

***Begonia semperflorens*'in Direk Organogenesis Yöntemiyle Rejenerasyonu**

N. Yeşim YALÇIN MENDİ¹
Selay ELDOĞAN¹

Esra KOCAMAN¹
Pembe ÇÜRÜK¹
Sedat SERÇE²

Ceren ÜNEK¹,
Günsu GENÇEL¹

¹Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Balcalı-Adana
²Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Hatay-Antakya

Öz

Süs bitkilerinde hücre, doku ve organ kültürü yöntemlerinin kullanılması ve rejenerasyonu, genetik mühendisliği çalışmalarında ilk aşamayı oluşturmakta ve genetik manipulasyonlarda materyallerin temininde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada *Begonia semperflorens*'de rejenerasyon optimizasyonunu sağlamak amacıyla farklı BA (0.0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/l) ve NAA (0.0, 0.2, 0.5 mg/l) konsantrasyonlarını içeren MS ortamları denenmiştir.

En iyi rejenerasyon oranları sırasıyla; 0.5 BA - 0.5 NAA (%67.5), 0.5 BA - 0.2 NAA (%66.7) ve 0.2 BA - 0.5 NAA (%65.0) içeren ortamlardan sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: begonya, süs bitkileri, organogenesis, bitki büyüme düzenleyicileri.

Regeneration of *Begonia semperflorens* by Direct Organogenesis

Abstract

The plant cell, tissue or organ culture of many ornamental species and their regeneration are essential for providing the material and systems for their genetic manipulation, and this is therefore the first requirement of genetic engineering.

In this research, MS media containing different concentrations of BA (0.0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/l.) with NAA (0.0, 0.2, 0.5 mg/l.) were investigated to optimize regeneration of *Begonia semperflorens*.

The best regeneration and growth were obtained from the medium containing 0.5 BA - 0.5 NAA (67.5%) followed by 0.5 BA - 0.2 NAA (66.7%) and 0.2 BA - 0.5 NAA (65.0%) in BA and NAA combination.

Key Words: *Begonia*, ornamental, organogenesis, plant growth regulator

Sorumlu Yazar/Correspondence to: N.Y. Yalçın Mendi, yesimcan@cu.edu.tr
Geliş Tarihi: 14.11.2008 Kabul Tarihi: 28.11.2008

Makalenin Türü: Araştırma Makalesi
Category: Research

Giriş

Süs Bitkileri üretimi, Dünya'da ve Türkiye'de ekonomiye katkı sağlayan önemli bir sektör olarak kabul edilmektedir. Hollanda ve Amerika gibi gelişmiş ülkelerin yanında gelişmekte olan bazı Afrika, Asya ve Güney Amerika ülkeleri de uygun ekoloji ve ucuz iş gücü olanaklarını kullanarak süs bitkileri üretimi ile ihracat geliri elde etmektedirler.

Gelişmiş olan ülkelerde başlıca üretilen saksı bitkileri ve kesme çiçekler arasında; Begonya, Benjamin, Kauçuk ağacı, Sıklamen, Atatürk çiçeği, Açelya, Flamingo gagası, Beyaz Yelken, Afrika menekşesi, Gül, Krizantem, Karanfil ve Gerbera yer almaktadır. Dünya'da yaklaşık 145 ülkede ticari anlamda süs bitkileri üretimi yapılmakta, bu ülkelerin toplam üretim alanı ise 223.105 hektar olarak tahmin edilmektedir (Gürsan ve Erkal, 1998; Yazgan ve ark., 2005). Üretilen 212,5 milyon bitkiden yaklaşık %78'ini süs bitkileri oluşturmaktadır. Hollanda, Krizantem, Begonya, Benjamin, Lale, Sıklamen, Filodendron, Afrika Menekşesi, Beyaz Yelken ve Orman gülü gibi saksı bitkilerinin ihracatında egemendir (Rout ve ark., 2006).

Türkiye'de ise üretimin büyük bölümü; Ege (İzmir), Marmara (Yalova, İstanbul, Kocaeli, Bursa, Adapazarı-Sapanca) ve Akdeniz (Antalya, Adana, Mersin) bölgelerinde gerçekleştirilmektedir.

Dünya süs bitkileri üretiminde; Hollanda (%33), Japonya (%24), İtalya (%11), Amerika (%12), Tayland (%10) ve diğerleri %14'lük bir paya sahiptir. İhracattaki payları ise Hollanda; %59, Kolombiya; %10, İtalya; %16, İsrail; %4, İspanya; %2, Kenya; %1 ve diğerleri; %18'dir. İhracatta en iyi olan dört ülke (Hollanda, Kolombiya, İtalya, İsrail) dünya pazarının %80'ini elinde bulundurmakta, %20'sinden daha azını da geliştirmekte olan Afrika, Asya, Latin Amerika gibi ülkeler paylaşmaktadır (Rout ve ark., 2006).

Biyoteknolojik yöntemler, klasik üretim yöntemlerine alternatif olarak son 20 yılda karşımıza çıkmaktadır. Doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları; eksplant) veya organ (apikal meristem, kök ve benzeri) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir (Babaoğlu ve ark., 2001). Tüm Dünya'da yaklaşık 156 süs bitkisi, doku kültürü yöntemi ile farklı ticari laboratuvarlarda üretilmektedir. Doku kültürü, ucuz iş gücü ve düşük maliyet sağlamasına rağmen geleneksel çoğaltım metotlarından çok daha pahalıdır.

In vitro kültürün genel olarak bitki yetiştiriciliği ve genetiği yönünden önemli avantajları bulunmaktadır. Bunlar; hastalık ve zararlılardan arı bitkisel materyal eldesi, kitlesel üretimde; üretilen bitkilerde homojenite, alışlagelen yöntemlerden daha kısa kültür süresi, zor üretilen türlerin daha kolay üretimi, seçilen genotiplerin hızlı üretimi, üretimde az anaç kullanılması, mutasyonlardan dolayı yeni çeşitlerin elde edilme olasılığıdır.

Farklı büyümeyi düzenleyicileri (sitokinin ve oksin gibi) içeren *in vitro* kültür ortamlarında birçok süs bitkisinin çoğaltımı yapılmaktadır. Siklomen sürgünlerinin rejenerasyonu ilk kez yumru kısımları kullanılarak, NAA ilave edilmiş besi ortamından sağlanmıştır. Begonya, Flamingo gagası, Gül, Afrika menekşesi, Petunya ve Siklomen bitkilerinin yaprak sapı ve yaprak dokuları kullanılarak rejenerasyondan bitkiye dönüşüm sağlanmıştır. Sürgün eksplantları kullanılarak Beyaz Yelken, Benjamin, Kauçuk, Begonya gibi bitkilerden yeni bitkicikler elde edilmiştir. Somatik embriyogenesis uygulamalarında da, saksılı süs bitkilerinde (Krizantem, Siklomen, Gül, Begonya Benjamin, gibi) önemli başarılar kaydedilmiştir.

Begonia, Dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde yaygındır. Saksılarda ve bahçe bitkisi olarak kullanılmaktadır. Yaprak ve gövdeden vejetatif yolla çoğaltılmaktadır. Ticari yetiştiricilikte yaklaşık 200 türünün kullanıldığı ortaya çıkmıştır. En önemli türleri *Begonia tuberhybrida*, *B. semperflorens*, *B. tuberosa* X *B. rex*, *Begonia* X *hiemalis*, *Begonia* X *elatio*, *B. X cheimanthus* ve *B. X socotrana*'dır.

B.semperflorens (çiçek-şeker begonya)'ın anavatanı Brezilya'dır. İç mekan süs bitkisi olarak yetiştirilen çiçek begonyalar hoş, şirin ve dekoratif görünümü ve kolay bakımıyla dikkat çekmektedir. Yumru begonyaların aksine daima yeşil haldedir. Yaprakları açık yeşilden kırmızı kahverengiye kadar değişir. Çiçekleri yalınkat ve katmerli, kırmızı, pembe veya beyaz renkli bitkilerdir. Geleneksel çoğaltım yöntemlerinde hastalık oluşum problemi vardır ve genetiksel homojen bitki üretimi çok güçtür. Hücre kültürü tekniği, begonya bitkisinin kitlesel çoğaltılması için uygun bir metottur. Bu yöntemlerle, klasik çoğaltım yöntemlerinde oluşan problemlerin üstesinden de gelinmektedir.

Bu çalışmanın amacı *B. semperflorens*'de direk organogenesis yöntemi kullanılarak rejenerasyonu optimize etmek ve en uygun rejenerasyon protokolünü belirlemektir.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada, İstanbul Tohumculuk firmasından temin edilen *B. semperflorens* tohumları kullanılmıştır.

Metot

Doku Kültürü Çalışmaları

Yüzey Sterilizasyonu

Sterilizasyonda, *B. semperflorens*'in tohumları, %2'lik tween 20'den 2 damla içeren %15'lik sodyum hipoklorit içerisinde çalkalanarak 10-12 dakika bekletilmiştir. Steril saf su ile 3 kez yıkanan tohumlar, steril kabin içerisinde hazırlanmış MS (Murashige & Skoog, 1962) ortamlarına ekilmişlerdir.

Rejenerasyon

Rejenerasyon ortamında farklı BA (0.0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/l) ve NAA (0.0, 0.2, 0.5 mg/l) konsantrasyonlarını içeren MS ortamları kullanılmıştır. Farklı hormon konsantrasyonlarının rejenerasyon üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Tüm rejenerasyon seçim uygulamaları 25±1 °C da 16 saat fotoperiyotta (30 µ mol.m⁻² s⁻¹ floresan beyaz ışık) *in vitro* koşullarda kültüre alınmıştır. *In vitro* kültürde sürgünleri geliştirilmiş olan eksplantlar, yeterli bitki sayısına ulaşıncaya kadar 4 haftada bir alt kültürleri yapılmıştır.

İstatistiksel analizler SAS programı (Anonim, 2005) kullanılarak yapılmıştır. Varyans analizi GLM prosedürü kullanılarak hesaplanırken, ortalamalar TABULATE prosedürü ile hesaplanarak Duncan testiyle karşılaştırılmıştır.

Sonuç ve Tartışma

Rejenerasyon

Begonya'da rejenerasyon optimizasyonunu sağlamak amacıyla farklı BA (0.0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/l) ve NAA (0.0, 0.2, 0.5 mg/l) konsantrasyonlarını içeren MS ortamları denenmiş ve yaprak ve yaprak sapı eksplantları rejenerasyon ortamına konulduktan sonra birer hafta arayla gözlemler yapılmıştır. Gözlem sonuçları Çizelge 1'de sunulmuştur.

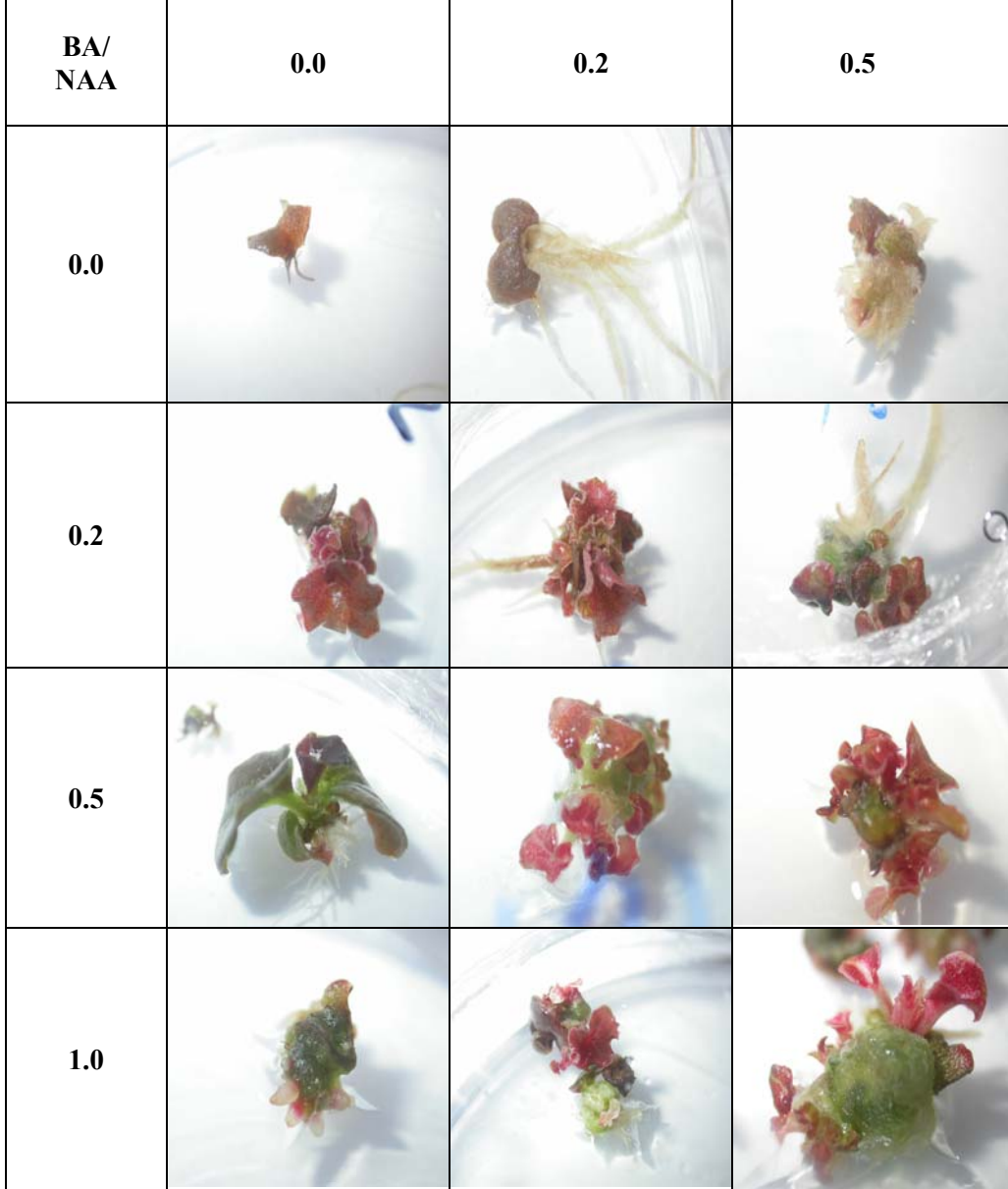
Çizelge 1. Rejenerasyon ortamına konulan yaprak sapı eksplantlarının rejenerasyon oranları

Hormon	Rejenerasyon
0.2 BA	39.6 ± 16.6 c
0.2 BA 0.2 NAA	43.8 ± 17.2 bc
0.2 BA 0.5 NAA	65.0 ± 20.5 ab
0.2 NAA	35.4 ± 9.4 c
0.5 BA	58.3 ± 6.5 abc
0.5 BA 0.2 NAA	66.7 ± 6.5 ab
0.5 BA 0.5 NAA	67.5 ± 30.1 a
0.5 NAA	37.5 ± 7.9 c
1 BA	52.1 ± 16.6 abc
1 BA 0.2 NAA	52.1 ± 16.6 abc
1 BA 0.5 NAA	47.9 ± 24.3 bc
Kontrol	40.0 ± 13.7 c
Ortalama	50.2 ± 18.9

Yaprak dokusundan rejenerasyon gözlenmezken, yaprak sapı eksplantlarında birkaç gün içerisinde on iki farklı hormon konsantrasyonunun tamamında rejenerasyon saptanmıştır. Bununla birlikte en iyi rejenerasyon düşük hormon konsantrasyonlarından gözlemlenmiştir.

En iyi rejenerasyon oranları sırasıyla; 0.5 BA - 0.2 NAA (%66.7), 0.2 BA - 0.5 NAA (%65.0) ve 0.2 BA - 0.2 NAA (%43.8) içeren ortamlardan sağlanmıştır. 0.2 NAA ve 0.5 NAA içeren ortamlarda ise köklenme gözlemlenmiştir.

Şekil 1’de de görüldüğü gibi sadece NAA içeren ortamlarda kök gelişimi gözlenmiştir. 0.2 mg/l BA’nın NAA ile kombinasyonu sonucunda rejenerasyon oranında artış sağlanmıştır. 0.5 mg/l BA ’nın 0.2 mg/l NAA kombinasyonu ile de en yüksek oranda rejenerasyon sağlanmıştır.



Şekil 1. *Begonia semperflorens* yaprak sapı eksplantlarının farklı BA (0.0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/l) ve NAA (0.0, 0.2, 0.5 mg/l) kombinasyonunda rejenerasyonu

Takayama ve Misawa (1982) 1.3 μ M BA - 5.4 μ M NAA veya 4.6 μ M Kn - 5.4 μ M NAA içeren ortamlardaki begonya yaprak ve çiçek sapı eksplantlarından geliştirilen sürgün rejenerasyonun hızlı olduğunu belirtmişlerdir.

Dört farklı begonya türünde (*B. semperflorens*, *B. rex*, *B. x elatior*, *B. x tiger*) yaprak ve petiol segmentlerinden başarı ile rejenerasyon gerçekleştirilmiştir. Beş farklı MS ortamı denenmiş ve bunlardan üçüne NAA ve BA, diğer ikisine de NAA ve kinetin ilave edilmiştir. BA içeren ortamlardan elde edilen rejenerasyonun daha başarılı olduğu saptanmıştır (Espino ve ark., 2004). Rejenerasyon oranı eksplantlar ve genotipler arasında farklılık göstermiştir.

Teşekkür

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projelerinden ZF 2007BAP23 no'lu proje tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Anonim, 2005. SAS Online Doc, Version 8. SAS Inst., Cary, NC.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., 2001. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları.
- Espino, F.J., Linacero, R., Rueda, J., Vazquez, A.M., 2004. Shoot Regeneration in Four Begonia Genotypes. *Biologia Plantarum*, 48,101-104.
- Gürsan. K ve S.Erkale, 1998. Dünya'da ve Türkiye'de Süs Bitkileri Üretim ve Ticaretindeki Gelişmeler, I. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, Bildiriler Kitabı, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, 1-11, Yalova.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.
- Rout, G.R., Mohapatra, A., Mohan Jain S., 2006. Tissue Culture of Ornamental Pot Plant: A Critical Review on Present Scenario and Future Prospects. *Biotechnology Advances*, 24, 531-560.
- Yazgan, M.E., Korkut, A.B., Barış, E., Erkal,S., Yılmaz, R., K.Erken, Gürsan, K., Özyavuz, M., 2005. Süs Bitkileri Üretiminde Gelişmeler, Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi.