



Safran (*Crocus sativus* L.)'ın Farklı Eksplantlarından In vitro Koşullarda Bitki Çoğaltımı Hakkında Derleme ve Beklentiler

Kiarash Afshar Pour REZAEİEH^{1*} Parizad VAZİRİ²

¹Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniv. Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

*Sorumlu Yazar

e-posta: febspark7@gamil.com

Geliş Tarihi: 1 Şubat 2012

Kabul Tarihi: 11 Mayıs 2012

Özet

Safran dünyanın en pahalı baharatı, bir sonbahar-çiçek açan, triploid erkek-kısır ve vegetatif olarak çoğaltılan bir bitkidir. Düşük çoğaltma oranı ve fungal bulaşmasından verimlilik ve kalite düşer dolayısıyla, bitki materyali sınırlamaktadır. Bu yüzden, organogenesis ve kormogenesis metotlarla safranın mikroçoğaltımı, bitkinin büyük ölçekli üretim, hastaliksız soğanlar üretimi için atraktif bir araçtır. Ayrıca, safranın sekonder maddelerin biyokimyasal sentezinin öğrenmesine yönünde kolaylık sağlar. Bitkinin üreme yeteneği genotip, explant, kültür başlatma süresi ve kültür ortamının bileşenlerine bağlıdır. Oksin tipi hormonların bitki ortamın substratının düzenlemesine ve bunun aksine düşük miktarda sitokininler ters etkilere neden olmaları belirmektedir. Buna ek olarak, özellikle zeatin ve 2,4-D ile katılmış ortam sürgün oluşumu için in vitro koşullarında gereklidir. Uç meristemlerin etilen ve etafon, ardından mikrocerrahi ile muamelesi, sırasıyla kormogenic nodüller ve soğanların üremesini arttırmıştır. Bunun yanında, etilen ve etafon ile ön uygulamalar soğan üretimini artırırken yaprak oluşumunu engellemiştir. Tohumluk eksplantlardan elde edilen harici sürgünler denemelerinde NAA ve BA ile tamamlanan MS ortamı, bir tohumluk için en yüksek oluşan sürgün sayısını sağladı. Genel olarak, en iyi sürgün gelişmesi, yaprak sayısı ve uzunluğu açısından 0.54 µM NAA ve 2.22 µM BA ortamından elde edilmiştir. Denenen segmentlerin olgunlaşma ve çimlenme aşamalarının optimizasyonu yönünde tamamlayıcı çalışmalar yapılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Safran (*Crocus sativus* L.), In vitro mikroçoğaltım, Organogenez

Enhanced Plantlet Induction from Cultured Segments of Saffron (*Crocus sativus* L.) through In vitro Micropropagation: Background and Prospects

Abstract

Saffron, the costliest spice of the world, is an autumn-flowering, triploid male-sterile plant propagated vegetatively by means of corms. Low multiplication rates and fungal infestation of corms reduce the productivity and quality, thereby restraining the availability of planting material. Hence, in vitro propagation through organogenesis and/or cormogenesis is an attractive means of large-scale production of disease-free cormlets and also a tool to facilitate a better understanding of the bio-chemical synthesis of Saffron secondary products as well. Proliferation ability is dependant on genotype, explants, culture initiation time and composition of the culture medium. It has been found that a high level of auxin-type growth regulating substances favored cell cultures of the crop, while low levels of cytokinin may have diverse effects. Moreover, the medium solidified with cytokinins, particularly zeatin and the auxin 2,4-D are essential for regular bud in vitro development. Microsurgery of apical buds followed by ethylene or ethaphon treatment increased the cormogenic nodules and corm production, respectively. On the other hand, ethylene and ethaphon pretreatments, though affecting corm production positively, inhibit leaf development. In the studies of direct adventitious shoot regeneration from ovary explants, full strength MS medium supplemented with NAA and BA produced the best response towards callogenesis with highest shoot number per ovary. on the whole, the idealist induction toward shoot growth both in terms of leaf length and number, is on the medium with 0.54 µM NAA and 2.22 µM BA. Complementary studies are in progress to optimize maturation and germination stages of mentioned segments.

Keywords: Saffron (*Crocus sativus* L.), In vitro micropropagation, organogenesis

GİRİŞ

Dünya üzerinde 750.000 ile 1.000.000 arasında değişen bitki türünün bulunduğu tahmin edilmektedir. Bugüne kadar bunun yaklaşık olarak 500.000 kadarı teşhis edilip isimlendirilmiştir. Günümüzde; doğadan

bilinçsizce yapılan sürekli ve yoğun toplama sonucu; bitkilerin doğal floradaki nesli giderek azalmakta, birçoğu kaybolma noktasına yaklaşmış ve bazıları da kaybolmaya yüz tutmuştur. Kayıplar; özellikle soğan, kök, rizom, yumru ve çiçekleri drog ve baharat olarak kullanılan bitkilerde kendini daha çok hissettirmektedir

[1, 2, 3]. Türkiye'nin yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olan bitkilerinden biri de safrandır. Tür, gıda, boya, kozmetik ve ilaç sanayinde kullanılmakta ve kanser tedavisinde umut vaat ettiğinden dünyanın en pahalı baharatlarından biri olma özelliğini taşımaktadır. Nitekim safranın gramı, altına eşdeğerdir ve kilosu uluslararası pazarda 13000 dolar civarındadır. Safran Hititlerden itibaren Anadolu'da bilinen, Osmanlılar döneminde ise yurt dışına ihraç edilen bir bitkidir. Ancak, günümüzde ekimi ve üretimi çok gerilemiştir. Safran kültürü, bugün Safranbolu'nun sadece altı köyünde yapılmaktadır ve üretimi yetersizdir. Bu çalışmada, doğrudan ve dolaylı organ gelişimi metodları kullanılarak safran bitkisinin in vitro koşullarda üretimi hedeflenmiştir.

Soğanlı Bitkiler: Toprak altı organları metamorfoza uğramış gövde yapısında olup hayatlarının büyük kısmını bu organlarıyla sürdürürler ve "geofit" olarak adlandırılırlar. Soğanlı bitkiler ağırlıklı olarak monokotiledon bitkiler arasında yer almaktadır. Ülkemizde yaklaşık olarak 600 geofit bulunduğu tahmin edilmektedir.

Safran (*Crocus sativus* L.)'ın Önem ve Özellikleri: *Crocus sativus*'un kormuslarının 2-4 cm çapında, ipliksi ve ağsı bir kabukla sarılı olduğunu, bitkinin 30 cm boya eriştiğini ve 5-11 yaprak oluşturduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, bitkinin sonbaharda (Ekim Kasım) çiçek açıp, koyu turuncu kırmızı renkli stigmasının 2.5-3.2 cm olduğunu, % 0.3-0.8 uçucu yağ, %5.8 sabit yağ, % 12-13 protitler ve % 11-12 nişasta ve glikozit içerdiğini belirtmektedir. Ayrıca, safrana kendine özgü rengi veren boyar maddesinin crocisin olduğunu, bununda gıda maddelerini renklendirmede, baharat, koku ve tat verici olarak kullanıldığını belirtmektedir. Daha çok İtalya, İspanya, Yunanistan, Fas, Mısır, İsrail, Türkiye gibi Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde ve Japonya, Çin, Hindistan, Pakistan, İran ve Azerbaycan'da kültürü yapılan çok yıllık otsu bir bitkidir [4]. Safranın 60'ın üzerinde taksonu bulunmaktadır [5]. Dünyanın en pahalı baharatlarından birisi olan safran, cinsin ekonomik değere sahip tek türü olan *Crocus sativus*'tan üretilmektedir. Safran çok eskiden beri yetiştirilen önemli bir ilaç, baharat ve boya bitkisidir. Kullanım alanları; boya sanayi, kozmetik sanayi, ilaç sanayi ve gıda sanayi olmak üzere dört ana başlık altında toplanabilir. Bu alanlardan gıda ve ilaç endüstrisinde çok geniş kullanım alanına sahiptir. İştahsızlık, bronşit, boğmaca, hazımsızlık, uykusuzluk, iktidarsızlık, gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır. Humma, kızamık ve dalak büyümesine karşı kullanılan ilaçlarda yer almaktadır [6]. Özellikle, kanser araştırmalarında, bazı kanser türlerine karşı potansiyel bir kanser önleyici olduğu için, geniş çapta denemelerde kullanılan bir madde durumundadır [7, 8].

Safran Bitkisinin Üretim Problemleri: Korm çoğaltım oranı düşük olması, Fungus, bakteri ve virus

hastalıklarından dolayı üretim ve kalite düşmesi ve İran, İspanya, ve bir çok ülkede üretim olmasına rağmen çeşit olmaması safran bitkisinin üretiminde karşılaşılan en önemli problemlerdendir.

Safran da Yapılan *In Vitro* Hızlı Çoğaltım Çalışmaları:

Çalışmalarda safranın in vitro koşullarda üretimi için 2,4-D ve BAP büyüme düzenleyicilerinin etkileri test edilmiştir. Örneğin 0,25 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L BAP kombinasyonunun dolaylı organ gelişimi için, 1 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L BAP uygulamasının ise doğrudan organ gelişimi için uygun olduğu anlaşılmıştır. Doğrudan organ gelişiminin iyileştirilmesi çalışmalarında, 2,4-D bileşeninin besiyerlerinden çıkarılması ve sadece BAP (1 mg/L) içermesi sürgün gelişimini arttırmıştır. Korm ve kök oluşumu üzerinde, NAA ve BAP büyüme düzenleyicilerinin değişik kombinasyonlarının etkileri araştırılmıştır. Bu uygulamalarla az sayıda korm oluşumu gerçekleşirken, köklenme meydana gelmemiştir. Sonraki deneylerde kullanılan 1 mg/L IBA ve vii %5 şeker içeren büyüme ortamı kontraktıl kök oluşumunda ve korm sayısının arttırılmasında oldukça etkili olmuştur [9]. Sonuç olarak, toplam başarı kontraktıl kök oluşumu için %59.26, korm oluşumu için %35.19 ve sürgün oluşumu için %100 şeklinde hesaplanmıştır.

Safran Doku Kültüründe Etkenler: Genel olarak, geofit bitkilerle yapılacak in vitro çalışmalara başlamadan önce materyal olarak kullanılacak soğanların topraktan söküldükten sonra 4-6 hafta boyunca karanlık ve nemsiz bir yerde bekletilmeleri gerekmektedir. Bu sürede soğanların içindeki enzimatik faaliyetler azalmakta ve eksplant olarak kullanılabilir duruma gelmektedir. Bitkinin ekotipi, oksin veya sitokininin olması, kültür ortamının içerikler, eksplantın kültüre alma zamanı, kültür koşulları sıcaklık, ışık vb tomurcuk oluşumuna katkı sağlamaktadır. Ayrıca, eksplant seçimi, ortamlar, hormonlar, katılaştırıcılar, sterilizasyon, eksplantlar, kültür koşulları ve adaptasyon önemli faktörlerdendir.

In vitro çalışmalar steril koşullarda yapılmaktadır, geofitler ise yaşamlarını toprak altında bakteri ve diğer hastalık etmenleriyle birlikte sürdürmektedirler. Geofitlerin bu özelliği in vitro çalışmalardaki en önemli problemi oluşturmaktadır. Bazı bitkiler yapılan tüm yüzey sterilizasyonu çalışmalarına rağmen bulaşık olabilmektedir [10]. Bu bulaşıklığın endojen kaynaklı olduğu düşünülmektedir. *In vitro*' da, çamaşır suyu ve alkol gibi kimyasalların değişik konsantrasyonları ve uygulama süreleri, farklı sıcaklık, bakterisit ve fungusit uygulamaları sterilizasyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Uygulanacak sterilizasyon yöntemi in vitro koşullarda kullanılacak bitki kısımlarına bağlıdır. Örneğin yapraklarda %20' lik çamaşır suyu yeterli iken soğanlarda bu oran %80' lere çıkmaktadır [11].

Besin Ortamı: *In vitro* da değişik besi ortamları kullanılmaktadır. MS, N6, B5, LS ve Orchimax ve

Nitch mineral tuzları ve vitaminleri kullanılan ortamlardandır. Soğan ve yumruların kültüründe daha çok MS [12] besi ortamı kullanılırken, olgunlaşmamış embriyoların kültüründe N6 [13] besi ortamı kullanılmaktadır. Yapılan kültür çalışmaları tamamen kontrollü koşullarda olduğu için besi ortamının tüm makro ve mikro elementler ile vitaminleri içermesi gerekmektedir. Aksi takdirde fiçi kanunu ilkelerine göre ancak eksik olan element kadar diğer elementlerden kullanılabilecek olan eksplanttan rejenerasyon mümkün olmayacaktır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Geleneksel üretim yöntemleri; bu bitkinin olan ihtiyaca tam olarak karşılık verememektedir. Mikroçoğaltım yöntemleriyle hızlı üretim yapılabilmektedir. Bu yöntemler kullanılarak doğal üretim yöntemlerine alternatif bir üretim biçimi geliştirilebilir. Son yıllarda mikroçoğaltımın ticari kullanımı artıca; yüksek üretim maliyetlerinin azaltılmasını sağlamak ve kaliteli bitki elde etmek amacıyla fiziksel, kimyasal ve biyolojik çevre koşullarının kontrolü daha da önem kazanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Özgüven M., 1980. Bitkisel İlaç Hammaddeleri ve Türkiye'nin Tıbbi Bitkiler Yönünden Durumu. Bilim ve Teknik. 148:44-45.
- [2] Özgüven, M., 1999. Ekonomik Önemi Olan Bazı Uçucu Yağ Bitkilerinin Çukurova Bölgesinde Surveyi ve Tanımlanması. Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi. Cilt (II): 201-206, Adana
- [3] Koç H., 2001. Yumrulu-Soğanlı ve Kokulu Bitkiler. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 48:180-186.
- [4] Allahvediev S., Vurdu H., Zeynalova E., Vurdu N., Rasulova D., 1997. "The Culture of Saffron (*Crocus*

sativus L) in Vitro", First Balkan Botanical Congress, Thessaloniki, Greece.

[5] Davis P.H., Güner A., Özhatay N., Ekim T., Başer K.H., 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Volume: 11, University of Edinburgh, Edinburgh.

[6] Özel A., Eeden K., 2005. Harran Ovası Koşullarında Yerli ve İran Safranı (*Crocus sativus* L.)'nın Verim ve Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa, 793-798.

[7] Fıkrat I.A., 2002. "Cancer Chemopreventive and Tumorocidal Properties of Saffron (*Crocus sativus* L.)", Experiment Biology and Medicine. 20-25.

[8] Mcgimpsey J.A. Douglas M.H., 1997. "Evulation of Saffron (*Crocus sativus* L.) Production in New Zealand", New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 25:159-168.

[9] Yıldırım E., 2007. Safran Bitkisinde (*Crocus Sativus* L.) İn vitro Koşullarda Mikroüretim Tekniklerinin Geliştirilmesi. Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü, Orta Doğu Teknik Üniversitesi.76.

[10] Karaoğlu C., Çöçü S., İpek A., Parmaksız İ., Uranbey S., Sarıhan E.O., Arslan N., Kaya M.D., Sancak C., Özcan S., Gürbüz B., Mirici S., Er C., Khawar K.M., 2006. In vitro Micropropagation of Saffron. Proceedings of The IInd International Symposium on Saffron Biology and Technology, Acta Horticulture, Number 739: 223-227.

[11] Karaoğlu C., 2010. Soğanlı Bitkiler ve İn Vitro Hızlı Çoğaltım. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 19 (1-2): 24-29

[12] Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

[13] Chu C.C., Wang C.C., Sun C.S., 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *science singapore.* 18: 659-668