

Eğrelti Üretiminde Doku Kültürlerinden Yararlanma İmkânları

Ahmet MENGÜÇ*

Murat ZENCİRKIRAN**

ÖZET

Günümüzde, içlerinde eğreltilerinde bulunduğu çok sayıda süs bitkisi doku kültürleri yöntemlerinden faydalanılarak üretilmektedir. Eğreltiler, tohum bağlamadıkları ve klasik üretim yöntemleri (ayırma hariç) ile çoğaltmadıkları için doku kültürleri yöntemleriyle yaygın olarak çoğaltılmaktadır. Eğrelti üretimi için explant olarak meristem, rizom segmentleri veya yaprak dokusu ve sporlar kullanılmasına rağmen ticari olarak üretimde, rizom segmentleri veya uçları ile sürgün uçlarının kullanımı daha yaygındır.

Anahtar Kelimeler: Eğreltiler, doku kültürü.

SUMMARY

Possibilities of Utilizing Tissue Culture in the Propagation of Fern

Today, numerous ornamental plant sepecies including ferns are propagated using tissue culture methods. Ferns are commonly propagated by tissue culture techniques since they don't set seeds and they cannot be propagated by conventional propagation methods (except division) naturally. Meristem, rhizom segments or tips, leaf tissue and spores are

* Doç. Dr.; U.Ü. Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü.

** Araş. Gör.; U.Ü. Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü.

used as explant for the propagation of ferns: however the use of rhizom segments or tips and shoot tips is more common in commercial propagation.

Key Words: Ferns, tissue culture.

GİRİŞ

Bitki doku kültürleri, temelde bir üretim yöntemidir. Bilinen diğer klasik üretim yöntemlerinden farklı olarak bitkinin çeşitli kısımlarından alınan küçük bir parçanın (explant) sterilize edildikten sonra, çeşitli maddeleri içeren steril gıda ortamında (in vitro) ve uygun çevre koşullarında (ışık ve sıcaklık) kültüre alınması işlemidir (Gönülşen, 1987).

Son yıllarda ticari olarak aralarında eğreltilerinde bulunduğu çok sayıda süs bitkisi doku kültürleri yöntemlerinden yararlanılarak çoğaltılmaktadırlar.

Saksı bitkisi olarak yetiştirilen eğreltiler, tohum oluşturmazlar ve klasik üretim yöntemleri ile (ayırma hariç) çoğaltılamazlar. Ayırma ile çoğaltım, iyi gelişme gösteren bitkilere sahip anaçlıkların tesis edilmesini gerektirir ki bu da ekstra tesis ve bakım masrafları ile serada sürekli bir yer kaybının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Oysa günümüzde doku kültürleri yöntemlerinden yararlanılarak yoğun bir şekilde eğrelti üretimi yapılmaktadır. Nitekim, 1986 yılında Hollanda'da 11.194.000 adet *Nephrolepis*, 340.000 adet *Davallia* ve 36.200 adet *Platyserium* üretilmiştir (Tablo: 1).

Tablo: 1
Hollanda Doku Kültürleri Laboratuvarlarında
Bazı Saksı Bitkilerinin 1986 Yılı Üretimi (Pierik, 1987)

Saksı Bitkileri	1986 Yılı Üretimi (Adet)
<i>Nephrolepis</i>	11.194.000
<i>Saintpaulia</i>	3.715.000
<i>Anthurium scherzerianum</i>	1.747.000
<i>Cordyline</i>	783.600
<i>Syngonium</i>	603.500
<i>Spathiphyllum</i>	512.700
<i>Davallia</i>	340.000
<i>Bromeliacea</i>	250.500
<i>Alocasia</i>	180.000
<i>Ficus</i>	148.000
<i>Platyserium</i>	36.200
<i>Dieffenbachia</i>	14.000

Toplam saksı bitkileri üretiminin yaklaşık 20.000.000 adet olduğu 1986 yılında, eğreltiler yaklaşık 11.500.000 adet ile ilk sırada yer almışlardır (Pierik, 1987). Diğer yandan A.B.D.'de bulunan doku kültürleri laboratuvarlarında 1985 yılında üretilen 32.500.000 adetlik yapraklı saksı bitkileri üretiminin 5.000.000 adedini eğreltiler (Tablo: 2) oluşturmuştur (Jones, 1986). Elde edilen bu bitkiler aralarında Türkiye'nin de bulunduğu birçok dünya ülkesine pazarlanmaktadır.

Tablo: 2
A.B.D. Doku Kültürleri Laboratuvarlarında
1985 Yılı Yapraklı Saksı Bitkileri Üretimi (Jones, 1986)

Yapraklı Saksı Bitkileri	1985 Yılı Üretimi (Milyon, Adet)
<i>Syngonium</i>	15
<i>Spathiphyllum</i>	6 +
Fern	5
<i>Dieffenbachia</i>	3
<i>Philodendron</i>	2 +
<i>Ficus</i>	1
Çeşitli Yapraklı Bitkiler	0.5
T O P L A M :	32.5

Dünyada hızlı bir gelişme gösteren doku kültürleri tekniğine karşı duyulan ilgi son yıllarda ülkemizde de artmıştır. Temel araştırmalar ile bitki üretimi ve ıslahı gibi uygulamalarda bu tekniğin geniş bir yer alması artık kaçınılmaz bir gerçektir.

DOKU KÜLTÜRLERİ İLE ÜRETİM

Bugün doku kültürleri yöntemi çoğu eğrelti türlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Eğreltilerin in vitro çoğaltımında explant olarak; meristemler, rizom segmentleri veya uçları, yaprak dokusu ve sporlar kullanılabilirlerdir.

1943 yılında Wetmore ve Morel, *Adiantum* çoğaltımı amacıyla apikal meristemleri başarıyla kullanmıştır. Bristow, *Pteris cretica*'da kallusten gametofitik ve sporofitik dokuların her ikisini farklılaştırmıştır. *Microgamma* ve *Rumoha* için explant olarak yaprak dokusu kullanılırken, *Nephrolepis* ve *Ampelopteris* de rizom segmentleri veya uçları (Read ve Hosier, 1986) *Platyterium stemaria*'da ise 3 mm lik sürgün uçları kullanılmaktadır (Kyte, 1983). Ancak *Nephrolepis* üretiminde rizom segmentleri kullanıldığında tip dışı ve beklenmedik bitkilerle karşılaşılabilir (Read ve Hosier, 1986).

Günümüzde ticari eğrelti üretiminde explant olarak sporlar yerine meristem, rizom segmentleri veya uçları yaprak dokusu ve sürgün uçları kullanılmaktadır. Bu şekilde üretilen eğreltiler arasında ilk sırada *Nephrolepis* yer almakta, bunu *Davallia* ve *Platyserium* izlemektedir (Pierik, 1987).

Nephrolepis exaltata (L.) Schott var. *bostoniensis* Davenport. (Boston Eğreltisi) ve *Platyserium stemaria* (Geyik boynuzu Eğreltisi) da ticari üretim için yapılan uygulamalar şu şekilde özetlenebilir (Kyte, 1983).

Nephrolepis exaltata (L.) Schott var. *bostoniensis* Davenport
(Boston Eğreltisi)

Explant: Rizom ucunun 2.5 cm lik kısımları kullanılır.

Uygulama: Aktif şekilde gelişen eğrelti rizomlarının ucundan 10 cm alınır. Bunlardan 2.5 cm lik parçalar kesilir. Bu parçalar 1/10 luk çamaşır suyu (ağartıcı) içinde 15 dakika süreyle karıştırılır. Daha sonra bu segmentlerden 5-10 mm lik parçalar kesilerek distile su içinde çalkalanır. Sallanan ya da sabit sıvı ortam içine yerleştirilir.

Ortam: BA (1.1 mg/l), Kinetin (0.04 mg/l) ve IAA (2 mg/l) ile modifiye edilmiş MS ortamı kullanılır. Kinetin ve BA III. safhada kullanılmaz (Tablo: 3).

Tablo: 3

Nephrolepis exaltata (L.) Schott var. *bostoniensis*
Davenport (Boston Eğreltisi) İçin Kullanılan Besin Ortamı

Bileşikler	I. ve II. Safha (mg/l)	III. Safha
MS tuzları	4628	4628
Inositol	100	100
Kinetin	0.04	
BA	1.1	
IAA	2.0	2.0
Sakkaroz	30000	30000
Agar	8000	8000
pH 5.2		

Işık: 100-300 foot-candle floresan ışığı ile 16 saat ışık/8 saat karanlık olacak şekilde verilmelidir.

Sıcaklık: 27°C

I. safhada gelişen parçalar II. safha için aynı ortama aktarılır ya da parçalar kesilir (Büyük eğrelti yaprakları uzaklaştırıldıktan sonra) ve aynı bileşimin

agar ortamına dağıtılır. İkinci yöntem yağın (parça) üretimi için zaman kazandıran bir yöntemdir. Muhtemelen Boston eğreltilerinin çoğu diğer bazı süs bitkilerine göre bu doku kültürü yöntemiyle üretilmektedir. Dört aydan daha kısa bir üretim periyodu ile her yıl bir milyon bitki normal bir laboratuvarında üretilebilmektedir.

Platyserium stemaria (Geyik Boynuzu Eğreltisi)

Explant: Sürgünlerden alınan 3 mm lik sürgün ucu kullanılır.

Uygulama: 5 cm den daha az genişliğe sahip olan sürgünler alınır. Çeşme suyunda 5 dakika yıkanır. Çok büyük yapraklar ve kök parçaları kesilerek uzaklaştırılır. Sürgün uçları 1 cm kesilir ve 1/10 luk çamaşır suyu ile 10 dakika çalkalanır. Distile suda üç kez çalkalanır. Tüpler uzaklaştırılır ve 1/20 lik çamaşır suyunda 5 dakika karıştırılır. Sürgün uçlarından 3 mm lik kubbe kesilir. Distile su ile çalkalanır.

Ortam: I. ve II. safha için 15 mg/l IAA ile modifiye edilmiş MS ortamı kullanılır. III. safhada IAA kullanılmaz (Tablo: 4). Keza *Lilium* ortamı da mükemmel sonuçlar verir.

Tablo: 4
Platyserium stemaria (Geyik Boynuzu Eğreltisi)
İçin Kullanılan Besin Ortamı

Bileşikler	I. ve II. Safha (mg/l)	III. Safha
MS tuzları	4628	4628
Inositol	100	100
Nikotik Asit	0.5	0.5
Pyridoxine HCl	0.5	0.5
Thiamine HCl	0.1	0.1
Glycine	2.0	2.0
IAA	15	
Sakkaroz	30000	30000
Agar	8000	8000
pH 5.7		

Diğer yandan, eğreltiler sporlarının in vitroda değişik besin ortamlarında çimlendirilerek yeni bitkilerin elde edilmesi mümkündür (Mengüç ve Zencirkıran, 1992).

İn vitroda sporların çimlendirilmesi katı agar ortamında ve sıvı kültürlerde yapılabilmektedir. Bu amaçla Gauthered, MS ortamı ve Knopp solüsyonu

kullanılmaktadır. Gauthered ortamında, Knopp solüsyonu ve MS ortamına göre daha büyük ve yeşil prothalluslar elde edilmektedir. İki-üç aylık prothallusların öğütülmesiyle elde edilen süspansiyonun 0.1 mg/l IBA, 0.5 mg/l BA ve 10 g/l sakkaroz içeren 0.2 güçte MS ortamında kültüre alınması diğer metodlara göre daha fazla sporofit üretimi sağlamaktadır (Thentz ve Moncousin, 1985).

Spor ile üretim amacıyla yeşil yaprak parçaları alınarak açılmamış spor keseleri düz bir yüzey üzerinde sterilize edilmiş ve besleyici agar ortamına konulmuştur. Aralarında *Platyserium coranarium* ve *Dicranopteris linearis*'inde bulunduğu 18 eğrelti türünde prothalluslar elde edilmiş ve prothallus gelişmesinin sonunda genç eğreltiler yetiştirme kompostu içerisine aktarılmışlardır. Ancak spor ile yetiştiriciliğin diğer metodlara nazaran zor olduğu saptanmıştır (Henson, 1979).

Marengo (1979)ya göre ise eğrelti sporlarının çimlenmesi ve prothalli kültürü çoğunlukla sporların Knudson besi ortamına yayılmasıyla yapılabilmektedir. Başarılı sonuçlar elde edebilmek için 15 gr agar 1 lt su içerisinde eriyik hale getirilmeli, mineral maddeler ilave edilmeli ayrıca eriyik içerisine bir adet ticari bitki besleyici tablet katılmalıdır.

Douglas ve Sheffield (1990) tarafından, eğrelti gametofitlerinin hareketsiz (oturmuş) bir sistem kolonize edemeyeceklerini ve bu sistemin büyüme ve gelişme bakımından bir serbest sıvı sistemden daha başarılı olup olmayacağını belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla *Anemia phyllitidis* (L.) swartz. ve *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. sporları % 5'lik sulu sodyum hipokloritte 3 dakika süre ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve spor süspansiyon inokulumunda homojen dağılıma izin vermek için % 5 w/v sulu karboksimetil selüloz (BDH) da distile suda süspansiyon haline getirilmiştir. Moore'nin ortamı (Moore, 1903) esas alınarak yapılan inorganik kültür ortamının pH'sı 1 M sodyumhidroksit kullanılarak 6.5'a ayarlanmış ve 15 dakika için 15 paundta ve 121°C da otoklavlanmış kültür şişelerine dağıtılmıştır. Yerleştirme şişeleri içerisine kuru ağırlığı bilinen 1x1x0.3 cm lik 8 adet polyüretan köpük parçası asılmıştır. Spor konsantrasyonu 3×10^4 ml ye ayarlanmış ve her şişeye 1 ml eklenmiştir. Şişeler 12/12 saatlik ışık karanlık döngüsü altında $20 \pm 4^\circ\text{C}$ 'de bir dönen sallayıcıya (165 dev/dak) yerleştirilmiş ve asılı köpüklerin gözeneklerinde gametofit dokular oluşmuştur.

Sonuç olarak, biomass kuru ağırlığı şeklinde ölçülen büyümenin hareketsiz kültürlerde aynı yaştaki sıvı kültürlerdeki göre önemli ölçüde fazla olduğu bulunmuştur. Hareketsiz kültürlerdeki verim artışına birçok faktör katkıda bulunmuş olabilir. Angiospermlerdeki doku kültürleri çalışmalarından sekonder metabolit üretimi gibi birçok unsur için farklılaşmış organizmanın doğal durumunu mümkün olduğunca izlemenin önemli olduğu gittikçe açık hale gelmektedir (Douglas ve Sheffield, 1990).

Sıvı kültürü gametofitler üzerine fiziksel olarak zararlı bir etki yapabilir. İki tip zararlanma ihtimali vardır. Tümüyle fiziksel olan zararlanma ve fiziksel

stres sonucunda olan bir sekonder metabolik zararlanma. Gametofitlerin, bir döner sallayıcı üzerindeki şişeler içindeki ortamda hareketi, şişenin çeperiyle ve birbirleriyle temas halinde olmalarına neden olur. Bu hücre duvarlarını aşındırarak ya da sıkıştırarak gametofitleri zararlandırabilir. Dolayısıyla sıvı kültürlerde verim azalması kısmen metabolik enerjiyi onarım için harcamaya bağlı olabilir. Bu durum iki kültür metodu arasındaki verim farkının kültürler yaşlandıkça neden daha belirgin olduğunu açıklamaktadır. Gametofitler muhtemelen büyüdükçe zararlanmaya daha hassas hale gelecektir (Douglas ve Sheffield, 1990).

Gametofitlerin hareketsizliği büyüme bakımından daha avantajlıdır ve dolayısıyla gametofitik dokuların yığın üretimi için bu kültür sistemi başarılı olacaktır.

SONUÇ

Eğrelti gametofitleri ideal deneysel organizmalar olarak kabul edilmiştir. Fakat suni yetiştiriciliği büyük ölçüde agarla katılaştırılmış tabakaların yüzeyinde yetiştiricilikle sınırlıdır. Gametofitlerin hareketsizliği büyüme bakımından daha avantajlıdır ve dolayısıyla gametofitik dokuların yığın üretimi için bu kültür sistemi başarılı olacaktır. Sıvı kültürü sistemi ise, ister sekonder metabolitlerin üretim potansiyeli olsun olmasın ortamın kolaylıkla değiştirilebilir olması ve deneysel materyal devam ettirilirken, ortam eklemelerin ve değiştirmelerinin etkilerinin araştırılmasına izin vermesi nedeniyle kültür koşullarının idare edilmesi için idealdir (Douglas ve Sheffield, 1990).

Diğer yandan, ticari olarak doku kültürleri yöntemi ile üretimde daha ziyade explant olarak sporlar yerine meristem, rizom segmentleri veya uçları, yaprak dokusu ve sürgün uçları kullanılmaktadır. Fakat sporların üretim kaynağı olarak kullanılabilirliği de zor olmasına rağmen gözardı edilmemelidir ve bu yöndeki çalışmalar hızlandırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- DOUGLES, E.G. and SHEFFIELD, E., 1990. A new for culture of fern gametophytes. *Plant. Cell. Reports*. 8: 632-634.
- GÖNÜLŞEN, N., 1987. Bitki Doku Kültürleri Yöntemleri ve Uygulama Alanları, T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bak. Ege Tarımsal Araş. Enst. Müd. Yayın. No: 78, Menemen, İzmir.
- HENSON, H., 1979. Aseptic Culture of Ferns at Kew. *Hort. Abst.*: 50(7), 5375.
- JONES, B.J., 1986. Determining Markets and Market Potential of Horticultural Crop. Tissue Culture as a Plant Production System for Horticultural Crops. (ed. Zimmerman, R.H. et al.). Martinus Nijhoff Publishers Dordechf. Printed in the Netherland, 175-182.

- KYTE, L., 1983. Plant From Test Tubes, An Introduction to Micropropagation. Timber Press, Portland, Oregon.
- MARENGO, N.P., 1979. A Simplified Nutrient Medium for Growing Fern *Protallia*. Hort. Abst: 50 (11): 8374.
- MENGÜÇ, A. ve ZENCİRKIRAN, M., 1992. Süs Bitkilerinde Spor İle Üretim Tekniği. Bahçe ve Sera, Uluslararası Meyvecilik, Sebzeçilik ve Çiçekçilik Dergisi, 5: 13-16.
- THENTZ, M. and MONCOUSIN, C., 1984. In Vitro Micropropagation of *Platycerium bifurcatum*. Revue Horticale Suisse 57(10): 293-297, Hort. Abst. 55(6): 4637.
- READ, E.P. and HOSIER, A.M., 1986. Tissue Culture Propagation of Ornamental Crops: An Overview, Tissue Culture as a Plant Production System for Horticultural Crops (ed. Zimmerman, R.H. et al.) Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Printed in the Netherland, 283-287.
- PIERIK, R.L.M., 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. Printed in The Netherland, p. 344.