

PAPER DETAILS

TITLE: Gerberanın (*Gerbera jamesonii* Bolus) Yaprak ve Yaprak Sapından in vitro Adventif Sürgün
Rejenerasyonu

AUTHORS: Mahmut Mesut DIKER, Bekir SAN

PAGES: 104-111

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/308603>

Gerberanın (*Gerbera jamesonii* Bolus) Yaprak ve Yaprak Sapından *in vitro* Adventif Sürgün Rejenerasyonu

Mahmut Mesut DİKER Bekir ŞAN*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta

*Sorumlu yazar: bekirsan@sdu.edu.tr

Geliş tarihi:04.03.2016 Yayına kabul tarihi:11.04.2016

Özet: Çalışmada Rosalin gerbera çeşidinin yaprak ve yaprak sapı eksplanlarından sürgün rejenerasyonu üzerine bazı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla MS ortamına benzil aminopürinin (BAP) 3 dozu (1.0, 2.0, ve 3.0mg/L) ya da thidiazuronun (TDZ) 3 dozunun (0.3, 0.6, 1.2mg/L) gümüş nitratın 3 dozu (0, 1.0 ve 2.0 mg/L) ile oluşturduğu 18 farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonu ilave edilmiştir. Ayrıca tüm uygulamalarda, MS ortamına 0.1 mg/l NAA eklenmiştir. Çalışmada her iki eksplant tipinde de kallus oluşumu bakımından TDZ uygulamaları BAP uygulamalarına göre daha iyi sonuç vermiştir. Eksplant olarak yapraklar kullanıldığında, hiçbir uygulamada sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Çalışmada yaprak sapları eksplant olarak kullanıldığında ise, en yüksek sürgün rejenerasyon oranı, sürgün sayısı ve yaprak sayısı değerleri 3 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamında sırasıyla %22.5, 2.0 adet ve 3.33 adet olarak elde edilmiştir. Gümüş nitrat uygulamaları sürgün oluşumu üzerine etkili olmamıştır.

Anahtar kelimeler: Gerbera, benzilaminopurin, gümüş nitrat, thidiazuron, sürgün rejenerasyonu

In vitro Adventitious Shoot Regeneration from Leaves and Petioles of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus)

Abstract: In this study, effects of plant growth regulators on shoot regeneration from leaf and petiole explants of Gerbera cultivar 'Rosalin' were determined. For this purpose, 18 different combinations of plant growth regulators consisting of three doses of AgNO₃ (0, 1.0 and 2.0 mg/L) and three doses of BAP (1.0, 2.0 and 3.0 mg/L) or thidiazuron (0.3, 0.6 and 1.2 mg/L) were tested. In addition, 0.1 mg/l NAA was added to all MS media. In the study, TDZ applications gave better results based on the formation of callus for both explants types. When the leaves were used as explants, no shoot formation was observed on MS medium containing both BAP and TDZ. When the petiole was used as explants, BAP applications gave better results than TDZ application in term of shoot regeneration. In the study, the highest shoot regeneration rate, shoot number and leaf number were 22.5%, 2.0 shoots, and 3.33 leaves on the MS medium containing 3 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA, respectively. Applications of silver nitrate were not effective on *in vitro* shoot regeneration in gerbera.

Key words: Gerbera, benzylaminopurine, silver nitrate, thidiazuron, shoot regeneration.

Giriş

Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus), dünyada ticari önemi olan 10 kesme çiçekten birisi olup, ülkemiz kesme çiçek üretiminin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Kesme çiçek ihracatında %10'luk pay ile önemli bir yere sahip olan gerbera, karanfilden sonra ikinci sırada yer

almaktadır (Özzambak, 2002). Gerek üretim alanı gerekse de ihracat değerleri bakımından ekonomik potansiyele sahip gerbera yetiştiriciliğinde; özellikle fide üretim aşamasında önemli sorunlarla karşı karşıya kalınmaktadır. Tohumla çoğaltma yöntemi, açılım göstermesi ve çiçek üretmek

için çok zaman alması gibi nedenlerle tavsiye edilmemektedir (Das ve Singh, 1989; Nhut ve ark., 2007). Vejetatif çoğaltımın bu sorunun üstesinden geldiği ve tohumla üretime göre daha hızlı bir fide üretimi sağladığı bildirilmiştir (Topoonyanant ve Debergh, 2001). En çok kullanılan vejetatif çoğaltım teknikleri arasında, yaprak, dal-gövde çelikleri ve ayırma yöntemi yer almaktadır (Kumar ve Kanwar, 2007). Vejetatif çoğaltım tekniklerinden ayırma yöntemi daha yaygın olarak kullanılmasına rağmen bir bitkiden yılda sadece 5 fide üretimine olanak sağlamaktadır (Kumar ve ark., 2004). Genellikle üretim materyalleri üretim dönemi sonunda sökülen bitkilerden alınmaktadır. Bu durum beraberinde üretim sırasında karşılaşılan hastalık ve zararlı sorunlarını beraberinde getirmekte ve bu şekilde çoğaltılan bitkilerle yapılan yetiştiricilikte hastalık sorunları yanında verim ve kalite kayıpları da yaşanmaktadır. Bahçe bitkilerinde *in vitro* çoğaltım teknikleri çoğaltım ve yetiştirme için dünya çapında uygulanan bir yöntemdir ve buna benzer problemlerin çözülmesinde önemli bir yere sahiptir. Bu yöntem ile aynı özellikte, kuvvetli ve hastalıksız bitkiler zamana bağlı olmaksızın yılın her döneminde çoğaltılabilmektedir (Rogers ve Tjia, 1990; Sulusoglu ve Cavusoglu, 2013). Bu yöntemde, kapitulum (çiçek tomurcuğu) (Radice and Marconi, 1998), çiçek sapı (Chu ve Huang, 1983) ve *in vitro* yapraklar (Jerzy ve Lubomski, 1991) eksplant olarak kullanılmış, fakat bitki rejenerasyonunda başarı oranı, çeşitlere ve kullanılan büyüme düzenleyici maddelere göre değişmekle birlikte çok yüksek olmamıştır.

Gerbera'da adventitif sürgün rejenerasyonu sayesinde başarılı mutantların (mutasyona uğramış birey yada hücre) üretilme şansının, aksiller sürgün tekniklerine göre daha yüksek olduğu ve adventif sürgünlerin mutasyon oluşumunda başarılı mutantların üretim aracı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Jerzy ve Lubomski, 1991). Bunun yanında rejenerasyonun bir başka önemli uygulama alanı gen aktarımı çalışmalarıdır. Bu yüzden gerberada rejenerasyon için güvenli bir çalışma protokolü yapılması muhtemel gen

aktarımı çalışmaları için de önemlidir. Önceki çalışmalarda gerberada adventitif sürgünler farklı eksplantlar kullanılarak kallustan rejenera edilmiştir (Kumar ve ark., 2004). Fakat, eksplant kaynağı olarak yaprak orta damarından vejetatif adventif gözler yoluyla çoğaltımı başarılı olmamıştır (Nhut ve ark., 2007). Dahası kallus kültürleri organ rejenerasyonunda tutarsızlık oluşturmuştur. *In vitro* ortamlarda morfogenez, eksplant kaynağının fizyolojik safhası, iç ve dış hormonlar, organik, inorganik içerikli maddeler ve çevresel faktörler (sıcaklık, nem, ortamın ozmotik potansiyeli, gaz fazı ve ışık) gibi birçok faktör tarafından etkilenmektedir (Kozai, 1991). Çiçek tomurcuklarının eksplant olarak kullanıldığı çalışmalarda ise sürgün rejenerasyonu bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Laliberte ve ark., 1985; Radice ve Marconi, 1998; Mohammed, 2006). Fakat gerberanın mikroçoğaltımı konusunda hala bazı sorunlarla karşılaşılmaktadır.

Bu araştırma kapsamında, gerberada yaprak ve yaprak sapı eksplantlarından sürgün regenerasyonu üzerine bazı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak *Gerbera jamesonii* Bolus türüne ait pembe renkli standart tip 'Rosalin' çeşidinin, *in vitro* bitkileri kullanılmıştır. Bu bitkiler, daha önceki bir çalışma kapsamında, kapitulum (çiçek tomurcuğu) eksplantlarından elde edilmiş bitkilerdir.

Yöntem

Doku kültürü çalışmalarının bütün aşamalarında temel besin ortamı olarak Murashige ve Skoog (MS) (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmıştır. Besin ortamına çoğaltma aşamasında büyümeyi düzenleyici maddelerden 1 mg/l BAP+0.1 mg/l IBA ilave edilmiştir. Ortamların PH'ları 5.8'e ayarlandıktan sonra, 30 g/l sakkaroz ve 7g/l agar ilavesinin ardından ısıtılarak agar ve sakkarozu eritilen ortamlar 250 ml'lik erlenmayerler içerisine

50'er ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Daha sonra, besin ortamları 121°C sıcaklık, 1 atm basınç altında 15 dakika süre ile otoklavda steril edilmişlerdir. Bitkiler bu ortamda rejenerasyon çalışmaları için yeterli yaprak ve yaprak sapı eksplantı elde etmek amacıyla 4'er hafta aralıklarla 2 defa alt kültüre alınarak çoğaltılmışlardır.

Yaprak ve yaprak sapı eksplantlarından sürgün rejenerasyonu

In vitro koşullarda çoğaltılan bitkilerden eksplant olarak kullanılmak üzere yaprak sapı ve yapraklar alınmıştır. Yapraklar yaklaşık 1 cm çapında ve yaprak sapları 1 cm uzunluğunda hazırlandıktan sonra benzil aminopürinin 3 dozu (1.0, 2.0, ve 3.0mg/L) ya da thidiazuronun 3 dozunun (0.3, 0.6, 1.2mg/L) gümüş nitratın 3 dozu (0, 1 ve 2 mg/L) ile oluşturduğu 18 farklı kombinasyonu (Çizelge 1) içeren MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır (Şekil 1A,B). Araştırmada besin ortamlarının hepsine 0.1 mg/l NAA, 20 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 5.8 ayarlanmıştır. Besin ortamları 121 °C sıcaklık ve 1 atm basınç altında 15 dakika süre ile otoklavda steril edildikten sonra, steril kabin içerisinde 100x15 mm boyutlarındaki petri kaplarına 35'er ml olacak şekilde dağıtılmışlardır.

Bu ortamlara dikilen yaprak ve yaprak sapı eksplantları sıcaklığı 25°C, ışık şiddeti 150PAR olarak ayarlanmış ve 16 saat aydınlık koşullara sahip iklim odasında 4'er hafta aralıklarla 2 defa alt kültüre alınmıştır. 2. alt kültürün sonunda uygulamalara göre rejenerasyon oranları (%), eksplant başına düşen sürgün sayısı (adet), eksplant başına yaprak sayısı (adet) ve kallus oluşum durumları belirlenmiştir. Kallus büyüklükleri 2 farklı yerden kallus çaplarının ölçülerek ortalamalarının alınmasıyla belirlenmiştir.

Verilerin değerlendirilmesi

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde planlanmıştır. Elde edilen veriler Minitab paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli çıkan ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey testine göre % 5 hata sınırı

esas alınarak saptanmış ve harfler yardımıyla belirlenmiştir. Varyans analizlerinde % değerlerin açığı değeri karşılıkları kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Araştırmada Rosalin gerbera çeşidinde yaprak ve yaprak sapı eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu üzerine sitokinin (TDZ ve BAP) ve gümüş nitrat uygulamalarının etkileri belirlenmiştir. Eksplant olarak yaprak parçaları kullanıldığında hiçbir uygulamada sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Kallus oluşumu bakımından değerlendirildiğinde ise uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farkların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1).

Genel olarak TDZ ilave edilmiş ortamlarda BAP ilave edilmiş ortamlara göre daha fazla kallus oluşumu gözlenmiştir (Şekil 1C,D). En büyük kallus oluşumu (1.89 cm) 0.6 mg/l TDZ ilave edilmiş MS ortamında kültüre alınan yaprak eksplantlarından elde edilmiştir. En küçük kallus oluşumu (1.28 cm) ise 3.0 mg/l BAP ilave edilmiş ortamlarda tespit edilmiştir. Jun ve ark. (2009) tarafından yapılan bir araştırmada 'Sunanda' gerbera çeşidinde en fazla kallus oluşumunun bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, 0.3 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA içeren MS ortamında görüldüğü belirtilmiştir. Bununla birlikte gerberanın yaprak eksplantlarından kallus oluşumu bakımından 5.0 mg/l BAP + 0.25 mg/l IAA içeren MS ortamı (Kalra ve ark., 2008) ve 1.0 mg/l 2,4-D ile desteklenmiş MS ortamının (Rajput ve ark., 2011) da etkili olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmalardan da anlaşılabileceği gibi gerberada kallus oluşumu bakımından genotip ve kullanılan besin ortamına göre farklı sonuçların elde edilebileceği görülmektedir.

Çalışmada gümüş nitrat uygulamalarının kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Çizelge 1). Daha önce yapılan birçok çalışmada gümüş nitrat uygulamalarının özellikle adventif sürgün oluşumu üzerine etkili olduğu bildirilmektedir. San ve ark., (2015) tarafından yapılan bir araştırmada şeftalide

yapraktan sürgün rejenerasyonu üzerine gümüş thiosülfat uygulamasının etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak besin ortamına

AgNO₃ ilave edilmesinin gerberada yaprak eksplantlarından sürgün regenerasyonunu etkilemediği tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Rosalin gerbera çeşidinin yaprak eksplantlarından kallus oluşumu

Table 1. Callus regeneration from leaves of gerbera cultivar 'Rosalin'

	Uygulamalar / Applications*			Kallus büyüklüğü Callus diameter (cm)
	TDZ (mg/l)	BAP (mg/l)	AgNO ₃ (mg/l)	
1	0.3	-	-	1.70 ab**
2	0.3	-	1.0	1.75 ab
3	0.3	-	2.0	1.71 ab
4	0.6	-	-	1.89 a
5	0.6	-	1.0	1.68 abc
6	0.6	-	2.0	1.70 ab
7	1.2	-	-	1.54 bcd
8	1.2	-	1.0	1.70 ab
9	1.2	-	2.0	1.65 bcd
10	-	1.0	-	1.65 bcd
11	-	1.0	1.0	1.65 bcd
12	-	1.0	2.0	1.65 bcd
13	-	2.0	-	1.45 cde
14	-	2.0	1.0	1.63 bcd
15	-	2.0	2.0	1.57 bcd
16	-	3.0	-	1.28 e
17	-	3.0	1.0	1.43 de
18	-	3.0	2.0	1.46 cde

*Tüm ortamlara 0.1 mg/l NAA ilave edilmiştir. (0.1 mg/l NAA was added in to all media).

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

**Any two mean values within columns with different letter are significantly different by Tukey test (P<0.05)

Araştırmada yaprak sapı eksplantlarından kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu üzerine büyümeyi düzenleyici madde uygulamalarının etkileri Çizelge 2'de verilmiştir. Kallus oluşumu bakımından TDZ uygulamalarının BAP uygulamalarına göre nispeten daha etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 1E,F; Çizelge 2). En yüksek kallus oluşumları 0.3 mg/l TDZ+0.1 mg/l NAA (1.77cm) yada 1.2 mg/l TDZ+1.0 mg/l AgNO₃+0.1 mg/l NAA (1.76cm) içeren MS ortamlarında tespit edilmiştir. Yaprak sapı eksplantlarından sürgün oluşumu bakımından ise BAP ilave edilmiş ortamlar TDZ ilave edilmiş ortamlara göre daha başarılı sonuçlar vermiştir (Şekil 1G,H,I). Eksplantlar üzerinde önce kallus oluşumunun daha sonra kalluslardan sürgün rejenerasyonunun meydana geldiği gözlenmiştir. Çalışmada en yüksek sürgün oluşumu (%22.2) 3 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA ilave edilen MS ortamından elde edilmiştir. 1 ve 2 mg/l BAP ilave edilmiş ortamların hepsinde %11.07 ile %16.63 arasında sürgün oluşumu sağlanmıştır.

Çalışmada TDZ uygulamalarından ise sadece 0.3 mg/l ve 1.2 mg/l TDZ ilave edilmiş ortamlarda sırasıyla %4.77 ve %12.5 oranlarında (Şekil 1G) sürgün oluşumu gerçekleşmiştir. Diğer TDZ uygulamalarında sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Jun ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA içeren MS ortamında en yüksek sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Yine başka bir çalışmada 1.0 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında elde edilen kalluslardan 1.0 yada 1.5 mg/l BAP ilave edilmiş MS ortamlarında sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır (Rajput ve ark., 2011). Gerberada BAP ilave edilmiş ortamlarda Kinetin ilave edilmiş ortamlara göre daha yüksek sürgün rejenerasyonu sağlandığı Shabbir ve ark. (2012) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar en yüksek sürgün rejenerasyonunun 3mg/l BAP ilave edilmiş ortamlarda gerçekleştiğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte, Purnima ve Kothari (2004) tarafından yapılan bir araştırmada

gerberanın çiçek tomurcukları eksplant olarak kullanıldığında 2.0 mg/l Kin + 0.5 mg/l PAA (fenil asetik asit) ilave edilmiş ortamların daha etkili olduğu bildirilmektedir. Önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, gerberada başarılı bir rejenerasyon için genotip, kullanılan eksplant tipi ve besin ortamının da etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda AgNO₃ uygulamalarının sürgün oluşumunu artırıcı etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, TDZ ile birlikte kullanılan AgNO₃ uygulamalarının sürgün oluşumunu engellemiş olabileceği sonucu da çıkarılabilir. AgNO₃ uygulamalarının ayva, kiraz, hünnap, erik ve kayısı türlerinde in vitro rejenerasyon üzerine oldukça etkili olduğu bildirilmektedir (Aygün ve Dumanoglu, 2007; Liu ve Pijut 2008; Feng ve ark., 2010; Petri ve Scorza 2010; Wang ve ark., 2011). Besin ortamına AgNO₃ ilave edilmesinin etilen biyosentesini engelleyerek

rejenerasyonu teşvik ettiği bildirilmiştir (Beyer 1979). Ancak gerberada AgNO₃ uygulamasının bu etkisi görülmemiştir.

Çalışmada sürgün sayısı bakımından uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar elde edilmiştir. En yüksek sürgün sayısı (2.83) 1mg/l BAP+0.1 mg/l NAA uygulamasından elde edilmiş olmakla birlikte, 2 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA, 3 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP+2mg/l AgNO₃+0.1 mg/l NAA uygulamalarından elde edilen sonuçlarla arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Shabbir ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada 3 mg/l BAP uygulamasında eksplant başına 4 adet sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Benzer şekilde Purnima ve Kothari (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, 2.0 mg/l Kin+0.5 mg/l PAA uygulamasında eksplant başına 5-8 adet sürgün gözü elde edilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen sürgün sayısı bizim çalışmamızdan oldukça yüksek bulunmuştur.

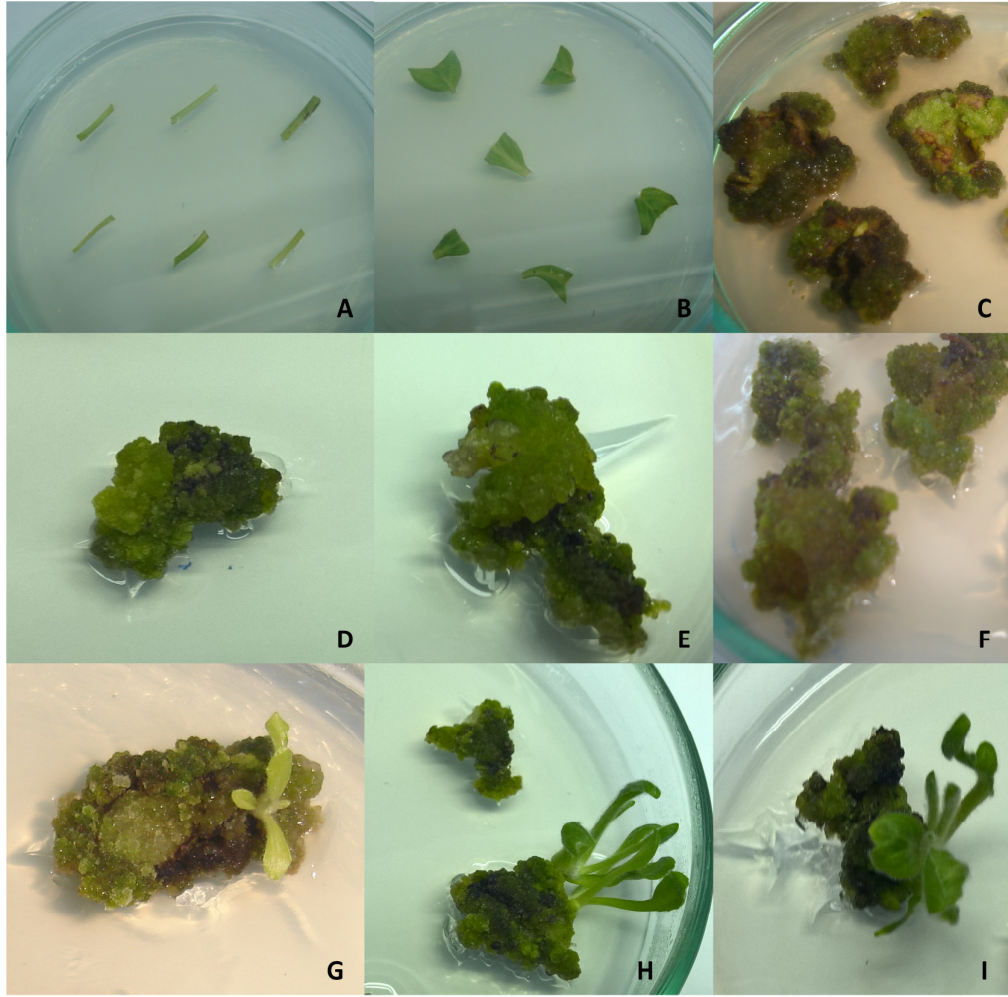
Çizelge 2. Rosalin gerbera çeşidinin yaprak sapı eksplantlarından kallus ve sürgün oluşumu
Table 2. Callus and shoot regeneration from petioles of gerbera cultivar 'Rosalin'

Uygulamalar / Applications*			Kallus büyüklüğü <i>Callus diameter</i> (cm)	Rejenerasyon oranı <i>Regeneration</i> rate (%)	Sürgün Sayısı (adet) <i>Shoot number</i>	Yaprak sayısı (adet) <i>Leaf number</i>
TDZ (mg/l)	BAP (mg/l)	AgNO ₃ (mg/l)				
1	0.3	-	1.77 a**	4.77 bc	0.33 cd	0.33 bc
2	0.3	-	1.48 bcd	0.0 c	0.0 d	0.0 c
3	0.3	-	1.55 abc	0.0 c	0.0 d	0.0 c
4	0.6	-	1.70 ab	0.0 c	0.0 d	0.0 c
5	0.6	-	1.66 ab	0.0 c	0.0 d	0.0 c
6	0.6	-	1.50 bcd	0.0 c	0.0 d	0.0 c
7	1.2	-	1.60 abc	12.5 abc	0.75 bcd	1.50 abc
8	1.2	-	1.76 a	0.0 c	0.0 d	0.0 c
9	1.2	-	1.68 ab	0.0 c	0.0 d	0.0 c
10	-	1.0	1.63 ab	16.63 ab	2.83 a	2.33 ab
11	-	1.0	1.57 abc	11.07 abc	1.00 bcd	2.00 abc
12	-	1.0	1.68 ab	16.63 ab	0.67 bcd	1.67 abc
13	-	2.0	1.58 abc	16.60 ab	1.67 abc	2.33 ab
14	-	2.0	1.57 abc	16.63 ab	1.17 bcd	2.00 abc
15	-	2.0	1.49 bcd	16.63 ab	1.50 abcd	1.33 abc
16	-	3.0	1.31 de	22.20 a	2.00 ab	3.33 a
17	-	3.0	1.40 cde	0.0 c	0.0 d	0.0 c
18	-	3.0	1.25 e	0.0 c	0.0 d	0.0 c

*Tüm ortamlara 0.1 mg/l NAA ilave edilmiştir. (0.1 mg/l NAA was added in to all media).

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistik olarak önemlidir (p<0.05).

***Any two mean values within columns with different letter are significantly different by Tukey test (P<0.05).



Şekil 1. Rosalin gerbera çeşidinin yaprak ve yaprak sapından kallus ve sürgün regenerasyonu. **A;** Kültüre alınan yaprak sapı eksplantları, **B;** Kültüre alınan yaprak eksplantları, **C;** BAP içeren MS ortamlarında yaprakattan kallus oluşumu, **D;** TDZ içeren MS ortamlarında yaprakattan kallus oluşumu, **E;** BAP içeren MS ortamlarında yaprak sapından kallus oluşumu, **F;** TDZ içeren MS ortamlarında yaprak sapından kallus oluşumu, **G;** 1.2 mg/l TDZ+0.1 mg/l NAA içeren MS ortamında yaprak sapından sürgün oluşumu, **H;** 3 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA içeren MS ortamında yaprak sapından sürgün oluşumu, **I;** 2 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA içeren MS ortamında yaprak sapından sürgün oluşumu.

Figure 1. Callus and shoot regeneration from leaf and petiol eksplants of gerbera cultivar 'Rosalin' **A;** Cultured petiol explants, **B;** cultured leaf explants, **C;** Callus regeneration from leaf explants on MS medium containing BAP, **D;** Callus regeneration from leaf explants on MS medium containing TDZ, **E;** Callus regeneration from petiol explants on MS medium containing BAP, **F;** Callus regeneration from petiol explants on MS medium containing TDZ, **G;** Shoot regeneration from petiol explants on MS medium containing 1.2 mg/l TDZ+0.1 mg/l NAA, **H;** Shoot regeneration from petiol explants on MS medium containing 3 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA, **I;** Shoot regeneration from petiol explants on MS medium containing 2 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA.

Bu farklılıkların genotip farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim gerberanın mikroçoğatımında genotipin önemli etkisinin olduğu

Shabanpour ve ark. (2011) tarafından bildirilmektedir.

Yaprak sayısı bakımından değerlendirildiğinde uygulamalara göre dikkate değer önemli farklılıkların olmadığı

belirlenmiştir. Çalışmada sürgün oluşumunun görüldüğü uygulamalarda yaprak sayıları 0.33 ile 3.33 arasında değişmiştir. En yüksek yaprak sayısı 3.0 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA ilave edilmiş besin ortamında tespit edilmiştir.

Sonuç olarak gerberada sürgün rejenerasyonu amacıyla yaprak sapı eksplantlarının yapraklara göre daha başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Yine yaprak sapları eksplant olarak kullanıldığında BAP uygulamalarının TDZ uygulamalarına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu bakımdan Rosalin gerbera çeşidinde etkili bir adventif sürgün rejenerasyonu için 3 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamının en başarılı uygulama olduğu belirlenmiştir.

Teşekkür

Bu araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 4184-YL1-14 no'lu yüksek lisans projesi kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Aygün, A., Dumanoglu, H. 2007. Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesi. Tarım Bilimleri Dergisi, 13 (1): 54-61.

Beyer, E.M. 1979. Effect of Silver Ion, Carbon Dioxide and Oxygen on Ethylene Action and Metabolism. Plant Physiol, 63: 169-173.

Chu, C. Y., Huang, M. C. 1983, *In vitro* Formation Gerbera Plantlets Through Excised Scape Culture. J. Japan, Soc. Hort. Sci., 52: 45-50.

Das, P., Singh, S.P.K. 1989. Gerbera. Commercial Flowers. Editors: T.K. Bose and L.P. Yadav, pages, 601-622, Naya Prokash, Calcutta.

Feng, J.C., Yu, X.M., Shang, X.L., Li, J.D., Wu, Y.X. 2010. Factors Influencing Efficiency of Shoot Regeneration in *Ziziphus jujuba* Mill. 'Huizao'. Plant Cell Tissue Organ Cult 101: 111-117.

Jerzy, M., Lubomski, M. 1991. Adventitious Shoot Formation on *ex vitro* Derived Leaf Explants of *Gerbera jamesonii*. Scientia Horticulturae, 47: 115-124.

Jun, Z., Mei, Z., SongJun, Z., Kunlin, W., Zhilin, C. 2009. Studies on Regeneration System from Petiole of *Gerbera jamesonii* Bolus 'Sunanda' *in vitro*. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 17(3): 254-260.

Kalra, M., Sehrawat, S. K., Batra, P., Kumar, S., Dahiya, D. S., Gupta, A. K. 2008. Micropropagation Studies in Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). Haryana Journal of Horticultural Sciences, 37: 78-79.

Kozai, T. 1991. Micropropagation under Photoautotrophic Conditions. *In vitro* Propagation Technology and Applications, p., 447-470 (Editors: P.C. Debergh and R.H. Zimmerman), Kluwer Academic Publisher, 574, Dordrecht.

Kumar, S., Kanwar, J.K. 2007. Plant Regeneration from Cell Suspensions in *Gerbera jamesonii* Bolus. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 15: 157-166.

Kumar, S., Kanwar, S.K., Sharma, D.R. 2004. *In vitro* Regeneration of *Gerbera jamesonii* from Leaf and Petiole Explant. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 13: 73-75.

Laliberte, S., Chretien, L., Vieth, J. 1985. *In vitro* Plantlet Production from Young Capitulum Explants of *Gerbera jamesonii*. HortScience, 20: 137-139.

Liu, X., Pijut, P.M. 2008. Plant Regeneration from *in vitro* Leaves of Mature Black Cherry (*Prunus serotina*). Plant Cell Tissue Organ Cult., 94: 113-123.

Mohammed, S.A. 2006. Gerberanın (*Gerbera jamesonii* Bolus) Doku Kültürü ile Çoğaltımının Optimizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi. İzmir.

Murashige, T., Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Cultures. Plant Physiology, 15: 473-497.

- Nhut, D.T., An, T.T.T., Huong, N.T.D., Don, N.T., Hai, N.T., Thein, N.Q., Vu, N.H. 2007. Effect of Genotype, Explant Size, Position and Culture Medium on Shoot Regeneration of *Gerbera jamesonii* by Receptacle Transverse Thin Cell Layer Culture. *Scientia Horticulturae*, 111: 146-151.
- Özzambak, E. 2002, Ornamental Plant Production in Turkey. Regional Expert Meeting on Flowers for the Future. Ed. Y. Tüzel and E. Özzambak p. 85-97. 8-10 October Turkey.
- Petri, C., Scorza, R. 2010. Factors Affecting Adventitious Regeneration from in vitro Leaf Explants of 'Improved French' Plum, the Most Important Dried Plum Cultivar in the USA. *Ann Appl Biol*, 156: 79-89.
- Purnima, T., Kothari, S. L. 2004. Rapid in vitro Regeneration of *Gerbera jamesonii* (H. Bolus ex Hook. f.) from Different Explants. *Indian Journal of Biotechnology*, 3(4): 584-588.
- Radice, S., Marconi P. L. 1998. Micropropagation from in vitro Capitulum Culture of Several *Gerbera jamesonii* Cultivars. *Rev. Fac. Argon.*, La plata 103 (2): 111-118.
- Rajput, H.J., Jadhav, S.B.; Katwate, S.M. 2011. Effect of Growth Regulators on Callus Initiation and Plantlet Regeneration from Leaf Explants in *Gerbera jamesonii* Bolus. *Advances in Plant Sciences*, 24(1): 21-24.
- Rogers, M.N., Tjia, B.O. 1990. *Gerbera* Production for Cut Flowers and Pot Plants. Timber Press, INC., Portland, Oregon. p 115.
- San, B., Li, ZG., Hu, Q., Reighard, G.L., Luo, H. 2015. Adventitious Shoot Regeneration from in vitro Cultured Leaf Explants of Peach Rootstock Guardian is Significantly Enhanced by Silver Thiosulfate. *Plant Cell Tiss Organ Cult* ., 120: 757-765.
- Shabanpour, K., Sharifi, A., Bagheri, A. and Moshtaghi, N. 2011. Effect of Genotypes and Culture Medium on Shoot Regeneration and Proliferation of *Gerbera jamesonii*. *African Journal of Biotechnology*, 10(57): 12211-12217.
- Shabbir, K., Ahmad, T., Hafiz, I.A., Hussain, A., Abbasi, N.A., Ahmad J. 2012. In vitro Regeneration of *Gerbera jamesonii* cv. Sunglow. *African Journal of Biotechnology*, 11(42): 9975-9984.
- Sulusoglu, M., Cavusoglu, A. 2013. Micropropagation of Cherry Laurel *Prunus laurocerasus* L. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11 (1): 576-579.
- Topoonyanont, N., Debergh, P.C. 2001. Reducing Bushiness in Micropropagated *Gerbera*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 67: 133-144.
- Wang, H., Albuquerque, N., Burgos, L., Petri C. 2011. Adventitious Shoot Regeneration from Hypocotyl Slices of Mature Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Seeds: A Feasible Alternative for Apricot Genetic Engineering. *Scientia Horticulturae*, 128: 457-464.