

DEĞİŞİK ÇİLEK ÇEŞİTLERİNDE FARKLI OKSİN TİPLERİ İLE AKTİF KÖMÜR DÜZEYLERİNİN DIŞ KOŞULLARA ADAPTASYON AŞAMASINDA BİTKİ BÜYÜME VE GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Nafiye ADAK*¹ Mustafa PEKMEZCİ² (Emekli öğretim üyesi)

¹ Akdeniz Üniversitesi Elmalı Meslek Yüksekokulu Seracılık Programı Elmalı, Antalya

² Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

*e-mail: nafieyadak@akdeniz.edu.tr

Geliş Tarihi: 16.09.2010

Kabul Tarihi: 24.03.2011

ÖZET: Bu çalışmada, meristem kültürüyle çoğaltılan Camarosa, Chandler ve Oso Grande çilek çeşitlerinde, köklendirme ortamlarında kullanılan değişik kimyasalların aklimatizasyon aşamasındaki bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Denemede köklenme aşamasında aktif kömürün yanı sıra (1.0, 2.5 ve 5.0 g L⁻¹), IBA (0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹) ve NAA (0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹) hormonları kullanılmıştır.

Araştırma sonucunda, denenen her üç çilek çeşidinde de, köklenme aşamasında aktif kömür kullanımının aklimatizasyon aşamasında bitki büyüme ve gelişmeyi olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir. Oysa NAA ve IBA hormonlarının kullanımı, bitki büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilemiştir. Ayrıca NAA ve IBA konsantrasyonları arasında da gelişme bakımından farklılık görülmüş olup, yüksek konsantrasyonda (0.4 mg L⁻¹) oksin kullanımı aklimatizasyon aşamasındaki gelişmeyi daha da azaltmıştır. Araştırmada, denenen her üç aktif kömür konsantrasyonu ile aklimatizasyon aşamasında herhangi bir sorunla karşılaşılması. Aktif kömür ortamında köklendirilen bitkilerde, toprağa transferden araziye dikim aşamasına getirilen bitkilerde yaşama oranı çok yüksek belirlenmiş olup, herhangi bir kayıpla karşılaşılması. Oysaki IBA ve NAA içeren ortamlarda köklendirilen bitkilerde araziye transfer aşamasında yaşama oranı çok düşük düzeyde gerçekleşmiş olup, mikroçoğaltım amacıyla kullanılmasının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca araştırma sonucunda, meristem kültürüyle çoğaltılan bitkilerin, meristem büyüme ve gelişme aşamasından toprağa transfer aşamasına kadar en kısa 12 haftaya ve toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar olan aklimatizasyon aşamasında ise 2 ay süreye ihtiyaç olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Çilek, Aktif Kömür, Mikroçoğaltma, Dış koşullara alıştırma.

THE EFFECTS OF DIFFERENT AUXIN TYPES AND ACTIVE CHARCOAL LEVELS ON PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT AT THE ACCLIMIZATION STAGE IN DIFFERENT STRAWBERRY CULTIVARS

ABSTRACT: Camarosa, Chandler and Oso Grande strawberry cultivars reproduced with meristem culture were investigated in this study in order to identify the effects of different chemicals used as rooting medias on plant growth and development during the acclim�ation stage. In the trial, besides activated charcoal (1.0, 2.5 ve 5.0 g L⁻¹), IBA (0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹) and NAA (0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹) hormones were used.

It was revealed that active charcoal usage at rooting stage had positive effect on plant growth and development during acclim�ation whereas NAA and IBA hormones had negative effect. Also, some differences were observed between NAA and IBA in terms of plant development, and the use of auxin at high concentrations (0.4 mg L⁻¹) decreased development further at acclim�ation process. In the research, no problem was observed during acclim�ation stage for each three active charcoal concentration tried. Plants rooted in active charcoal media had a very high survival rate determined after they had been transferred to soil and brought to planting stage, and there were no losses. However in plants which had been rooted in media containing IBA and NAA, the loss during transfer to terrain was very high, therefore it was revealed that they should not be used for micropropagation. At the end of the research, it was also determined that plants, which were reproduced by meristem culture, need at least 12 weeks from meristem growing and development stage to soil transferring stage, and 2 months of acclim�ation between soil transfer stage and planting stage.

Key Words: Strawberry, Activated Charcoal, Micropropagation, Acclim�ation.

1. GİRİŞ

Meristem kültürü tekniği, klonal çoğaltım, virüssüz fide eldesi, ıslah süresini kısaltmak ile gen kaynaklarını muhafaza etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan biyoteknolojik bir yöntemdir. Özellikle vegetatif olarak çoğaltılan bitki türlerinde, virüssüz hastaliksız fide eldesi sadece bu teknik ile mümkündür. Ayrıca doku kültürü tekniği ile mevsimlere bağlı olmaksızın fide eldesinin mümkün olması da en önemli avantajdır. Nitekim çilek, konvansiyonel yöntemlerle vegetatif olarak çoğaltılmakta ve virüssüz fide eldesi çok zor olmaktadır. Ayrıca tüm dünya ülkelerinde yaygınlıkla

kullanılan Camarosa, Chandler gibi çeşitlerin kısa gün çeşitleri olması ve sadece uzun gün koşullarında fide eldesinin mümkün olması dolayısıyla sağlıklı, virüssüz fide yetiştiriciliği sezonunu kısaltmaktadır. Ayrıca biotik ve abiotik stres koşullarına dayanıklılık ıslahında da en kısa sürede homojen fide eldesi de meristem kültürü tekniği ile mümkündür (Debnath ve Silva, 2007).

Meristem kültürü tekniğinde başarıyı etkileyen en önemli faktör, optimum oranda hormon konsantrasyonları ve kombinasyonunun sağlanmasıdır. Meristem büyüme ve gelişme ile çoğaltma aşamalarında benzilaminopürin (BAP), benzil adenin (BA), gibberellik asit (GA₃), thidiazuron

(TDZ), indol bütirik asit (IBA) ve indol asetik asit (IAA) hormonları kullanıldığı gibi, köklenme aşamasında IAA, IBA ve naftalen asetik asit (NAA) gibi oksinlerin yanı sıra aktif kömür de kullanılabilir (Biswas ve ark., 2007; Thomas, 2008). Gantait ve ark., (2009), *Dendrobium chrysotoxum* bitkisinin meristem kültürü ile çoğaltım amacıyla yaptıkları çalışmada, köklenme ortamına IBA ile birlikte aktif kömür ilavesinin kök sayısını ve kök uzunluğunu artırdığını belirtmişlerdir. Köklendirme çalışmalarında oksinlere ilaveten aktif kömür uygulamaları bazı bitki türlerinde köklenmeyi teşvik ederken, bazı türlerde fenolik maddeleri gidererek kararmayı önleme gibi etkilere sahiptir (Pan ve Staden, 1998; Mendi ve ark., 1995).

Doku kültürü aşamalarında kullanılan hormonların tipi ve konsantrasyonları, bitkilerin arazi koşullarındaki performansını etkilemektedir. Nitekim Lopez ve ark. (1994), doku kültürünün çoğaltma aşamasında BAP konsantrasyonunun artırılmasının, arazi koşullarında verimi sınırladığını ve bitkilerin arazi koşullarında çok fazla sayıda stolon oluşturduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca Mohamed ve ark. (1991), çoğaltma aşamasında kullanılan BAP hormonunun arazi koşullarında çiçeklenmeyi geciktirirken, paclobutrazol hormonunun ise çiçeklenmeyi erkene aldığını belirtmişlerdir. Seelye ve ark. (2003), köklenme ortamında paclobutrazol kullanımının yaprak iriliğini ve sayısını azalttığını, buna paralel olarak aklimatizasyon aşamasında bitkilerde transpirasyonla su kaybının azalacağını belirtmişlerdir. Oliveira ve ark. (2008), *Annona glabra L.* bitkisinde, çoğaltma ortamında BA ve kinetin kullanımının aklimatizasyon aşamasında yaprak alanı ve yaşama oranını artırdığını belirtmektedirler.

Mikroçoğaltma birçok bitki türünde başarı ile uygulansa da, bitkilerin *ex vitro* şartlara transferi sırasında çok fazla kayıp gerçekleşmektedir (Pospisiloca ve ark., 1999). Bu kaybı azaltmak amacıyla optimum çevre koşulları sağlanmalıdır. *In vitro* şartlarda kültür kapları içerisinde nem yüksek ve ışıklanma konvansiyonel duruma göre düşük olmaktadır. Oysa *in vitro* koşullardan *ex vitro* koşullara transfer edildiği zaman, ortam neminin düşük ve ışıklanmanın yüksek olmasından dolayı bitki dış koşullara hemen adapte olamamakta ve kayıplar artmaktadır. Bu nedenle, meristem kültürü ile çoğaltılan bitkiler ilk 2 hafta plastik altında tutulmakta ve plastikler 2. haftadan sonra kademeli olarak kaldırılarak ortam nemi düşürülmeye çalışılmaktadır. Bitkilerin dış ortama transferinden 4 hafta sonra ise plastikler tamamen kaldırılmakta ve bitkiler alıştırma seralarında büyütülmektedir (Roux ve ark., 1989). Badawi ve ark. (1990), meristem kültürüyle çoğaltılmış Pajaro, Tufts ve Tioga çilek çeşitlerinin dış koşullara alıştırma safhasında yetiştirme ortamı olarak 2:1 oranında perlit:kum kullanmanın, kültürlerin yaşaması ile büyüme ve gelişmesi bakımından en iyi sonucu verdiğini ve bu koşullarda bitkilerin %93.3

oranında yaşama şansına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Nehra ve ark. (1992), doku kültürüyle çoğaltılmış Redcoat çilek çeşidine ait bitkiler üzerinde yaptıkları çalışmada, köklenmiş bitkilerin toprağa transferinde 3:1:1 oranında kum:perlit:vermikulit içeren yetiştirme ortamını tavsiye etmişlerdir. Luneau ve ark. (1990), doku kültürüyle çoğaltılmış çilek bitkilerinin pişkinleştirme safhalarını inceledikleri çalışmada, bitkileri 20-25°C sıcaklıkta ve gölgelendirilmiş seralarda büyütmüşlerdir. Bitkilerin toprağa transferinden sonraki ilk 1 hafta içerisinde, ortamın oransal nemi %90-95'e ayarlanmış, ikinci haftada oransal nem %60'a düşürülmüş ve üçüncü haftada ise fungusit uygulaması yapılarak beşinci haftada bitkiler arazi koşullarına transfer edilmişlerdir. Meristem kültürü tekniği ile çoğaltılan çilek bitkileri arazi koşullarında en az %90 yaşama şansına sahip olup, klasik yöntemlerle çoğaltılanlara göre kısa zamanda ürün vermekte ve meyveleri daha homojen olmaktadır (Cameron ve ark. 1985, Atkinson ve ark. 1986). Seelye ve ark. (2003), aklimatizasyon aşamasında uygulanması gereken protokolün türlere göre farklılık gösterdiğini ve optimum bir protokolün sağlanması için türler ve çeşitler üzerinde denemeler yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar *in vitro*'dan *ex vitro* aşamasına transfer sırasında karşılaşılan en önemli sorunun eksplantların pörsümesi olarak gerçekleştiğini ve bu nedenle ortamda transpirasyon dengesini sağlamak amacıyla nem düzeyini artırmak gerektiğini de belirtmişlerdir. Ayrıca aklimatizasyon aşamasında bitkilerde görülen su stresi, kök gelişimini de olumsuz yönde etkilemektedir. Hazarika (2003), aklimatizasyon aşamasında bitkilere antitranspirant uygulamalarının, bitkilerde su kaybını azalttığını belirtmiştir. Özellikle birçok bitki türünde absisik asit (ABA) ve cycocel (CCC) gibi maddelerin spreyleneşmesi bitkilerde transpirasyonu azalttığını belirtmektedir. Pospisiloca ve ark. (1999), aklimatizasyon aşamasında CO₂ oranının ve fotosentetik aktivitenin artırılması ve ABA gibi antitranspirantların kullanılması ile transpirasyon oranını azaltarak en kısa sürede aklimatizasyonun sağlanacağını belirtmişlerdir. Ayrıca bu araştırmacı, aklimatizasyon aşamasında yaprak kalınlığının arttığı, yaprak stoma sayısının azaldığını belirtmektedir.

Bu çalışmada, meristem kültürüyle çoğaltılan Camarosa, Chandler ve Oso Grande çilek çeşitlerinde, köklendirme ortamında kullanılan değişik kimyasalların aklimatizasyon aşamasında bitki büyüme ve gelişmesi ile en kısa sürede dış koşullara alıştırmış bitki eldesi olanakları belirlenmiştir.

2. MATERYAL VE METOD

Araştırmada bitki materyali olarak, Camarosa, Chandler ve Oso Grande çilek çeşitleri, eksplant olarak ise sürgün uçları kullanılmıştır. Bu sürgün uçları, Mayıs ayında atan primer kollardan alınarak, meristem izolasyonu amacıyla sterilizasyona tabi tutulmuştur. Yüzey sterilizasyonu 2 aşamalı olarak

yapılmış olup, ilk aşamada %20 sodyum hipokloritte 15 dakika, ikinci aşamada ise %5 sodyum hipokloritte 5 dakika bekletilerek kültür ortamına alınmışlardır (Adak ve ark. 2001).

Meristemlerin büyüme ve gelişme, çoğalma ve köklendirme aşamalarında temel ortam olarak Murashige ve Skoog (MS) (1962)'un hazır besi ortamı kullanılmıştır. Meristemler binoküler mikroskop altında bir iki yaprak primordiyumu içerecek şekilde izole edilerek büyüme ve gelişme aşamasına alınmışlardır. Bu aşamada MS ortamına 1 mg L⁻¹ BAP ve 1 mg L⁻¹ IAA ilave edilmiştir. Eksplantlar büyüme ve gelişme aşamasında 4 hafta bekletildikten sonra çoğaltma amacıyla altkültüre alınmışlardır. Denemede çoğaltma aşamasında 1 mg L⁻¹ BAP ve 1 mg L⁻¹ IAA hormon kombinasyonu kullanarak rejenerasyon sağlanmıştır. Köklendirme aşamasında ise köklenmeyi teşvik etmek amacıyla aktif kömürün yanı sıra (1.0, 2.5 ve 5.0 g L⁻¹), IBA (0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹) ve NAA (0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹) hormonlarının değişik konsantrasyonları denenmiştir. Bu uygulamalar ve numaraları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Denemede yapılan uygulamalar ve numaraları

Uygulama No	Uygulama
1	1 g L ⁻¹ Aktif Kömür
2	2.5 g L ⁻¹ Aktif Kömür
3	5 g L ⁻¹ Aktif Kömür
4	0.1 mg L ⁻¹ NAA
5	0.4 mg L ⁻¹ NAA
6	0.1 mg L ⁻¹ IBA
7	0.4 mg L ⁻¹ IBA

Meristem kültürünün tüm aşamalarında, kültür odasında sıcaklık 25°C, fotoperiyot 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık, aydınlatma ise 3000 lüks olacak şekilde ayarlanmıştır.

Köklendirme ortamlarında 4 hafta süreyle kültür edilen bitkiler aklimatizasyon amacıyla dış koşullara alınmışlardır. Bu aşamada, kültür kaplarından çıkarılan bitkilerin kökleri yıkanarak besi ortamı uzaklaştırılmıştır. Daha sonra bu bitkiler 1:1 oranında steril torf:perlit ortamı bulunan viollere transfer edilmişlerdir. Dikimi yapılan violler üzerine deliksiz şeffaf plastik örtü geçirilmiştir. Plastik örtü altındaki hava neminin ilk hafta %85-90 olmasına dikkat edilmiş ve daha sonraki haftalarda plastik örtü kademeli olarak açılarak, hava nemi yavaş yavaş düşürülmüştür. Dördüncü haftanın sonunda ise plastik örtü tamamen bitkilerin üzerinden kaldırılarak 4 hafta süreyle daha bitkiler dış ortama alıştırma süreci geçirmişlerdir. Viollere transfer edilen bitkiler, sıcaklığı 25°C, oransal nemi %85-90, ışık şiddeti 7000 lüks ve fotoperiyodu 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan iklim odalarında bekletilmişlerdir. Bu aşamada gelişmeye alınan bitkilerde aylara bağlı olarak yaprak sayısı, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve gövde çapı değerleri ölçülmüştür.

Denemeler 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 45 bitki kullanılmıştır. Denemeler, Tesadüf Parselleri deneme

desenine göre planlanmış ve ortalamaların karşılaştırılmasında Tukey testi kullanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTISMA

3.1. Camarosa çilek çeşidinde, değişik besi ortamlarında köklendirilen bitkilerde, aylara bağlı olarak büyüme ve gelişmede belirlenen değişimler

Camarosa çilek çeşidinde, 1 g L⁻¹ aktif kömür içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar geçen süre 2 ay olarak belirlenmiştir. İki aylık sürenin sonunda, bitkilerde yaprak sayısı, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve gövde çapı değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 1'de verilmiştir. Bu şekilde de görüldüğü gibi 1 g L⁻¹ AK içeren ortamda köklendirilen bitkilerde toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısı 8.53 adetten 11.16 adete, yaprak genişliği 1.29 cm'den 5.76 cm'e, yaprak uzunluğu 1.53 cm'den 4.55 cm'ye ve gövde çapı değeri ise 4.03 mm'den 6.06 mm'ye ulaşmıştır. Camarosa çilek çeşidinde, 2.5 g L⁻¹ aktif kömür içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar geçen sürede bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine ayların etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu ortamda köklendirilen bitkiler toprağa transferden 2 ay sonra araziye dikim aşamasına getirilmişlerdir. İkinci ayın sonunda, bitkilerdeki yaprak sayısında %33.83, yaprak genişliğinde %343.08, yaprak uzunluğunda %196.10 ve gövde çapı değerinde %51.57 artış gerçekleştiği belirlenmiştir. Aynı çilek çeşidinde, 5 g L⁻¹ aktif kömür içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bitkilerin toprağa transferinden 2 ay sonra, yaprak sayısında %33.54, yaprak genişliğinde %348.46, yaprak uzunluğunda %195.51 ve gövde çapı değerinde %46.14 artış gerçekleştiği belirlenmiştir (Şekil 1).

Camarosa çilek çeşidinde, 0.1 mg L⁻¹ NAA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 1). Nitekim, toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısı, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve gövde çapı değerleri ilk toprağa dikim zamanına göre çok fazla değişim göstermemiştir. Aynı çilek çeşidinde, 0.4 mg L⁻¹ NAA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi de yine istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Nitekim bu bitkilerde ikinci ayın sonunda, yaprak sayısı 5.33 adete, yaprak genişliği 1.33 cm'ye, yaprak uzunluğu 1.20 cm'ye ve gövde çapı değeri ise 3.13 mm'ye ulaşmıştır. Elde edilen bu değerler 0.1 mg L⁻¹ NAA içeren ortamlarda köklendirilen bitkilerden daha düşük olarak belirlenmiştir.

Camarosa çilek çeşidinde, 0.1 mg L⁻¹ IBA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi de NAA'da olduğu gibi, istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Nitekim, ilk

2 ayda yaprak sayısı, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve gövde çapı değerlerinde fazla bir gelişme belirlenmemiştir. Aynı çilek çeşidinde, 0.4 mg L⁻¹ IBA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde de, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi yine istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Nitekim bu bitkilerde aylara bağlı olarak önemli değişimler gözlenmemiştir (Şekil 1).

Denemede Camarosa çilek çeşidinde, değişik aktif kömür düzeylerinde köklendirilen bitkilerde toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar geçen süre 2 ay olarak belirlenmiştir. Fakat NAA ve IBA hormonlarında köklendirilen bitkilerde, aylara bağlı olarak bitki büyüme ve gelişmesinde herhangi bir istatistiksel fark gözlenmemiştir. Ayrıca bu ortamlarda köklendirilen bitkilerde, gelişmenin zayıf olmasına paralel olarak, araziye aktarılan bitkilerde yaşama oranı belirlenmemiştir. NAA ve IBA içeren ortamlarda belirlenen zayıf gelişmenin nedeni, kültür ortamındaki gelişmenin zayıf olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim bu konuda yapılan daha önceki çalışmalarda NAA ve IBA içeren ortamlarda köklenme zayıf cereyan etmiş ve bu zayıf gelişim aklimatizasyon aşamasında da devam etmiştir. Desjardins ve ark. (1987), meristem kültürüyle çoğaltılmış çilek bitkilerinin toprağa transferinden 45 gün sonra, Aka (1994) ise 1.5-2 ay sonra araziye dikim aşamasına getirilebileceğini bildirmişlerdir. Dolayısıyla bu bulgular, bizim aklimatizasyon aşamasındaki elde ettiğimiz bulgular ile benzerlik göstermektedir.

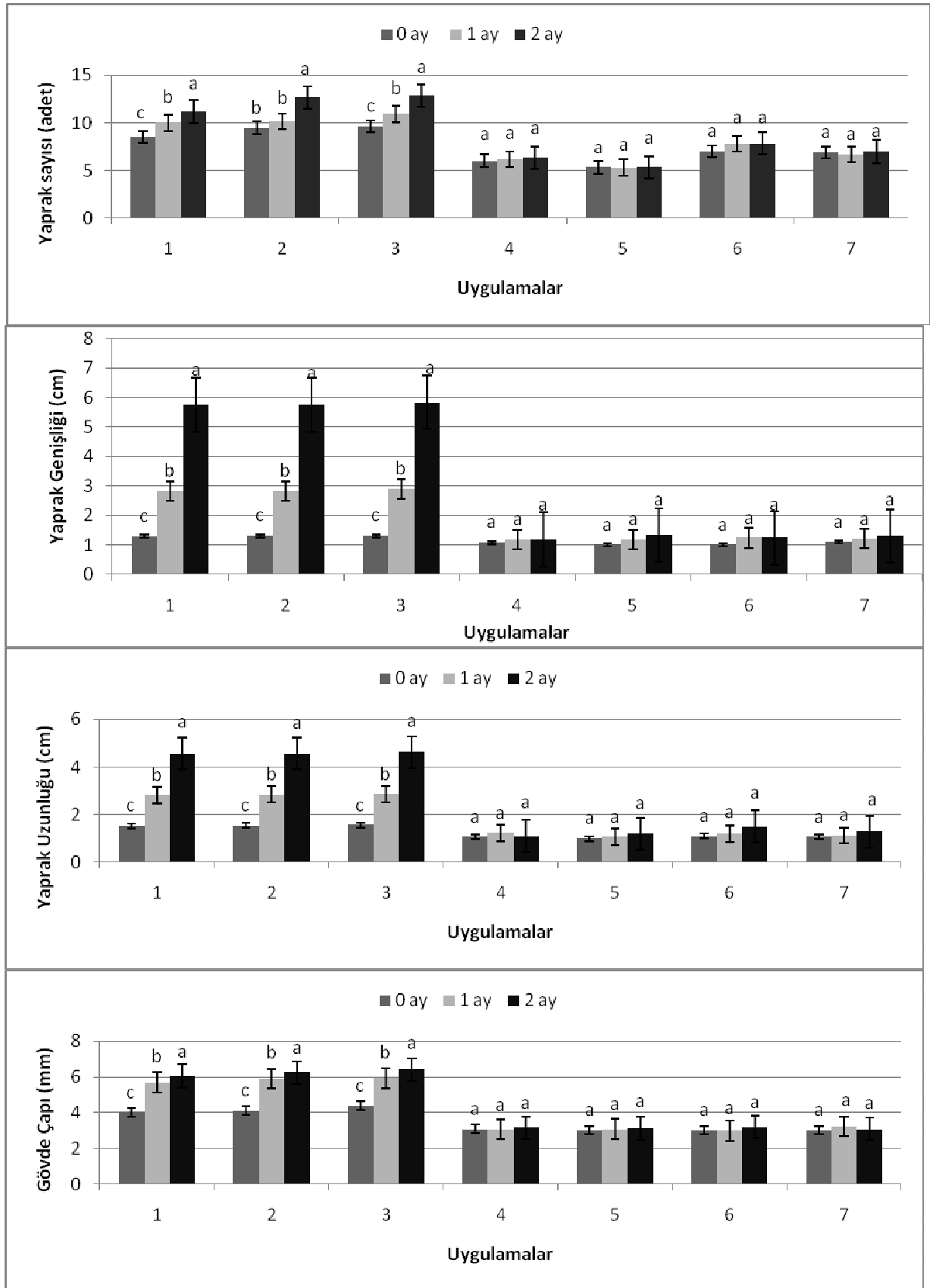
Ayrıca araştırmada aktif kömür kullanılan ortamlarda köklendirilen bitkilerde aklimatizasyon aşamasında belirlenen yaprak sayıları ile yaprak genişlik ve uzunluk değerleri, NAA ve IBA'da belirlenen ortamlardan göreceli olarak daha fazla olarak gelişmiştir. Fakat aktif kömür ortamında köklenmenin diğer ortamlara göre daha iyi olmasından dolayı bitkiler transpirasyonla kaybettiği suyu karşılamada herhangi bir sorunla karşılaşmamış ve bitkilerde herhangi bir pörsüme gerçekleşmemiştir. Oysaki NAA ve IBA içeren ortamlarda vegetatif olarak daha zayıf gelişme de, köklenmenin zayıf olması dış koşullara alıştırmaya sırasında pörsümelere ve kayıplara neden olmuştur. Nitekim bu ortamlarda köklendirilen bitkilerde, bitki yapraklarından kaybettiği suyu, kökleriyle karşılayamamakta ve turgoritenin azalması nedeni ile bitki ölüme gitmektedir. Ayrıca bu konuda yapılan bazı çalışmalarda, köklenme ortamına IBA ve NAA ilavesinin köklenmeyi teşvik ettiği de belirtilmektedir (Navatel, 1979; Waithaka, 1980). Oysaki bizim bulgularımız neticesinde, IBA ve NAA içeren ortamlarda köklenme gerçekleşse de, bu köklenmenin bitki büyüme ve gelişmesi için yeterli olmayacağı belirlenmiştir. Buna alternatif olarak ise aktif kömür kullanmanın hem *in vitro* aşamada, hem de *ex vitro* aşamada köklenme ve bitki gelişimi bakımından kullanılabilirliği açıkça saptanmıştır. Ayrıca denememizde aktif kömür ortamında köklendirilip

araziye aktarılan bitkilerdeki gelişmenin, konvansiyonel yolla üretilen bitkilere göre oldukça hızlı olduğu da belirlenmiştir. Ayrıca meyve iriliği ve verimin de bu bitkilere göre oldukça yüksek olduğu denemenin ilerleyen zamanlarında tespit edilmiştir. Oysa ki NAA ve IBA'da köklendirilen bitkilerde böyle bir olumlu gelişme gerçekleşmemiştir. Şekil 2.a'da Camarosa çilek çeşidinde, değişik köklendirme ortamlarında köklendirilen bitkilerin *in vitro* aşamasından çıkarıldıktan sonraki genel görünümü ve Şekil 2.b'de 5 g L⁻¹ aktif kömür ortamında köklendirilen Camarosa çilek çeşitlerine ait bitkilerin 1 aylık gelişme durumları verilmiştir.

3.2. Oso Grande çilek çeşidinde, değişik besi ortamlarında köklendirilen bitkilerde, aylara bağlı olarak büyüme ve gelişmede belirlenen değişimler

Oso Grande çilek çeşidinde, 1 g L⁻¹ aktif kömür içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısında %25.07, yaprak genişliğinde %340.91, yaprak uzunluğunda %182.72 ve gövde çapı değerinde %48.43 artış; 2.5 g L⁻¹ aktif kömür içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısında %40.32, yaprak genişliğinde %342.86, yaprak uzunluğunda %185.28 ve gövde çapı değerinde %53.27 artış; 5 g L⁻¹ aktif kömür içeren ortamda köklendirilen bitkilerde ise toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısında %46.79, yaprak genişliğinde %356.82, yaprak uzunluğunda %185.89 ve gövde çapı değerinde %48.50 artış belirlenmiştir (Şekil 3). Dolayısıyla her üç aktif kömür düzeyinde, toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar geçen süre 2 ay olarak belirlenmiştir. Bu aşamada araziye aktarılan bitkilerde yaşama oranının çok yüksek olduğu ve herhangi bir kaybın olmadığı da belirlenmiştir.

Oso Grande çilek çeşidinde, 0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹ NAA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 3). Nitekim toprağa transferden 2 ay sonra, her iki ortamda köklendirilen bitkilerde, yaprak sayısı, yaprak genişliği, yaprak uzunluğu ve gövde çapı değerleri arasında önemli farklılıklar belirlenmemiştir. Oso Grande çilek çeşidinde, 0.1 mg L⁻¹ ve 0.4 mg L⁻¹ IBA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, incelenen kriterler üzerine ayların etkisi NAA'da olduğu gibi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 3). Nitekim toprağa transferden 2 ay sonra 0.1 mg L⁻¹ IBA ortamında köklendirilen bitkilerde, yaprak sayısı 7.20 adete, yaprak genişliği 1.30 cm'e, yaprak uzunluğu 1.27 cm'e ve gövde çapı değeri ise 3.37 mm'ye ulaşmıştır. Aynı çilek çeşidinde, 0.4 mg L⁻¹ IBA içeren ortamda köklendirilen bitkilerde, ikinci ayın sonunda, yaprak sayısı 6.87 adete, yaprak genişliği 1.23 cm'ye, yaprak uzunluğu 1.10 cm'ye ve gövde çapı değeri ise 3.37 mm'ye ulaşmıştır.



Şekil 1. Camarosa çilek çeşidinde değişik besi ortamında köklendirilen bitkilerin toprağa transferinden araziye dikim aşamasına kadar geçen sürede (2 ay) büyüme ve gelişmesinde meydana gelen değişmeler

Şekil 2.c'de, 5 g L⁻¹ aktif kömür ortamında köklendirilen Oso Grande çilek çeşidine ait 2 aylık bir bitkinin genel görünümü verilmiştir.

Bu çeşitte elde edilen sonuçlarda, Camarosa çeşidinde elde edilen sonuçlarla paralellik göstermiştir. Nitekim toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar 2 aylık aklimatizasyon süresinin yeterli olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca aktif kömür ortamında köklendirilen bitkilerdeki gelişimin NAA ve IBA'ya göre daha fazla tercih edilebilir olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır.

3.3. Chandler çilek çeşidinde, değişik besi ortamlarında köklendirilen bitkilerde, aylara bağlı olarak büyüme ve gelişmede belirlenen değişimler

Chandler çilek çeşidinde, 1 g L⁻¹, 2.5 g L⁻¹ ve 5 g L⁻¹ düzeylerinde aktif kömür içeren ortamlarda köklendirilen bitkilerde, toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar geçen sürede ayların incelenen kriterler üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4). Nitekim 1 g L⁻¹ aktif kömür ortamında, toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısında %39.51; yaprak genişliğinde %337.98, yaprak uzunluğunda %199.38 ve gövde çapında %53.85 değişim gözlenirken, 2.5 g L⁻¹ aktif kömür ortamında, yaprak sayısında %30.42; yaprak genişliğinde %345.31, yaprak uzunluğunda %198.77 ve gövde çapında %45.24; 5 g L⁻¹ aktif kömür ortamında ise, yaprak sayısında %45.41; yaprak genişliğinde %337.98, yaprak uzunluğunda %198.17 ve gövde çapında %39.01'lük artışlar kaydedilmiştir.

Chandler çilek çeşidinde, NAA ve IBA ortamlarında köklendirilen bitkilerde, denenen diğer iki çeşitte olduğu gibi, ayların incelenen kriterler üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 4). 0.1 mg L⁻¹ NAA ortamında köklendirilen bitkilerde toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısı değerleri 6.14 adet, yaprak genişliği 1.07 cm, yaprak uzunluğu 1.20 cm ve gövde çapı değeri 3.03 mm; 0.4 mg L⁻¹ NAA ortamında köklendirilen bitkilerde yaprak sayısı değerleri 5.28 adet, yaprak genişliği 1.07 cm, yaprak uzunluğu 1.17 cm ve gövde çapı değeri 3.00 mm olarak belirlenmiştir.

Aynı çilek çeşidinde, 0.1 mg L⁻¹ IBA ortamında köklendirilen bitkilerde toprağa transferden 2 ay sonra yaprak sayısı 7.67 adetten 7.50 adete, yaprak genişliği 1.13 cm'den 1.07 cm'ye, yaprak uzunluğu 1.13 cm'den 1.20 cm'e ve gövde çapı değeri 3.20 mm'den 3.23 mm'ye; 0.4 mg L⁻¹ IBA ortamında köklendirilen bitkilerde ise yaprak sayısı 7.23 adetten 7.00 adete, yaprak genişliği 1.07 cm'den 1.10 cm'ye, yaprak uzunluğu 1.20 cm'den 1.23 cm'e ve gövde çapı değeri 3.10 mm'den 3.27 mm'ye değişim göstermiştir (Şekil 4). Dolayısıyla bu çilek çeşidinde de, denenen diğer iki çeşitte elde edilen bulgular uyum içerisinde bulunmuştur. Nitekim köklenme ortamında herhangi bir hormon kullanmaya gerek olmadığı, sadece aktif kömür kullanmanın hem köklenme, hem de bitki büyüme ve gelişmeyi teşvik edici yönde çalıştığı

belirlenmiştir. Bu bulgularımız birçok araştırmacının çalışmaları ile de uyumlu bulunmuştur. (Adak ve ark. 2001; Çömlekçioğlu ve Kaşka, 1992; Lopez ve ark. 1994; Pan ve Staden, 1998). Nitekim bu araştırmacılar köklenme bakımından aktif kömür kullanımının avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın bazı araştırmacılar da köklenme ortamında düşük oranda oksin (0.1 mg L⁻¹ IBA) kullanımını tavsiye etmektedirler (Shaakeel ve Iqtar, 1999). Bizim bulgularımızda da köklenme ortamında oksin konsantrasyonları arasında düşük konsantrasyonun daha avantajlı olduğu belirlenirken, aktif kömür ile kıyaslandığında oksin kullanımı tavsiye edilmemektedir. Diğer bazı araştırmacılar ise köklenme aşamasında hiçbir hormona gerek olmadan MS ortamında köklenebileceğini bildirmişlerdir (Reed, 1991; Greene ve Davis 1991). Şekil 2.d'de Chandler çilek çeşidinde, araziye dikimden 2 ay sonra bir bitkinin örtü altındaki büyüme ve gelişme durumu verilmiştir.

4. SONUÇ

Araştırmalarımız sonucunda, çileklerin meristem kültürüyle çoğaltılmasında, meristem büyüme ve gelişme aşaması ile çoğaltma aşamasında 1 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IAA hormonlarının ardından köklenme aşamasında aktif kömür ile NAA ve IBA gibi oksinlerin kullanılabilmesi belirlenmiştir. Bu ortamlarda köklendirilen bitkilerde aklimatizasyon aşamasında bitki büyüme ve gelişmesi bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur. Nitekim denenen tüm ortamlarda, toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar 2 ay sürenin yeterli olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sürede bitki büyüme ve gelişmesi bakımından en iyi değerler aktif kömür kullanılan ortamlarda belirlenmiş olup, NAA ve IBA kullanılan ortamlarda bitki büyüme ve gelişmesi bakımından herhangi bir olumlu gelişme saptanamamıştır. Ayrıca aktif kömür konsantrasyonlarının 1 g L⁻¹'den 5 g L⁻¹'ye artırılması ile aklimatizasyon aşamasında bitkilerde yaprak sayısı, yaprak genişliği ile gövde çapı değerleri artış gösterirken, NAA ve IBA konsantrasyonlarının 0.1 mg L⁻¹'den 0.4 mg L⁻¹'ye artırılmasıyla bu değerler düşüş göstermiştir. Aktif kömür kullanılan ortamlarda köklendirilen bitkilerde toprağa transferden araziye aktarıma aşamasında herhangi bir kayıp gerçekleşmemiştir. Dolayısıyla bu ortamlarda kültür edilen bitkiler %99 yaşama oranı ile arazi koşullarına aktarılmışlardır. Oysaki NAA ve IBA kullanılan ortamlarda köklendirilen bitkilerde, aklimatizasyon aşamasında gelişme çok zayıf olup, araziye aktarıma aşamasında ise bu bitkilerde kayıp oranı çok yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Bunun nedeni IBA ve NAA kullanılan köklendirme ortamlarında, kültür aşamasında iken gelişiminin zayıf ve köklenmenin aksine kallus oluşumunun fazla olmasından kaynaklandığı sanılmaktadır.



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 2. (a) Camarosa çilek çeşidinde, değişik köklendirme ortamlarında köklendirilen bitkilerin genel görünümü (soldan sağa, 1 g L⁻¹ aktif kömür; 2.5 g L⁻¹ aktif kömür; 5 g L⁻¹ aktif kömür). (b) 5 g L⁻¹ aktif kömür ortamında köklendirilen Camarosa çilek çeşitlerine ait bitkilerin 1 aylık gelişme durumları. (c) 5 g L⁻¹ aktif kömür ortamında köklendirilen Oso Grande çilek çeşidinde ait 2 aylık bir bitkinin genel görünümü (d) Chandler çilek çeşidinde, araziye dikimden 2 ay sonra bir bitkinin örtü altındaki büyüme ve gelişme durumu.

Ayrıca bu ortamlarda köklenmenin zayıf olması ile, aklimatizasyon aşamasında bitki yapraklarından kaybettiği suyu kökleriyle karşılayamamaktadır.

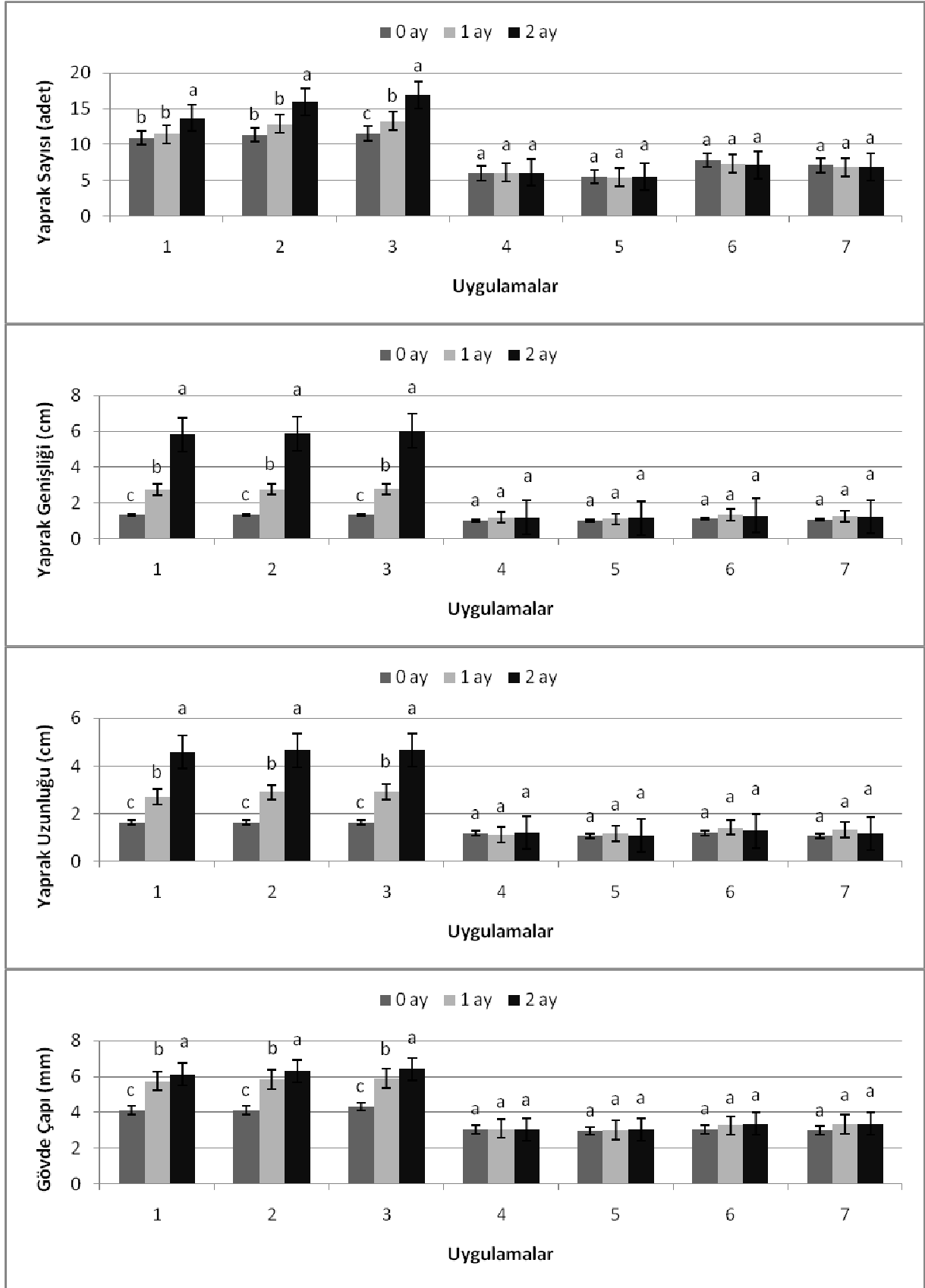
Dolayısıyla, aklimatizasyon aşamasında en önemli unsur olan, bitkilerin turgoritesini yitirmeden yaşatılabilmesi bu ortamlarda güç olmaktadır.

Denemede ayrıca aklimatizasyonun ilerlemesine bağlı olarak, yaprak kutikula tabakasında gözle görülür derecede kalınlaşma görülmüş ve böylece bitkilerde şişkinleşme de sağlanmıştır.

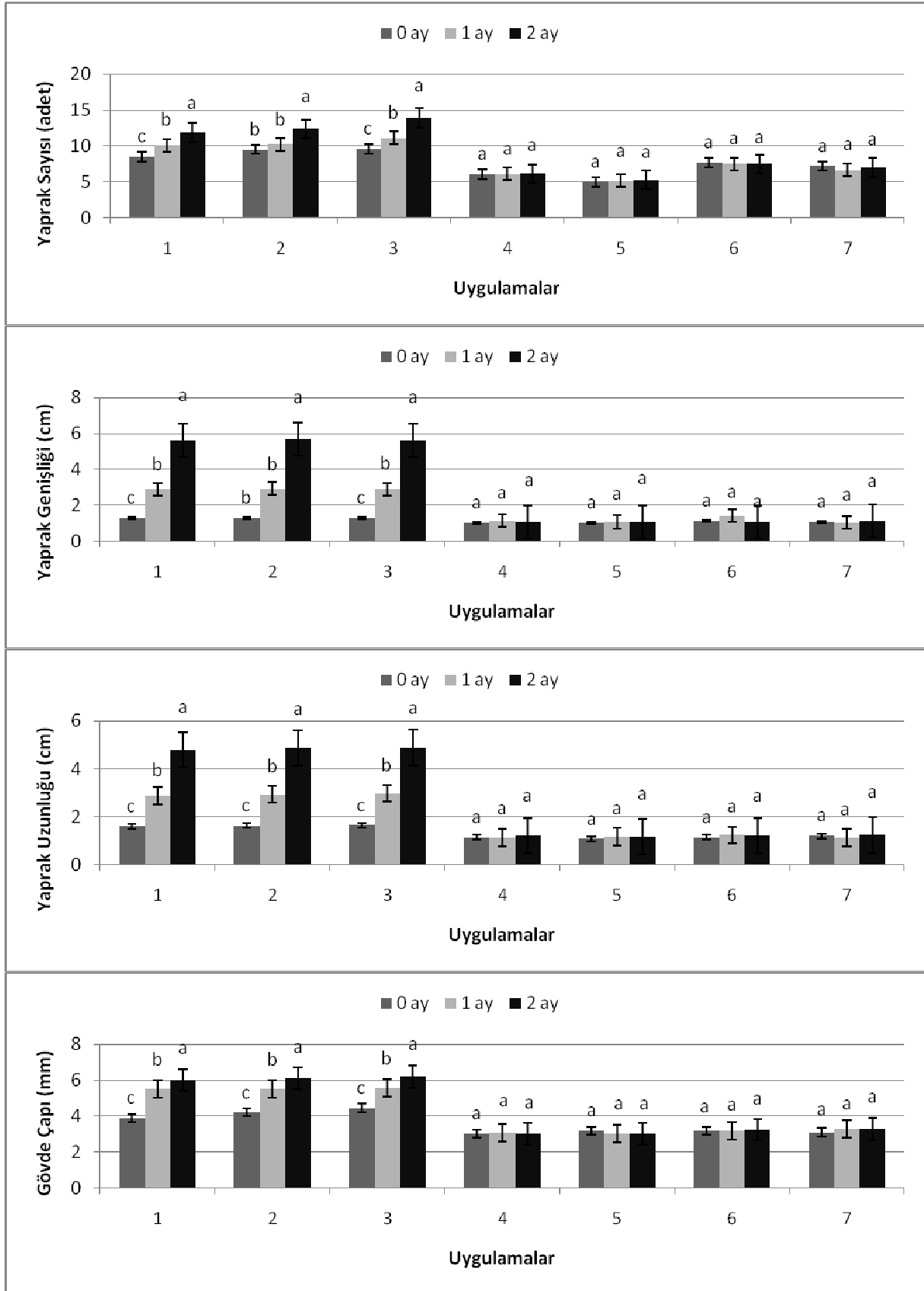
Bu çalışmada ayrıca yukarıda bildirilen hormon konsantrasyonları kullanılarak en kısa sürede mikro

çoğaltma yapılabileceği belirlenmiştir. Nitekim denenen her üç çilek çeşidinde de, meristem büyüme ve gelişme aşamasından toprağa transfer aşamasına kadar en kısa 12 haftaya ve toprağa transferden araziye dikim aşamasına kadar olan aklimatizasyon aşamasında ise 2 ay süreye ihtiyaç olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla ıslah süresini kısaltmak veya mikro çoğaltma amacıyla homojen virüssüz sağlıklı bitki yetiştirebilmek amacıyla en az 5 ay sürenin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Değişik çilek çeşitlerinde farklı oksin tipleri ile aktif kömür düzeylerinin dış koşullara adaptasyon aşamasında bitki büyüme ve gelişimi üzerine etkileri



Şekil 3. Oso Grande çilek çeşidinde değişik besi ortamında köklendirilen bitkilerin toprağa transferinden araziye dikim aşamasına kadar geçen sürede (2 ay) büyüme ve gelişmesinde meydana gelen değişimler



Şekil 4. Chandler çilek çeşidinde değişik besi ortamında köklendirilen bitkilerin toprağa transferinden araziye dikim aşamasına kadar geçen sürede (2 ay) büyüme ve gelişmesinde meydana gelen değişimler

5. KAYNAKLAR

- Adak, N., Pekmezci, M., Gübbük, H., 2001. Değişik çilek çeşitlerinin meristem kültürüyle çoğaltılması üzerinde araştırmalar. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 14 (1),119-126.
- Aka, Y., Çetiner, S.M., 1995. Çilek çeşitlerinin meristem kültürü yöntemiyle çoğaltılmasında gözlenen değişimler. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt 1, 351-355, 3-6 Ekim, Adana.
- Atkinson, D., Crisp, C.M., Wiltshire, S., 1986. The effect of medium composition on the subsequent initial performance of micropropagated strawberry plants. Acta Horticulturæ, 179(2):877-878.
- Badawi, M.A., Alphonso, M., Bondok, A.Z., Hosni, Y.A., 1990. Propagation of some strawberry cultivars by means of tissue culture technique. Egyptian Journal of Horticulture, 17(1):9-16.
- Biswas, M.K., Hossain, M., Islam, R., 2007. Virus free plantlets production of strawberry through meristem culture. World Journal of Agricultural Sciences 3(6):757-763. [http://www.idosi.org/wjas/wjas3\(6\)/9.pdf](http://www.idosi.org/wjas/wjas3(6)/9.pdf) (Ulaşım: 01.07.2010).
- Cameron, J.S., Hancock, J.F., 1985. Effect of propagation method on yield component interactions in strawberries. Hort Science, 20(3):585 (107).
- Çömlekçioğlu, N., Kaşka, N., 1992. Bazı standart çilek çeşitleri ve çeşit adaylarının meristem kültürü yöntemiyle çoğaltılması. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7(1):13-24.
- Debnath S.C., Silva J.A.T., 2007. Strawberry culture *in vitro*: Application in genetic transformation and biotechnology. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology 1(1):1-12. Global Science Books. [http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/SF/FVCSB_1\(1\)1-12.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/JournalsSup/images/SF/FVCSB_1(1)1-12.pdf) (Ulaşım: 01.07.2010).
- Desjardins, Y., Gosselin, A., Yelle, S., 1987. Acclimatization of *ex vitro* strawberry plantlets in CO₂ enriched environment and supplementary lighting. J. Am. Soc. Hort. Sci., 112(5):846-851.
- Gantaıt, S., Mandal, N., Das P.K., 2009. Impact of auxins and activated charcoal on *in vitro* rooting of *Dendrobium chrysotoxum lindl.* cv. Golden boy. Journal of Tropical Agriculture 47(1-2): 84-86.
- Greene, A.E., Davis, T.M., 1991. Regeneration of *Fragaria vesca* plants from leaf tissue. The Strawberry into the 21 st century, Proceedings of The Third North American Strawberry Conference, Houston, Texas, 14-16 February, 124-125.
- Hazarika, B.N., 2003. Acclimatization of tissue culture plants. Current Science, 85(12):1704-1712. <http://www.ias.ac.in/currsci/dec252003/1704.pdf> (Ulaşım: 01.07.2010).
- Lopez, A.J.M., Alfaro, P.F., Navidad, L.I., Munoz, B.M., 1994. Effect of mineral saltz, benziladenine levels and number of subcultures on the *in vitro* and field behaviour of the obtained microplants and the fruiting capacity of their progeny. Journal of Horticultural Science, 69(4):625-637.
- Luneau, D., Gouache, P.D., Parisot, E., 1990. The multiplication of strawberry in reunion. Part 1: The hardening-off of young strawberry plants produce by micropropagation. Fruits, 45(5):521-526.
- Mendi, N.Y., Aka, Y., Çetiner, S.M., 1995. *In vitro* köklendirme ortamında kullanılan aktif kömürün köklenme üzerine etkileri. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt 1, 356-360, 3-6 Ekim, Adana.
- Mohamed, F., Swartz, H.J., Buta, J.G., 1991. The role of abscisic acid and plant growth regulators in tissue culture-induced rejuvenation of strawberry *ex vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 25:75-84.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15:473-497.
- Navatel, J.C., 1979. La multiplication *in vitro* de fraiser. CTIFL Documents, No. 61, TRIM 1979, 1-11.
- Nehra, N.S., Kartha, K.K., Stushnoff, C., Giles, K.L., 1992. The influence of plant growth regulator concentrations and callus age on somaclonal variation in callus culture regenerants of strawberry. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 29:257-268.
- Oliveira, L.M., Paiva, R., Santana, J.R.F., Alves, E., Nogueira, R.C., Pereira, F.D., 2008. Effect of cytokinins on *in vitro* development of autotrophism and acclimatization of *Annona glabra*. *In vitro* Cellular & Developmental Biology Plant. 44 (2):128-135.
- Pan, M.J., Staden, J., 1998. The use of charcoal *in vitro* culture- A review. Plant Growth Regulator, 26:155-163.
- Pospisiloca, J., Ticha, I., Kadlecck, P., Haisel, D., Plzakova, S., 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia plantarum*. 42(4):481-497. http://home.ueb.cas.cz/laboratory_of_physiology_of_photosynthesis/images/Posp%ED%9Ailov%E1%201999%20Acclimatization%20of%20micropropagated%20plant%20s.pdf (Ulaşım: 01.07.2010).
- Roux, J.M., Parisot, E., Marchal, J., 1989. Mineral nutrition of micropropagated strawberry plants during acclimatization *ex vitro*. Fruits, 44(5):275-279.
- Reed, B.M., 1991. Application of gas-permeable bags for *in vitro* cold storage of strawberry germplasm. Plant Cell Report, 10(9):431-434.
- Shaakeel, A.J., Iqtar H., 1999. Shoot proliferation studies in strawberry. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2(3):838-839.
- Seelye, J.F., Burge, G.K., Morgan, R., 2003. Acclimatizing tissue culture plants: Reducing the shock. Combining Proceedings International Plant Propagators Society. 53:85-90. www.ipps.org/Papers/NewZealand/Seelye.PDF (Ulaşım: 01.07.2010).
- Thomas, T.D., 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. Biotechnology Advances 26:618-631. <http://wenku.baidu.com/view/70a1df22bcd126fff7050b2b.html> (Ulaşım: 01.07.2010).
- Waithaka, K., Hildebrandt, A.C., Dana, M.N., 1980. Hormonal control of strawberry axillary bud development *in vitro*. Journal of American Society of Horticultural Science, 105(3):428-430.