak içinde sitokin/oksin oranı oldukça önemlidir ve bu bitkinin çoğaltılmasında eksplant kaynağı olarak soğan pullarının kullanılmasının daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir [9, 10, 12]. Fakat bununla birlikte soğan pullarında hangi kesitin daha iyi sonuç verdiği tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, zambağın soğan pulları üzerine yapılan *in vitro* çalışmalar taranarak, hormon konsantrasyonunun, mikro soğan sayısına etkileri derlenmiştir.

### ZAMBAĞIN SOĞAN PULLARI İLE ÇOĞALTILMASI ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Zambak bitkisi, ticari olarak soğan pulları kullanılarak çoğaltılmaktadır [4]. Bu bağlamda, zambağın soğan pulları kullanılarak çoğaltılması üzerine gerçekleştirilen tez çalışmaları Çizelge 1'de sunulmaktadır. "Doku Kültürü Yöntemi ile Değişik Besi Ortamlarında Beyaz Zambak Yetiştirilmesi"

başlıklı çalışma, Türkiye’de bu konuyla ilgili gerçekleştirilen ilk çalışma olarak dikkat çekmektedir. Çalışmada bitki yetiştirme ortamı olarak, Murashige Skoog (MS) tarafından geliştirilen besin ortamı kullanılmıştır. Araştırmada büyümeyi düzenleyici maddelerden olan NAA (Naftalin Asetik Asit) ve BA’nın (Benzil Adenin) farklı oranları (0.1/0.5, 0.5/1.0, 1.0/1.5 NAA/BA mg.l<sup>-1</sup>) incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, en iyi bitkilerin 0.1 NAA/0.5 BA mg.l<sup>-1</sup> içeren ortamdan elde edildiği belirtilmektedir [13]. Bu çalışma, zambakın doku kültürü yöntemiyle üretiminde önemli bir adım olup, Türkiye’de bu alandaki bilimsel araştırmalara değerli bir katkı sunmaktadır.

Sterilizasyon, doku kültürü materyallerinin mikroorganizmalardan, fungal ve bakteriyel kontaminasyondan arındırılması sürecidir. Bu işlem, laboratuvar koşullarında temiz ve kontaminasyondan arındırılmış bir ortamın sağlanmasını amaçlamaktadır. Sterilizasyon işlemi, doku kültürü için kullanılacak olan ekipman, ortam, besin maddeleri ve bitki materyali üzerinde uygulanmaktadır [15]. Yanlış uygulanan veya eksik sterilizasyon işlemleri, doku kültürü materyali

üzerinde istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesine neden olabilir. Bu durum, doku kültürü çalışmalarının sonuçlarını etkileyebilir ve istenmeyen varyasyonlara yol açabilir [12]. Dolayısıyla, sterilizasyonun doğru bir şekilde uygulanması, doku kültürü çalışmalarının güvenilirliğini ve başarısını sağlamak için temel bir gerekliliktir. Bu bağlamda *Lilium candidum* L.’nin Mikroçoğaltımı üzerine yapılan bir çalışmada temel besi ortamı olarak, MS besi ortamı tercih edilmiş ve ortam içerisine 0.1 mg.l<sup>-1</sup> NAA+0.01 mg.l<sup>-1</sup> BA ilave edilmiştir. Çalışmanın amacı, farklı sterilizasyon yöntemlerinin, lilyum soğan pullarının *in vitro* ortamdaki başarısını belirlemektir. Çalışmada ayrıca sterilizasyon yöntemi olarak, 200 ve 400 mg.l<sup>-1</sup> Streptomycin+Penicillin, 300 mg.l<sup>-1</sup> Streptomycin+75 mg.l<sup>-1</sup> Benomyl, 600 mg.l<sup>-1</sup> Streptomycin+150 mg.l<sup>-1</sup>, 50 ve 100 mg.l<sup>-1</sup> Benomyl+Nystatin olmak üzere toplamda 6 farklı yöntem denenmiştir. Çalışmada en iyi sonuçlar, 50 ve 100 mg.l<sup>-1</sup> Benomyl+Nystatin içeren fungusit karışımlarından alınmıştır [12]. Çalışmadan hareketle sterilizasyonun titizlikle ve özenle uygulanmasının, çalışmanın başarısına olumlu yönde katkı sağladığı söylenebilir.

Çizelge 1. Zambak (*Lilium candidum* L.)’ın soğan pulları ile çoğaltılması üzerine yapılmış yüksek lisans tezleri

Kaynak	Çalışma adı	Kullanılan eksplant	Besin ortamı içeriği (mg.l <sup>-1</sup> )	Başarılı ortam	Başarı oranı (%)
[13]	Doku Kültürü Yöntemi ile Değişik Besi Ortamlarında Beyaz Zambak Yetiştirilmesi	Soğan pulu	(MS 0.0/0.0, 0.1/0.5, 0.5/1.0, 1.0/1.5 NAA/BA mg.l <sup>-1</sup> )	0.1 NAA/0.5 BA mg.l <sup>-1</sup>	Bildirilmemiş
[12]	<i>Lilium candidum</i> L.’nin Mikroçoğaltımı	Soğan pulu	MS 0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+0.01 mg.l <sup>-1</sup> BA	Tek bir ortam kullanılmış, bu çalışmanın amacı uygun sterilizasyon yöntemi belirlemek.	%88
[12]	<i>Lilium candidum</i> L.’nin Mikroçoğaltımı	Soğan pul eksplantları (kullanılan sterilizasyon yöntemi)	200 mg.l <sup>-1</sup> Streptomycin+200 mg.l <sup>-1</sup> Penicillin, 400 mg.l <sup>-1</sup> Streptomycin+400 mg.l <sup>-1</sup> Penicillin, 300 mg.l <sup>-1</sup> Streptomycin+75 mg.l <sup>-1</sup> Benomyl, 600 mg.l <sup>-1</sup> Streptomycin+150 mg.l <sup>-1</sup> Benomyl, 50 mg.l <sup>-1</sup> Benomyl+50 mg.l <sup>-1</sup> Nystatin, 100 mg.l <sup>-1</sup> Benomyl+100 mg.l <sup>-1</sup> Nystatin	50 mg/1 Benomyl+50 mg/1 Nystatin, 100 mg/1 Benomyl+100 mg/1 Nystatin	%88
[14]	Farklı Besin Ortamlarında Kültüre Alınan <i>Lilium candidum</i> L.’nin Mikroçoğaltımı ve Kriyoprezervasyonu İçin Biyoteknolojik Yöntemlerin Oluşturulması	Soğan pulu	1 mg.l <sup>-1</sup> BA+MS, OM ve WPM (başlangıçta kullanılan ortam), 1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+MS, OM ve WPM (kallus gelişimi için)	1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+MS, (kallus gelişimi için)	Bildirilmemiş

Kriyoprezervasyon, bitki materyalinin düşük sıcaklıklarda dondurularak uzun vadeli depolama için korunmasını sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntem, özellikle endemik ve nesli tükenmekte olan bitki türlerinin korunmasını sağlamak amacıyla bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır [16]. Kriyoprezervasyon sayesinde bitki materyali, genetik çeşitliliğini kaybetmeden korumakta ve bu şekilde türlerin devamlılığını sağlamak için uzun yıllar boyunca saklanabilmektedir [17]. Karakaş [14] tarafından, "Farklı Besin Ortamlarında Kültüre Alınan *Lilium candidum* L.’nin Mikroçoğaltımı ve Kriyoprezervasyonu İçin Biyoteknolojik Yöntemlerin Oluşturulması" konulu çalışmada bu

amaçla, farklı besin ortamları denenmiştir. Bu çalışmada, bitki materyali olarak zambak soğan pulları kullanılmıştır. Kültüre alma aşamasında, MS, OM (Özel Murashige) ve WPM (Woody Plant Medium) olmak üzere üç farklı temel besi ortamı kullanılmış ve bu ortamlara 1 mg.l<sup>-1</sup> BA ilavesi yapılmıştır. Ardından, kallus gelişimini teşvik etmek amacıyla temel besi ortamlarına 1 mg.l<sup>-1</sup> NAA eklenmiştir. Çalışmanın odak noktası kallus kültürü ile kriyoprezervasyon yöntemini gerçekleştirmektir, bu nedenle NAA içeren ortamla çalışmalara devam edilmiştir. En iyi sonuç ise MS+1 mg.l<sup>-1</sup> NAA içeren ortamdan elde edilmiştir [14]. Bu çalışma, nadir ve nesli tükenmekte olan bitki türlerinin korunmasının

önemini vurgulamakta ve kriyoprezervasyonun biyolojik çeşitliliğin ve genetik kaynakların sürdürülebilirliğinin korunmasında kritik bir araç olduğunu göstermektedir.

Youssef vd. [18] tarafından yürütülen çalışmada, *Lilium orientalis* cv. ‘Starfighter’ çeşidine ait soğan pulları bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada direkt ve indirekt (kallus) iki farklı yöntem denenmiştir. Araştırmacılar, çeşitli büyüme düzenleyicileri (TDZ, 2,4-D, 2ip ve pikloram) içeren farklı besin ortamlarının etkilerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda MS ortamına 1.0 mg.l<sup>-1</sup> BA ve 0.2 mg.l<sup>-1</sup> NAA eklendiği ortamda en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bununla birlikte, paclobutrazolun alt kültür aşamasında soğancık sayısını artırdığı bildirilmektedir [18].

Lapiz Culqui [19] tarafından yürütülen çalışmada, farklı zambak çeşitlerinin (*Lilium* “Champion Diamond,” *Lilium* “Yellow Diamond,” *Lilium* “Batavus,” *Lilium* “Hyde Park,” ve *Lilium* sp.) *in vitro* soğan oluşturma yeteneği incelenmiştir. Araştırmacılar, farklı benziladenin (BA) konsantrasyonları (0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.5 ve 2.0 mg.l<sup>-1</sup>) içeren çeşitli büyüme düzenleyici maddeler kullanmıştır. Çalışmanın sonucunda, en başarılı ortamın 1-1,5 mg/litre BAP içeren ortam olduğu sonucuna ulaşılmıştır [19]. Bu çalışma, farklı zambak çeşitlerinin *in vitro* soğan oluşumu için etkili bir yöntem geliştirme amacını taşımaktadır. *In vitro* soğan oluşumu, bitki üretimi, kaliteli tohum eldesi ve dolayısıyla çiçek üretimi için önemli bir ön aşama olduğu bildirilmektedir.

Wu vd. [20] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, oryantal tip zambakların *in vitro* ortamda çoğalması ve karbonhidrat metabolizması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırma, MS (Murashige Skoog) besin ortamına 1.0 mg.l<sup>-1</sup> BA ve 0.1 mg.l<sup>-1</sup> NAA eklenmiş olan bir besin ortamında yürütülmüştür. Sterilizasyon yöntemi olarak %2 aktif klor içeren sodyum hipoklorit 6 dakika süreyle sterilizasyon uygulanmıştır [20].

Deswiniyanti ve Lestari [8] tarafından yürütülen çalışmada, farklı büyüme düzenleyici maddelerin (NAA ve BAP) ve farklı pul kısımlarının (orta, bazal ve iç pullar) *Lilium longiflorum*’un *in vitro* soğan büyümesi üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, en iyi sonuç orta pulların bulunduğu 1 mg.l<sup>-1</sup> NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Çalışmada, iç kısım pullar için ise 0.5 mg.l<sup>-1</sup> NAA ve BAP’ın daha iyi sonuçlar verdiği ifade edilmiştir. Sterilizasyon yöntemi olarak ise, 30 dakika boyunca fungisit ve %20 sodyum hipoklorit içeren solüsyon kullanarak sterilizasyon işlemi gerçekleştirildiği ve başarı elde edildiği bildirilmektedir [20].

Askari ve Visser [7] tarafından yürütülen çalışmada, farklı eksplant kaynaklarının (soğan pulu, yaprak ve yaprak sapı) ve soğan pulu kesimlerinin (6×6 mm, 6×12 mm, 6×18 mm) *in vitro* ortamda başarısı incelenmiştir. Araştırmada MS+2 mg.l<sup>-1</sup> NAA+2 mg.l<sup>-1</sup> BA içeren besi ortamı denemiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, büyük ölçekli eksplantların (6×18 mm; taban tarafı 6 mm), küçük olanlardan (6×6 mm) daha fazla (%26) soğancık büyümesine katkı sağladığı sonucuna ulaşılmıştır [7]. Bu durum, soğan pullarının boyutunun *in vitro* olarak zambak soğan pullarının büyümesine etkisinin olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, soğan pullarının boyutu, bitkinin *in vitro* kültür koşullarında büyümesini ve gelişmesini etkileyen bir dizi faktörü içerir. Daha büyük soğan pulları genellikle daha iyi büyüme sağlar ancak bu koşul bitkinin türüne, yetiştirme koşullarına ve diğer faktörlere bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle, belirli bir bitki türü için en uygun soğan pulu boyutunu belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

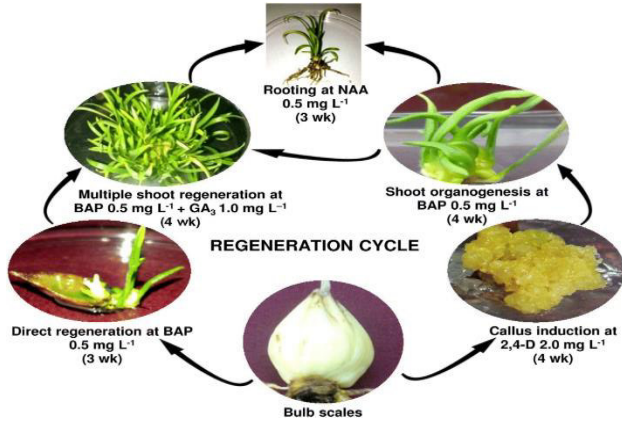
Song vd. [22] tarafından yürütülen çalışmada, Zambak bitkisinin genetik olarak korunması amacıyla soğan pulları kullanılarak çoğaltılması amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan besin ortamı içerikleri MS+1 mg.l<sup>-1</sup> aktif kömür, MS+0.3 mg.l<sup>-1</sup> indol asetik asit (IAA), MS+0.4 mg.l<sup>-1</sup> BA şeklindedir. Çalışmada 0.3 mg.l<sup>-1</sup> IAA veya 0.4 mg.l<sup>-1</sup> BA içerikli ortamlarda soğan pulu başına 5 adet soğancık elde edilmiştir. Sterilizasyon yöntemi olarak, %1.6’lık sodyum hipoklorit solüsyonunun 20 dakika, ardından %0.003 NaClO solüsyonunun 2 saat boyunca uygulandığı belirtilmiştir [22]. Bu çalışma, zambak bitkisinin genetik kaynağının kitlesel çoğaltımı için *in vitro* büyüme koşullarını optimize etmeyi amaçlamaktadır. Elde edilen sonuçların, bitki üretimi ve genetik kaynakların korunması açısından önemli katkı sağladığı düşünülmektedir.

Taha vd. [23] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Asya hibrid zambak türü "Red Alert"’in *in vitro* koşullarda çoğaltılması amaçlanmıştır. Çalışma, "soğan pulu" eksplantları kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve farklı büyüme düzenleyici konsantrasyonları test edilmiştir. En iyi sonuçların, başlangıçta 1.5 mg.l<sup>-1</sup> 2 ip kullanıldığında 6.55 soğancık ve 0.5 mg.l<sup>-1</sup> TDZ ile 2 mg.l<sup>-1</sup> NAA kullanıldığında ise 9.33 soğancık oluşturulduğu bulunmuştur. Sterilizasyon işlemi olarak ise, %70’lik etanolde 30 saniye ardından, %10 sodyum hipokloritte 7 dakika ve %0.1’lik HgCl<sub>2</sub> solüsyonunda 10 dakika süreyle uygulanmıştır [23].

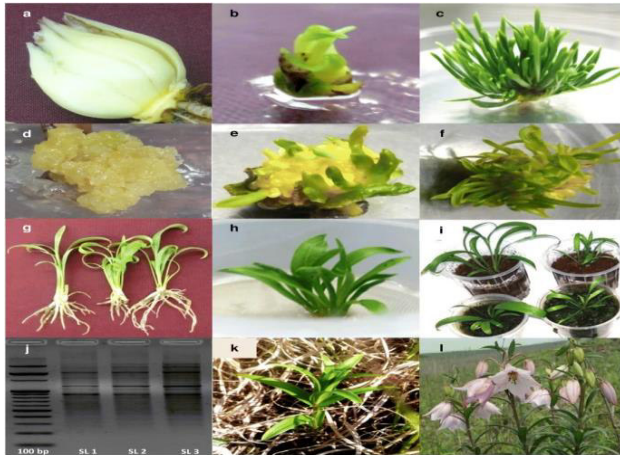
*Lilium lancifolium* türünün *in vitro* koşullarda farklı büyüme düzenleyici kullanılarak çoğaltılması üzerine yapılan farklı bir çalışmada, en iyi sonuçların

1.0 mg.l<sup>-1</sup> BA+0.1 mg.l<sup>-1</sup> NAA kombinasyonu ile elde edildiği tespit edilmiştir [24].

Nesli tükenmekte olan Asya zambak türü *Lilium mackliniae* Sealy'nin *in vitro* rejenerasyonunu arttırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, en iyi sonuçlar 0.5 mg.l<sup>-1</sup> BAP+1 mg.l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> kombinasyonu ile elde edilmiştir. Sterilizasyon için akan çeşme suyu, etanol, NaClO ve HgCl<sub>2</sub> kullanılmıştır [25]. Bu çalışmaya ait görseller Şekil 1 ve Şekil 2'de sunulmuştur.



Şekil 1. Zambak soğanı direkt ve indirekt *in vitro* gelişim aşamaları [25]



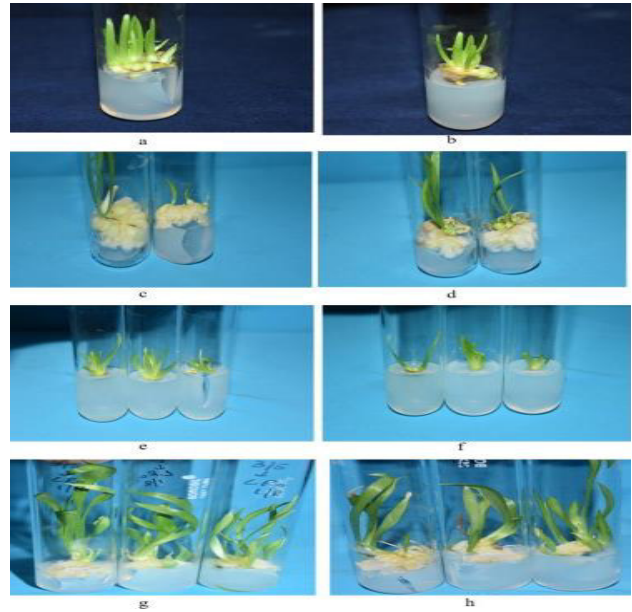
a-c: Direkt rejenerasyon, d-f: indirekt rejenerasyon, g-f: köklendirme, adaptasyon j-i: marker test sonucu elde edilen materyal

Şekil 2. Zambak soğanı *in vitro* gelişimi [25]

*Lilium candidum* türünün *in vitro* mikroçoğaltımı için yapılan bir çalışmada ise en yüksek sonuçlar, 1 mg.l<sup>-1</sup> BAP+0.2 mg.l<sup>-1</sup> NAA kombinasyonundan elde edilmiştir. Sterilizasyon için ise akan çeşme suyu, Bavistin, sodyum hipoklorit ve HgCl<sub>2</sub> kullanılmıştır [1].

Oriental *Lilium* Hybrid türü 'Ravenna'nın *in vitro* mikroçoğaltımı amacıyla farklı BAP ve NAA konsantrasyonları ve farklı kısımların kullanıldığı bir çalışmada, MS+0.5 mg.l<sup>-1</sup> NAA+2 mg.l<sup>-1</sup> BAP

ortamında bazal pullarda %69.54, dış pullarda ise %62.54 oranında bir başarı elde edilmiştir (Şekil 3). Bu çalışmalar, farklı zambak türleri için en iyi büyüme düzenleyici konsantrasyonlarını ve sterilizasyon yöntemlerini belirlemek açısından önemlidir [11]. Ayrıca, bu çalışmalar, nadir veya tehlike altındaki bitki türlerinin korunmasında *in vitro* kültürün etkili bir araç olduğunu göstermektedir. Her bir çalışma, zambakların *in vitro* üretimi ve genetik kaynaklarının korunması için farklı yaklaşımların değerlendirilmesine katkı sağlamaktadır.



a,b: MS+NAA 0.5 mg l<sup>-1</sup>+2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içerikli ortamda bazal ve iç kısım pulların kültüre alınması; c,d: Bazal pul ve iç kısım pullarda doğrudan kallus ve köklenme oluşumu; e,f: MS+0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA+2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içerikli ortamda bazal ve iç kısım pulların çoğalması; g,h: MS+1.5 mg l<sup>-1</sup> NAA içerikli ortamda bazal ve iç kısım pulların köklendirilmesi  
Şekil 3. Çalışmaya ait soğan gelişimi [11]

Yukarıda sıralanan araştırmaların sonuçlarına dayalı olarak, zambakların *in vitro* üretimi için optimum ortamın 1.0 mg.l<sup>-1</sup> BA ve 0.2 mg.l<sup>-1</sup> NAA içerikli ortamlar olduğu ancak zambak tür veya çeşitleri için en uygun ortam içeriğinin farklı olabileceği gerçeğinden hareketle bu ortamın spesifik çeşitler için optimize edilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenle, ilgili bitki çeşidinin gereksinimlerini dikkate alarak denemeler yapılmalı ve sonuçlar göz önünde bulundurulmalıdır. Sterilizasyon işlemlerinin, kontaminasyon riskini minimize etmek için çok önemli olduğu söylenebilir. Yapılan çalışmalardan hareketle, %70'lik etanol, %10 sodyum hipoklorit ve %0.1'lik HgCl<sub>2</sub> reçetesinin eksplantların sterilizasyonunda etkili olduğu görülmektedir.

Çizelge 2. Zambak (*Lilium candidum* L.)’ın soğan pulları ile çoğaltılması üzerine yapılmış makaleler

Kaynak	Çalışma adı	Kullanılan eksplant	Besin ortamı içeriği (mg.l <sup>-1</sup> )	Başarılı ortam	Başarı oranı (%) / çoğalma katsayısı (adet)
[18]	<i>In vitro</i> bulb formation of direct and indirect regeneration of <i>Lilium orientalis</i> cv. “Starfighter” plants	Soğan pulu	(TDZ, 2,4-D, 2ip ve Pikloram) 2ip (0.5 mg.l <sup>-1</sup> ) + Picloram (5 mg.l <sup>-1</sup> ) 1.0 mg.l <sup>-1</sup> BA 0.2 mg.l <sup>-1</sup> NAA 0.5 mg.l <sup>-1</sup>	MS+1,0 mg.l <sup>-1</sup> BA+0,2 mg.l <sup>-1</sup> NAA 60 g.l <sup>-1</sup> sakkaroz+(3-6 mg.l <sup>-1</sup> ) paclbutrazol (3. alt kültürde soğancık sayısını arttırmış)	Belirtilmemiş
Kullanılan sterilizasyon yöntemi: %70 etanolde 30 sn, %15 sodyum hipokloritte 7 dk, %2 HgCl <sub>2</sub> de 10 dk					
[19]	<i>In Vitro</i> Bulbification of Five Lily Varieties: An Effective Method to Produce Quality Seeds and Flowers	Soğan pulu	0, 0.5, 1.0, 1.5, 1.5, 2.0 mg.l <sup>-1</sup> BAP	1-1.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP	Belirtilmemiş
Sterilizasyon yöntemi: %0,2’lik fungisit çözeltisinde 20 dk, %70’lik etanol 20 sn, %1,5 Sodyum hipoklorit 10 dk, %2 Cıva klorür 10 dk					
[20]	Differential Effects of Paclbutrazol on the Bulblet Growth of Oriental Lily Cultured <i>In Vitro</i> : Growth Behavior, Carbohydrate Metabolism, and Antioxidant Capacity	Soğan pulu	MS + 1.0 mg.l <sup>-1</sup> BAP + 0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA	MS + 1.0 mg.l <sup>-1</sup> BAP + 0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA	Belirtilmemiş
Sterilizasyon yöntemi: %2 aktif klor içeren sodyum hipokloritte 6 dk					
[8]	<i>In Vitro</i> Propagation of <i>Lilium longiflorum</i> Bulbs Using NAA and BAP Plant Growth Regulator Treatment	Soğan pulu (orta, bazal, iç pullar)	0.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA+0.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP; 0.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA+1 mg.l <sup>-1</sup> BAP; 1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+0.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP; 1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+1 mg.l <sup>-1</sup> BAP	En iyi sonuç orta pullardan elde edilmiş 1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+BAP (orta pullar için 0.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA+BAP (iç pullar için)	Belirtilmemiş
Sterilizasyon yöntemi: 30 dk fungusit, %20 sodyum hipoklorit 15 dk					
[7]	The role of scale explants in the growth of regenerating lily bulblets <i>in vitro</i>	Soğan pulu, yaprak ve yaprak sapı ((soğan pulları farklı büyüklükte (6×6, 6×12, 6×18 mm) parçalara ayrılmış))	MS+2 mg.l <sup>-1</sup> NAA+2 mg.l <sup>-1</sup> BA	2 mg.l <sup>-1</sup> NAA+2 mg.l <sup>-1</sup> BA büyük ölçekli eksplantlar (6 × 18 mm; taban tarafı 6 mm), küçük olanlardan (6 × 6 mm) daha fazla (%26) soğancık büyümesi sağlamıştır.	%88
[22]	Enhancing <i>in vitro</i> Growth of Bulbs for Mass Propagation of Lily Germplasm	Soğan pulu	MS+1 g.l <sup>-1</sup> aktif kömür, MS+0.3 mg.l <sup>-1</sup> IAA MS+0.4 mg.l <sup>-1</sup> BA	MS+0.3 mg.l <sup>-1</sup> IAA MS+0.4 mg.l <sup>-1</sup> BA	5
Sterilizasyon yöntemi: %1,6’lık sodyum hipoklorit 20 dk, %0.003 NaClO 2 saat					
[23]	<i>In vitro</i> Culture and Bulblets Induction of Asiatic Hybrid Lily ‘Red Alert’	Soğan pulu	(0. 0.5, 1, 1.5, 2.0 mg.l <sup>-1</sup> BA, 2İP, TDZ)	1.5 mg.l <sup>-1</sup> 2İP (başlangıç için, en yüksek 6.55 soğancık) 0.5 mg.l <sup>-1</sup> TDZ+2 mg.l <sup>-1</sup> NAA (9.33)	9.33
Sterilizasyon yöntemi: %70’lik etanolde 30 sn, %10 sodyum hipokloritte 7 dk, %0.1’lik HgCl <sub>2</sub> 10 dk					
[24]	Plant Micropropagation from <i>in vitro</i> cultured bulb scales of <i>Lilium lancifolium</i>	Soğan pulu	MS+0.5 mg.l <sup>-1</sup> BA+0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA MS+1.0 mg.l <sup>-1</sup> BA+0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA MS+1.0 mg.l <sup>-1</sup> BA+0.2 mg.l <sup>-1</sup> NAA MS+1.5 mg.l <sup>-1</sup> BA+0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA	1.0 mg.l <sup>-1</sup> -BA+0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA (4.1 soğancık)	4.1
Sterilizasyon yöntemi: Akan çeşme suyu altında 2 saat, %70’lik etanolde 20 sn, %0.1 HgCl <sub>2</sub> ’de 13 dk					
[25]	An efficient protocol for <i>in vitro</i> regeneration and conservation of Shirui lily ( <i>Lilium mackliniae</i> Sealy): a lab-to-land approach to save the rare endangered Asiatic lily species	Soğan pulu (direkt ve indirekt olarak)	0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg L <sup>-1</sup> (BAP, KIN, TDZ) (Başlangıç için) Kallus gelişimi için 2. aşamada pullar parçalanmış (2,4D, NAA) Alt kültür için 0.5, 1, 1.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP-GA <sub>3</sub>	0.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP+1 mg/l GA <sub>3</sub>	10.1
Sterilizasyon yöntemi: Akan çeşme suyu altında 10 dk, %70’lik etanolde 1 dk, %2’lik NaClO (%4 aktif klor) 10 dk					
[1]	<i>In vitro</i> Micropropagation of <i>Lilium candidum</i> Bulb by Application of Multiple Hormone Concentrations Using Plant Tissue Culture Technique	Soğan pulu	MS MS+0.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP+0.1 mg.l <sup>-1</sup> NAA MS+1 mg.l <sup>-1</sup> BAP+0.2 mg.l <sup>-1</sup> NAA MS+1.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP+0.3 mg/l NAA MS+2 mg.l <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA	MS+1. mg.l <sup>-1</sup> BAP+0.2 mg.l <sup>-1</sup> NAA	4
Sterilizasyon yöntemi: Akan çeşme suyu altında 30 dk, Bavistin %0.1 10 dk, sodyum hipoklorit 30 dk (oran verilmemiş), 0.1%HgCl <sub>2</sub> ’de 4 dk					
[11]	Standardization of <i>in vitro</i> micropropagation procedure of Oriental <i>Lilium</i> Hybrid Cv. ‘Ravenna’	Soğan pulu (2 farklı kısım bazal ve dış)	1.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP+NAA 2 mg.l <sup>-1</sup> NAA+1.5 mg.l <sup>-1</sup> BAP 0.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA+2 BAP 1 mg.l <sup>-1</sup> NAA+2 mg.l <sup>-1</sup> BAP 1.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA+2 mg/l BAP 2 mg.l <sup>-1</sup> BAP+NAA	MS+0.5 mg.l <sup>-1</sup> NAA+2 mg.l <sup>-1</sup> BAP	Bazal pullarda %69.54, dış pullarda %62.54

## SONUÇ

Bu çalışma Zambak (*Lilium candidum* L.) bitkisinin *in vitro* ortamda soğan pulları kullanılarak çoğaltılmasının tarımsal ve ticari potansiyelini incelemek için yapılan çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçları göstermektedir. Bu çalışmalar, farklı büyüme düzenleyici maddelerin ve eksplant kesitlerinin kullanımının çoğaltım başarısını etkileyebileceğini göstermektedir.

Literatürdeki çalışmalardan elde edilen verilere dayanarak, Zambak bitkisinin *in vitro* ortamda başarılı bir şekilde çoğaltılabilmesinin, kullanılan büyüme düzenleyici maddelere, eksplant kesitlerine ve kültür ortamlarına bağlı olarak değişebileceği görülmektedir. Özellikle bazı büyüme düzenleyici maddelerin belirli kombinasyonlarının, (1 mg.l<sup>-1</sup> BA +0.2 mg.l<sup>-1</sup> NAA) ve kültür ortamının *in vitro* çoğaltım üzerine olumlu etkiler sağladığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, Zambak bitkisinin *in vitro* çoğaltımının tarımsal ve ticari potansiyele sahip olduğu ve modern yetiştiricilik açısından önemli bir seçenek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Zambak bitkisinin *in vitro* ortamda çoğaltılmasının, bitkilerin hızlı bir şekilde çoğaltılması, hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkilerin üretimini mümkün kılan bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, bu yöntemin daha geniş çaplı kullanımı için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Özellikle büyüme düzenleyici madde konsantrasyonlarının optimize edilmesi, eksplant kesitlerinin seçimi ve kültür koşullarının iyileştirilmesi gibi konular üzerine daha fazla çalışma yapılmalıdır.

## TEŞEKKÜR

Çalışmada ismi geçen doktora öğrencisi İlknur ESKİMEZ 100/2000 Sürdürülebilir Tarım (Yenilikçi-İyi Tarım Uygulamaları) tematik alanında doktora yapmaktadır. Öğrencimize maddi desteğini esirgemeyen Yükseköğretim Kuruluna teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Patil, A.M., Gunjal, P.P., Das, S. 2021. *In vitro* micropropagation of *Lilium candidum* bulb by application of multiple hormone concentrations using plant tissue culture technique. International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology 8(2):244-253.
2. Lim, K.B., Van Tuyl, J.M. 2006. Lily: *Lilium* hybrids. In Flower breeding and genetics: issues,

- challenges and opportunities for the 21. century. Dordrecht: Springer Netherlands, pp:517-537.
3. Saygılı, L. 2012. *Lilium* yetiştiriciliğinde farklı agregatların ve besin solüsyonlarının kullanım olanakları (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
4. Gürsan, D. 2014. Bazı zambak (*Lilium* spp.) türlerinin *in vitro* çoğaltımı (Doktora Tezi). Uludağ Üniversitesi, Bursa.
5. Crockett, J.U., Books, T.L. 1973. Flowering house plants. (No Title).
6. Daneshvarroyandazagh, S., Pehlivan, E.C., Teykin, E.E., Çiftçi, H.S. 2014. *Lilium candidum* L.'da *in vitro* mikroçoğaltım ile kozmetik sanayisine ham madde temini. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 1(ÖzelSayı-2):1911-1916.
7. Askari, N., Visser, R.G. 2022. The role of scale explants in the growth of regenerating lily bulblets *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 149(3):589-598.
8. Deswiniyanti, N.W., Lestari, N.K.D. 2020. *In vitro* propagation of *Lilium longiflorum* Bulbs using NAA and BAP plant growth regulator treatment. KnE Life Sciences.
9. Robb, S.M. 1957. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thunb. Journal of Experimental Botany 8(24):348-352.12.
10. Takayama, S., Misawa M. 1982. Regulation of organ formation by cytokinin and auxin in *Lilium* bulb scale grown *in vitro*. Plant Cell Physiology 23:67-74.
11. Rafiq, S., Rather, Z.A., Bhat, R.A., Nazki, I.T., Al-Harbi, M.S., Banday, N., Andrabi, N. 2021. Standardization of *in vitro* micropropagation procedure of oriental *Lilium* hybrid cv. 'Ravenna'. Saudi Journal of Biological Sciences 28(12):7581-7587.
12. Altan, F. 2003. *Lilium candidum* L.'nin mikroçoğaltımı (Yüksek Lisans Tezi). Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
13. Öksüz, Ş. 1993. Doku kültürü yöntemi ile değişik besi ortamlarında beyaz zambak yetiştirilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Akdeniz Üniversitesi, Antalya.
14. Karakaş, H. 2021. Farklı besin ortamlarında kültüre alınan *Lilium candidum* L.'nin mikroçoğaltımı ve kriyoprezervasyonu için biyoteknolojik yöntemlerin oluşturulması. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 122s.
15. Polat, M., Eskimez, I. 2022. The effects of different hormone combinations on *in vitro*

- micropropagation of aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) elliott). Fresenius Environmental Bulletin, 31(01A):1219-1227.
16. Bilir, Ö. 2016. Bitki genetik kaynaklarının muhafazası açısından biyoteknoloji. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi (2):29-33.
17. Yılmaz-Gökdoğan, E., Kaya, E. 2017. Bitki biyoçeşitliliğinin kısa, orta ve uzun süreli korunması: biyoteknoloji ve kriyoprezervasyon. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(1):87-111.
18. Youssef, N.M., Shaaban, S.A., Ghareeb, Z.F., Taha, L.S. 2019. *In vitro* bulb formation of direct and indirect regeneration of *Lilium orientalis* cv. "Starfighter" plants. Bulletin of the National Research Centre 43(1):1-9.
19. Lapid-Culqui, Y.K., Meléndez-Mori, J.B., Mállap-Detquizán, G., Tejada-Alvarado, J.J., Vilca-Valqui, N.C., Huaman-Human, E., ... & Goñas, M. 2022. *In Vitro* bulbification of five lily varieties: an effective method to produce quality seeds and flowers. International Journal of Agronomy, 2022.
20. Wu, Y., Sun, M., Zhang, J., Zhang, L., Ren, Z., Min, R., Xia, Y. 2019. Differential effects of paclobutrazol on the bulblet growth of oriental lily cultured *in vitro*: growth behavior, carbohydrate metabolism, and antioxidant capacity. Journal of Plant Growth Regulation 38:359-372.
21. Balkaya, A., Duman, İ., Engiz, M., Ermiş, S., Onus, A. N., Özcan, M., Özer, M. 2015. Bahçe bitkileri tohumluğu üretimi ve kullanımında değişimler ve yeni arayışlar. Türkiye Ziraat Mühendisliği 8. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-2, s:985.
22. Song, J.Y., Lee, Y.Y., Yi, J.Y., Lee, J.R., Yoon, M.S. 2021. Enhancing *in vitro* growth of bulbs for mass propagation of lily germplasm. Korean Journal of Plant Resources 34(1):17-22.
23. Taha, L.S., Sayed, S.S., Farahat, M.M., El-Sayed, I.M. 2018. *In vitro* culture and bulblets induction of Asiatic hybrid lily 'red alert'. Journal of Biological Sciences 18(2):84-91.
24. Sun, L., Zhou, Z., Cheng, K. 2013. Plant micropropagation from *in vitro* cultured bulb scales of *Lilium lancifolium*. Life Sci. J. 10:2689-2692.
25. Sahoo, M.R., Devi, M.P., Dasgupta, M., Prakash, N., Ngachan, S.V. 2018. An efficient protocol for *in vitro* regeneration and conservation of Shirui lily (*Lilium mackliniae* Sealy): a lab-to-land approach to save the rare endangered Asiatic lily species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 54(6):701-710.