
Araştırma Makalesi / Research Article

Farklı Konsantrasyonlarda ve Sürelerde Sodyum Hipoklorid (NaOCl) Uygulamasının *Pancretium maritimum* L. Soğanlarının Yüzey Sterilizasyonu Üzerine Etkileri

Fethi Ahmet ÖZDEMİR^{1*}, Mehmet Uğur Yıldırım², Ömer KILIÇ³

¹Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, BİNGÖL

²Uşak Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, UŞAK,

³Bingöl Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Peyzaj ve Süs Bitkileri Bölümü, BİNGÖL

Özet

Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerin kumul kıyılarında doğal olarak yetişen kum zambakları (*Pancretium maritimum* L.), Amaryllidaceae familyası üyelerindedir. Bu çalışmada *Pancretium maritimum* L. soğanları % 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 oranında sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisi içerisinde 15, 20, 25, 30, 35 dakika bekletildikten sonra soğanlarda meydana gelen deformasyon oranı % cinsinden hesaplanmış, bekleme süresinin ardından soğanlar 3 defa 5'er dakika süre ile steril distile saf sudan geçirilerek hormon içermeyen MS besin ortamına aktarılmış, 10 gün sonra MS besin ortamında meydana gelen kontaminasyon oranları % cinsinden belirlenmiştir. % 2 ve 3 oranında sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde bekletilen soğanlarda deformasyon gözlenmezken, %100 oranında kontaminasyon tespit edilmiştir. En etkili yüzey sterilizasyonu %5-6 oranında sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 30 ve 35 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Sodyum hipoklorid konsantrasyonu ve uygulama süresi arttıkça soğanların yüzey sterilizasyonu artmış ancak soğanların pul yapraklarındaki deformasyon oranı da bu artışa bağlı olarak artmıştır.

Anahtar Kelimeler *Pancretium maritimum* L., sodyumhipoklorit, sterilizasyon

The Effects of Application of Sodium Hypochlorite (NaOCl) in Different Concentrations and Durations on the Surface Sterilization of *Pancretium maritimum* L. Bulbs

Abstract

Sea daffodil (*Pancretium maritimum* L.), a member of the family Amaryllidaceae, naturally grows on the dune coasts of the southern Mediterranean countries. In this study, *Pancretium maritimum* L. bulbs were kept in solutions of 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 % sodium hypochlorite (NaOCl) for 15, 20, 25, 30, 35 minutes. The deformation rate is calculated in percentage. After the waiting period the bulbs were washed 3 times for 5 min with sterile distilled pure water and were transferred in a hormone-free MS medium. After 10 days the contamination rates occurring in MS medium were determined in percentage. The bulbs that had been kept in 2 % and 3% sodium hypochlorite solution showed no deformation, while the contamination rate was 100%. The most effective surface sterilization was achieved by keeping the bulbs in sodium hypochlorite solutions of 5-6% for 30 and 35 minutes. With the increase of sodium hypochlorite concentrations and exposure times the surface sterilization of bulbs also increased, but the bulb deformation rates increased too.

Keywords: *Pancretium maritimum* L., sodium hypochlorite, sterilisation

*Sorumlu yazar: ozdemirfethiahmet23@yahoo.com
Geliş Tarihi: 01.11.2016 Kabul Tarihi: 29.11.2016

1. Giriş

Türkiye bitki çeşitliliği yönünden büyük bir zenginliğe sahip olup, geofit bitkiler bu çeşitlilik içerisinde önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde yaklaşık olarak 600 kadar geofit türü yetişmekte olup bunların büyük bir kısmı iç ve dış mekanları süslemek üzere süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. *Panocratium* cinsi Amaryllidacea familyası içerisinde yer alan bir cins olup dünyada 21 türü bulunmaktadır [1]. Ülkemizde doğal olarak yetişen ve kayıt altına alınan tek tür *Panocratium maritimum* L. dir [2]. Kum zambakları çok yıllık soğanlı bitkiler olup, süs bitkisi olarak kullanılabilme potansiyeline sahip, kurak ve sıcak koşullara dayanıklı ve içerdiği kimyasal maddeler sayesinde endüstride değerlendirilme olanağına sahiptir [3], [4], [5]. *P. maritimum* Akdeniz, Atlantik ve Karadeniz sahilleri boyunca yayılış göstermektedir [6]. Ülkemizde Kırklareli, İstanbul, Bolu, Bartın, Sinop, Samsun, Giresun, Trabzon, Antalya ve Adana'nın kumlu sahillerinde doğal olarak yetişmektedir [7]. Kum zambaklarının yaşam alanları olan sahillerin büyük bölümünün plaj olarak kullanılması, çiçeklerinin koparılması ve soğanlarının toplanması nedeni ile nesli tehlike altında olan bitkilerdendir. Türün habitatının sahil şeridi olması nedeni ile turizm bu türün nesli için en büyük tehditlerden biridir [8]. İtalya, İspanya, Fransa ve Akdeniz kıyı şeridindeki yoğun kentleşme ve sökümler nedeni ile kum zambağı popülasyonları giderek azalmaktadır [9]. Kum zambağının sökülerek yurt dışına ihraç edilmesi ülkemizde yasaklanmıştır [10]. Ülkemizdeki tehdit ihraç amacıyla sökümden ziyade kıyıların bilinçsiz bir şekilde kullanımı ve kentleşmeye açılmasıdır.

Virüs, bakteri ve mantarların *in vitro* çalışmalarda kullanılan bitkisel materyallerin yüzeylerinde bulunmalarından dolayı birçok bitkisel materyalin yüzey sterilizasyonları etkili bir şekilde gerçekleştirilemediği için kontaminasyondan dolayı kültür ortamındaki bitki materyali kaybedilmektedir [11]. Bazen etkili bir şekilde yapılan yüzey sterilizasyonunda yeterli olmamaktadır. Çünkü çalışmada kullanılan bitki materyallerinin iç kısımlarında bulunan virüs, bakteri veya funguslar uzaklaştırılmamaktadır [12].

Etkili bir sterilizasyonun sağlanamaması sonucunda kültür ortamında bulunan mikroorganizmalar ile eksplant arasında bir rekabet meydana gelmektedir. Kültür ortamındaki mikroorganizmaların artması sonucunda; kültür ortamında bulunan eksplantlarda büyüme azalmakta ardından nekroz oluşmakta ve sonunda eksplant kaybedilmektedir [13]. Bilimsel çalışmalar yapan yada ticari amaçlı olarak kurulmuş olan bitki doku kültürü laboratuvarlarında mikrobiyal kontaminasyondan dolayı %3 ile 15 gibi büyük bir oranda kültüre alınmış bitki materyali kaybedilmektedir [14]. Etkili bir sterilizasyon protokolü geliştirmek zaman ve efor gerektirip çoğu zamanda ekonomik olmamaktadır

Doku kültüründe başarı sağlamak etkili bir şekilde yüzey sterilizasyonu geliştirmeye bağlıdır. Sterilizasyonda kullanılan madde ve kullanılan maddenin uygulanma süresi etkili bir sterilizasyon için kritik bir öneme sahiptir [15]. Kültüre alınacak olan bitki materyali seçilen sterilizasyon ajanı ve sterilizasyonu gerçekleştirecek olan maddenin uygulama zamanında canlılığını kaybetmemeli; sterilizasyonu gerçekleştirecek olan madde sadece kültüre alınacak olan bitki materyali üzerindeki mikroorganizmaları öldürmelidir.

In vitro çalışmalarda her bitkinin yüzeysel olarak bakteri, mantar ve benzeri organizmalardan temizlenebilmesi için gerekli dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi farklıdır. Dolayısıyla en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi önemlidir [16]. Bitkisel materyallerin yüzey sterilizasyonunda hidrojen peroksit, cıva, gümüş nitrat ve antibiyotikler kullanılabilir. Ancak ticari sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) en yaygın kullanıma sahiptir [17]. Sterilizasyonu gerçekleştirecek olan maddenin konsantrasyonu ve bu maddenin bitki materyaline uygulanma süresi arasındaki denge çok önemli olup belirlenen konsantrasyon ve uygulama süresinin kültüre alınacak olan bitki materyali üzerinde fitotoksik bir etkiye sahip olmaması gerekmektedir

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde sodyum hipoklorit muamelesinin *in vitro* çalışmalar için *Pancretium maritimum* soğanlarında etkili bir yüzey sterilizasyonu gerçekleştirip gerçekleştirmediğini belirlemek amaçlanmıştır

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan *Pancretium maritimum* L. soğanları, Bartın iline bağlı Mugada sahillerinde toplanmıştır. Bitkinin tür teşhisi “The Flora of Turkey” e [18] göre yapılmıştır. Çalışmaya başlanmadan önce bitkinin yaprak kısımları uzaklaştırılmıştır. Soğanlar çeşme suyunda 25 dakika boyunca yıkanıp soğan üzerindeki toprak, çamur ve diğer yapışık maddelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Etkili bir yüzey sterilizasyonu gerçekleştirmek amacı ile soğanlara % 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 oranında sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisi 15, 20, 25, 30, 35 dakika boyunca uygulanmıştır. Sodyum hipoklorit uygulamasından sonra soğanlarda meydana gelen deformasyon % olarak belirlenmiş olup çizelge 1 ve 2 de gösterilmiştir. Sterilizasyonu gerçekleştirilen soğanlar, 3 defa 5 dakika süre ile steril distile saf sudan geçirilerek durulanmıştır. Durulamanın ardından soğanlar % 3 sakkaroz içeren ve % 0.65 agar ile katılaştırılmış MS [19] besin ortamında kültüre alınmıştır. Soğanlar kültüre alındıktan 10 gün sonra meydana gelen kontaminasyon oranı % cinsinden belirlenerek çizelge 1 ve 2 de gösterilmiştir

Çalışmada kullanılan besin ortamları, alet ve ekipmanların sterilizasyonları 1.4 kg cm⁻² basınç altında otoklavda 120°C’ de 21 dakika tutularak gerçekleştirilmiştir. Besin ortamlarının pH’sı 1 N NaOH ve 1 N HCl kullanılarak 5.8±1 e ayarlanmıştır. Kültüre alınan soğanlar, 24±1°C sıcaklık, 16 saat ışık/8 saat karanlık fotoperiyod koşullarında 500 µmolm⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğunda iklim dolabında (Aralab) kültüre alınmıştır. Her deneme için 5 adet soğan kullanılmış olup, denemeler 3 tekrarlı olacak şekilde planlanmış ve bu tekrarlı denemeler sonucu oluşan % değerlerinin ortalaması hesaplanmıştır (Çizege 1 ve 2). Çalışma flow laminar hava akışlı kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada *Pancretium maritimum* L. soğanları % 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 oranında sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisi içerisinde 15, 20, 25, 30, 35 dakika bekletilerek etkili bir yüzey sterilizasyon protokolü geliştirmek amaçlanmıştır.

Çizelge 1: %2-5 oranında NaOCl (Sodyum hipoklorid) uygulamasının *Pancretium maritimum* L. soğanlarının yüzey sterilizasyonu üzerine etkileri.

Sodyumhipoklorid (NaOCl) Konsantrasyonu (%)	Muamele Süresi (dk)	Kontaminasyon oranı (%)	Soğanlardaki deformasyon oranı (%)
2	15	100	0
	20	100	0
	25	100	0
	30	100	0
	35	100	0
3	15	100	0
	20	100	0
	25	100	0
	30	100	0
	35	100	0
4	15	100	0
	20	90	10
	25	80	15
	30	80	15
	35	75	20
5	15	60	0
	20	40	5
	25	35	10
	30	0	40
	35	0	45

Sodyum hipoklorit çözeltisi içerisinde belirtilen bekleme sürelerinin ardından soğanlarda meydana gelen deformasyon oranı % cinsinden hesaplanmış, elde edilen bulgular çizelge 1 ve 2 de gösterilmiştir. Sterilizasyonları gerçekleştirilen soğanlar hormon içermeyen MS besin ortamına aktarılmış, 10 günlük bir bekleme süresinin ardından MS besin ortamındaki soğanlarda meydana gelen kontaminasyon oranı % cinsinden hesaplanarak bulgular çizelge 1 ve 2’de sunulmuştur.

Çalışma sonuçlarına göre %2’lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 15, 20, 25, 30, 35 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon gözlenmemiş olup, kullanılan bütün soğanlarda %100 oranında kontaminasyon tespit edilmiştir. Aynı durum %3’lük sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde bekletilen soğanlarda da gözlenmiştir. %4’lük sodyum hipoklorit çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon gözlenmezken, %100 oranında kontaminasyon saptanmıştır. Aynı çözelti içerisinde; 20 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %10, kontaminasyon oranı %90, 25 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %15, kontaminasyon oranı %80, 30 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %15, kontaminasyon oranı %80, 35 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %20, kontaminasyon oranı %75 olarak kaydedilmiştir. %5’lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon gözlenmemiş olup, %60 oranında kontaminasyon tespit edilmiştir. Aynı çözelti içerisinde; 20 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %5, kontaminasyon oranı %40, 25 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %10, kontaminasyon oranı %35, Aynı çözelti içerisinde 30 ve 35 dakika bekletilen soğanlarda kontaminasyon gözlenmezken, 30 dakikalık bekleme süresinin ardından soğanlarda %40, 35 dakikalık bekleme süresinin ardından ise soğanlarda % 45 oranında deformasyon tespit edilmiştir.

Çizelge 2: %6-10 oranında NaOCl (Sodyum hipoklorid) uygulamasının *Panocratium maritimum* L. soğanlarının yüzey sterilizasyonu üzerine etkileri.

Sodyumhipoklorid (NaOCl) Konsantrasyonu (%)	Muamele Süresi (dk)	Kontaminasyon oranı (%)	Soğanlardaki deformasyon oranı (%)
6	15	25	10
	20	15	15
	25	5	35
	30	0	40
	35	0	45
7	15	20	10
	20	10	35
	25	10	45
	30	0	55
	35	0	55
8	15	25	30
	20	20	45
	25	15	50
	30	0	65
	35	0	65
9	15	10	55
	20	5	60
	25	5	65
	30	0	85
	35	0	95
10	15	5	100
	20	0	100
	25	0	100
	30	0	100
	35	0	100

Bu çalışma sonucunda; %6'lık sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %10, kontaminasyon oranı %25, 20 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %15, kontaminasyon oranı %15, 25 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %35, kontaminasyon oranı %5 olarak belirlenmiştir. Aynı çözelti içerisinde 30 ve 35 dakika bekletilen soğanlarda kontaminasyon gözlenmezken, 30 dakikalık bekleme süresinin ardından soğanlarda %40 oranında, 35 dakikalık bekleme süresinin ardından ise soğanlarda % 45 oranında deformasyon kaydedilmiştir. %7'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %10, kontaminasyon oranı %20, 20 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %35, kontaminasyon oranı %10, 25 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %45, kontaminasyon oranı %10 olarak tespit edilmiştir. Aynı çözelti içerisinde 30 ve 35 dakika bekletilen soğanlarda kontaminasyon gözlenmezken, her iki bekleme süresinin ardından soğanlarda %55 oranında deformasyon saptanmıştır. %8'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %30, kontaminasyon oranı %25, 20 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %45, kontaminasyon oranı %20, 25 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %50, kontaminasyon oranı %15 olarak belirlenmiştir. Aynı çözelti içerisinde 30 ve 35 dakika bekletilen soğanlarda kontaminasyon gözlenmezken, her iki bekleme süresinin ardından soğanlarda %65 oranında deformasyon kaydedilmiştir. %9'luk sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %55, kontaminasyon oranı %10, 20 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %60, kontaminasyon oranı %5, 25 dakika bekletilen soğanlarda deformasyon oranı %65, kontaminasyon oranı %5 olarak belirlenmiştir. Aynı çözelti içerisinde 30 ve 35 dakika bekletilen soğanlarda kontaminasyon saptanmazken, 30 dakikalık bekleme süresinin ardından soğanlarda %85 oranında, 35 dakikalık bekleme süresinin ardından ise soğanlarda %95 oranında deformasyon olduğu belirlenmiştir. %10'luk sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde farklı sürelerde sterilizasyona tabi tutulan soğanların tamamında %100 oranında deformasyon gözlenmiş olup, kontaminasyon sadece aynı orandaki sodyumhipoklorit çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilen soğanlarda %5 oranında tespit edilmiştir. Sodyum hipoklorid konsantrasyonu arttıkça kontaminasyonun azaldığı fakat deformasyon oranının sürenin artmasıyla birlikte arttığı belirlenmiştir. En etkili yüzey sterilizasyonunun en az deformasyonla (%40 oranında) %5 ve %6'lık sodyumhipoklorit içeren çözeltiler içerisinde 30 dakika bekletilerek gerçekleştirildiği kaydedilmiştir.

Doku kültürü ile ilgili çalışmalara başlanmadan önce kullanılacak bitki materyalinin yüzey sterilizasyonu etkili bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Bitki materyalinin yüzey sterilizasyonu etkili bir şekilde gerçekleştirilemez ise kontaminasyondan dolayı çalışılan bitki materyali, zaman, emek ve çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin kaybı söz konusu olacaktır. Bu nedenle etkili bir yüzey sterilizasyon protokolü geliştirmek oldukça önemlidir.

Mercimek tohumları kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada [20] mercimek tohumlarının yüzey sterilizasyonunu sağlamak için ticari çamaşır suyunun %50, %75 ve %100'lük oranları kullanılmış, tohumlar oda sıcaklığında belirtilen çamaşır suyu oranları içerisinde 15, 20, 25, 30 dakika bekletilerek tohumların yüzey sterilizasyonları gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. En etkili sterilizasyonun %100'lük çamaşır suyu içerisinde tohumların 25 dakika bekletilmesi sonucunda sağlanmıştır. Ticari olarak satılan çamaşır suları %4-5 oranında sodyum hipoklorid içermektedir. Yani en etkili sterilizasyon %4-5 oranında sodyum hipoklorid içeren ortamda 25 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Bizde bu çalışmada %5'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 30 dakika bekleme sonucunda soğanlarda tam bir sterilizasyon sağlamış bulunmaktayız. Çalışmamız bu yönüyle bahsedilen çalışma bulgularına benzerlik göstermektedir. Her iki çalışmada da %5 oranında sodyum hipoklorid kullanımı etkili bir yüzey sterilizasyonu sağlamıştır ancak bahsedilen çalışmada mercimek tohumları %5'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 25 dakika bekletilmiş, bizim çalışmamızda ise kum zambağı soğanları aynı çözelti içerisinde 30 dakika bekletilmiştir. Bu yönüyle çalışmalar birbirinden farklılık göstermektedir.

Şeker kamışı yaprakları kullanılarak yapılan bir çalışmada [21], %5 oranında sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde yaprak eksplantlarının 20 dakika bekletilmesi etkili bir yüzey sterilizasyonu sağlamıştır. Bu çalışma sonucunda %5'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde soğanların 30 veya 35 dakika bekletilmesi sonucunda kullanılan soğanlarda tam bir yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Her iki çalışmada da %5 lik sodyum hipoklorid içerisinde etkili bir sterilizasyonun sağlanması birbirini desteklemektedir. Ancak bahsi geçen çalışmada yaprak eksplantları %5'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 20 dakika bekletilmiş, aynı çözelti içerisinde kum zambağı soğanlarını 35 dakika bekleterek tam bir yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmemiş çalışmaları birbirinden farklı kılmaktadır. Bunun nedeni kullanılan bitkilerin farklı olması, bahsi geçen çalışmada yaprak eksplantlarının, bizim çalışmamızda ise soğanların kullanılmış olması, bitki materyalleri üzerindeki bakteri, fungus ve diğer mikroorganizmaların farklılık göstermesi neden olmuş olabilir. Fakat her iki çalışmada da sodyum hipokloridin ve kullanılan oranının etkili bir yüzey sterilizasyonu sağlanması sodyum hipokloridin etkili bir sterilizasyon ajanı olduğunu göstermiştir.

Şeker kamışı yaprakları kullanılarak gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise [22] %10'luk sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde yaprak eksplantlarının 10 dakika bekletilmesi sonucunda etkili bir yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sodyum hipoklorid konsantrasyonunun artırılması sonucu sterilizasyonun sağlanması çalışma bulgularımızı desteklemektedir. Bu çalışmada da sodyum hipoklorid konsantrasyonunun artırılması yüzey sterilizasyonunun sağlanmasında etkili olmuştur. Ancak yukarıda bahsedilen çalışmada yaprak eksplantlarının %10'luk sodyum hipoklorid içerisinde 10 dakika bekletilmesi yeterli olmuşken, bizim çalışmamızda aynı çözelti içerisinde soğanların 15 dakika bekletilmesi sonucunda tam bir yüzey sterilizasyonu sağlanamamıştır. Her iki çalışma bu nedenle birbirinden farklılık göstermektedir.

Zingiber zerumbet tomurcuklarının yüzey sterilizasyonlarını gerçekleştirmek için kullanılan sodyum hipoklorid çözeltisinin uygulama zamanının arttırıldıkça kontaminasyon oranının anlamlı bir şekilde azaldığı ancak tomurcuklardaki deformasyonun da artan konsantrasyonla birlikte arttığı tespit edilmiştir [23]. Bu çalışmada da artan sodyum hipoklorid konsantrasyonları kullanılan soğanlardaki pul yaprakların deformasyonunun artmasını neden olmuştur.

Arundina bambusifolia ve *Epidendrum ibaguense* orkide çeşitlerinin nodal segmentlerine 1.2, 2.4, 3.6, 4.8, 6.0 mg/l oranında sodyum hipoklorid uygulanmış, yüksek oranlarda uygulanan sodyum hipokloridin toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [24]. Diğer yandan düşük oranda sodyum hipoklorid muamelesinin mikrobiyal kontaminasyonu kontrol ettiği ve eksplantların büyümesini sağladığı hem bu iki tür ile yapılan çalışmada hem de farklı bitki türleri üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda tespit edilmiştir [24], [25], [26]. Ancak yaptığımız çalışmada düşük oranda sodyum hipoklorid kullanımının kullanılan soğanlarda etkili bir yüzey sterilizasyonu sağlamadığı gözlemlenmiştir, bu nedenle bahsedilen çalışma bulguları ile yaptığımız çalışmanın sonuçları örtüşmemektedir. Bunun nedeni kullanılan bitkilerin farklı türler olmuş olması olabileceği gibi, bitki örneklerinin farklı mevsimlerde toplanması da olmuş olabilir. Nitekim farklı mevsimlerde toplanan bitkilerde yapılan sterilizasyon çalışmalarından farklı sonuçlar elde edilmiştir [27]. Örneğin *Tylophora indica* ile yapılmış bir çalışmada mart ve nisan boyunca toplanıp kültüre alınan türlerde sterilizasyonla ilgili olumlu sonuçlar alınmış olup diğer zamanlarda yapılmış olan *in vitro* çalışmalarda bu tür kültür ortamında canlılığını yitirmiştir [27].

Sonuç olarak, dünya üzerinde *Pancreatum maritimum* popülasyonu önemli derecede azalmakta ve türün nesli tehlike altına girmektedir. Türün çoğaltımı için etkili bir *in vitro* protokolünün geliştirilmesi gerekmektedir. Etkili bir *in vitro* protokol içinde etkili bir yüzey sterilizasyon protokolü geliştirilmelidir. Yapılan bu çalışmanın bu alanda çok büyük bir boşluğu kapatacağı, bu çalışmadan elde edilen verilerin, *Pancreatum maritimum*'un *in vitro* çoğaltımı ile ilgili çalışmalar yapacak olan bilim insanlarına yardımcı olacağı kanaatindeyiz.

Kaynaklar

1. Anonim, 2014. *Panocratium*. http://eol.org/pages/29183/names/related_names.
2. Baytop T, 1984. Türkiye’de bitkiler ile tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul Üniversitesi Yayınları: 3255, Eczacılık Fakültesi Yayınları: 40, 520, İstanbul.
3. Maelicke A., Samochocki M., Jostok R., Feherbacker A., Ludwig J., Albuquerque E.X., Zerlin M. 2001. Allosteric sensitization of niconinic receptors by galanthamine, a new treatment strategy for Alzheimer’s disease. *Biological Psychiatry*, 26: 279–288.
4. Bastida J., Lavilla R., Viladomat F. 2006. Chemical and biological aspects of *Narcissus* alkaloids. In: Cordell GA (ed) *The alkaloids*, vol 63. Elsevier Scientific, Amsterdam, 87–179 p.
5. Berkov S., Bastida J., Sidjimova B., Viladomat F., Codina C. 2008. Phytochemical differentiation of *Galanthus nivalis* and *Galanthus elwesii* (Amaryllidaceae): a case study. *Biochemical Systematics Ecology*, 36: 638–645.
6. Dothan N.F. 1986. *Flora Palaestina*. Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, Israel, 4:162-163.
7. Yaltrık F., Efe A. 1996. *Otsu Bitkiler Sistematığı*, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları:10, Ders Kitabı, 518, İstanbul.
8. Eisikowitch D., Galil J. 1971. Effect of wind on the pollination of *Panocratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) by Hawkmoths (Lepidoptera: Sphingidae). *Journal of Animal Ecology*, 40 (3): 673-678.
9. Di Maio A., De Castro O. 2013. Development and characterization of 21 microsatellite markers for *Panocratium maritimum* L. (Amaryllidaceae). *Conservation Genetic Resources*, 5 (4): 911-914.
10. Karaoğlu C. 2010. Soğanlı bitkiler ve *in vitro* hızlı çoğaltım. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19 (2): 24-29.
11. Omamor I.B., Asemota A.O., Eke C.R., Ezia E.I. 2007. Fungal contaminants of the oil palm tissue culture in Nigerian Institute for Oil Palm Research (NIFOR). *African Journal of Agricultural Research*, 2: 534-537.
12. Hannerty M.J., Upton M.E., Harris D.P., Eaton R.A., James D.J. 1988. Microbial contamination of *in vitro* cultures of apple rootstocks M26 and M9. *Acta Horticulturae*, 225: 129-139.
13. Kane M. 2003. Bacterial and fungal indexing of tissue cultures. <http://plant-tc.cfans.umn.edu/listserv/1996/log9612/idexing.htm>.
14. Leifert C., Waites W.M., Nicholas J.R. 1989. Bacterial contaminants of micropropagated plant cultures. *Journal of Applied Bacteryology*, 67: 353-361.
15. Dodds J.H., Roberts L.W. 1985. *Experiments in plant tissue culture*. 2nd Edn., Cambridge Univ. Press. Cambridge, UK, 232.
16. Yıldız M. 2000. Keten bitkisinde adentif sürgün rejenerasyonu ve *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
17. Özcan S., Özgen M. 1996. Bitki genetik mühendisliği. *Kükem Dergisi*, 1(1): 69-95.
18. Davis P.H. 1984. *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, University Press, Edinburgh: 8.
19. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473–497.
20. Khawar K.M. 2001. Mercimek (*Lens culinaris* Medik)’te doku kültürü çalışmaları ve *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

21. Chengalrayan K.A.A., Gallo-Meagher M. 2005. *In vitro* regeneration of plants from sugarcane seed-derived callus. *In vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 41: 477-482.
22. Tiwari S., Arya A., Kumar S. 2012. Standardizing sterilization protocol and establishment of callus culture of sugarcane for enhanced plant regeneration *in vitro*. *Research Journal of Botany*, 7(1): 1-7.
23. Nongalleima K.H., Dikash Singh T.H., Amitabha D., Deb L., Sunitibala Devi H. 2014. Optimization of surface sterilization protocol, induction of axillary shoots regeneration in *Zingiber zerumbet* (L.) Sm. as affected by season. *Biological Rhythm Research*, 45(2):317-324.
24. Rodrigues D.T., Novais R.F., Venegas V.H.A., Dias J.M.M., Otoni W.C., Villani E.M.A. 2013. Chemical sterilization in *in vitro* propagation of *Arundina bambusifolia* Lindl. and *Epidendrum ibaguense* Kunth. *Revista Ceres Viçosa*, 60(4): 447-451.
25. Chun S.C., Schneider R.W., Cohn M.A. 1997. Sodium hypochlorite: Effect of solution pH on rice seed disinfestations and its direct effect on seedling growth. *Plant Disease*, 81: 821-824.
26. Teixeira S.L., Ribeiro J.M., Teixeira M.T. 2008. Utilização de hipoclorito de sodio na esterilização de meio de cultura para multiplicação *in vitro* de *Eucalyptus pellita* L. *Ciencia Florestal*, 18: 185-191.
27. Rani .S, Rana J.S. 2010. *In vitro* propagation of *Tylophora indica* influence of explanting season, growth regulators synergy, culture passage and planting substrate. *Journal of American Science*, 6: 385-392.