

**CRUZ VE YALOVA-110 ÇİLEK (*Fragaria x Ananassa* Duch.) ÇEŞİTLERİNDE  
KALLUS KÜLTÜRÜ YÖNTEMİ İLE SOMAKLONAL VARYASYON  
OLUŞTURMA OLANAKLARI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**Doç. Dr. M.Kubilay ÖNAL<sup>(1)</sup>**

### **GİRİŞ**

Hem taze hem de işlenmiş olarak tüketilebilen bir meyve türü olan çilek, olgunlaşlığı zaman pazarda değişik meyve türlerinin bulunmaması, fiyatının yüksek ve aile işletmeciliğine uygun olmasından dolayı yurdumuzda ekonomik öneme sahip bir meyvedir. Yurtdışı ve Yurtiçinde yapılan ıslah programlarında çok çeşitli ekolojik şartlara adapte olabilen yüksek verimli ve kaliteli çeşitlerin geliştirilmesi sonucu ülkemizde de çilek tarımında büyük gelişme olmuştur (PAYDAŞ ve KAŞKA, 19992). Yurdumuzda 85.700 dekar üretim alanında 107.000 ton çilek üretimi yapılmaktadır (ANONİM, 1998). ıslah çalışmalarında ,klasik tekniklerin yanı sıra biyoteknolojik yöntemlerin de kullanılması bir çok avantaj sağlamaktadır. Doku kültürü teknikleri, hem bitkinin hücresel düzeyde olumsuz çevre koşullarına karşı verdiği tepkiyi araştırma hem de strese karşı tolerans geliştirme çabalarına imkan vermektedir.

Çileğin büyümeye etki eden ekolojik faktörlerin başında iklim, mevki ve toprak gelmektedir. Bu faktörler çilek yetiştirciliğini sınırlamaktadır.

Kallus, organize olmamış bitki hücre yığınıdır. Kallus kültürü ise bitkiden alınacak bir parçadan (explant) uygun bir gıda ortamında kallus dokusunun oluşturulması, yani izole edilmiş hücre yığınlarının steril kültürürdür (GÖNÜLŞEN, 1987).

Çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilmiş kültür ortamları bu amaçla kullanılabilir. Ancak makro ve mikro elementlerin dengeli bir şekilde bulunduğu temel ortamlara vitamin , karbon kaynağı, organik büyümeye faktörleri, bitki hormonları gibi çeşitli maddelerin ilave edilmesi gerekmektedir (GÖNÜLŞEN, 1987).

Gıda ortamına ilave edilen oksin ve kinetin miktarlarına göre, hücre bölünmesinin devam edeceğii veya organize olmuş meristemlerin elde edilebileceği gözlenmiştir. Örneğin oksin/sitokinin oranı yüksek olduğunda bazı kallus hücreleri kök primordiasi şekline, sitokinin/oksin oranı yüksek olduğunda ise sürgün apikal meristemlere dönüsmektedir (HARTMAN ve KESTER, 1975; BUTCHER ve INGRAM, 1978; GÖNÜLŞEN ve ÖZCAN, 1983).

(1): Doç.Dr., Akdeniz Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, 07058 Kampüs - ANTALYA

Jones ve ark.(1988) farklı çilek çeşitlerinin yaprak ayası ve yaprak saplarından yaptıkları kültürden elde ettikleri kalluslardan, BAP ve 2,4-D içeren gıda ortamında sürgün oluşturmuşlardır.

Gönülşen ve ark. (1996) Cruz ve Yalova 110 çeşitlerinde yapmış oldukları çalışmada; 2,0 mg/1NAA+0,5 mg/1BAP içeren MS ortamında, karanlık koşullarda ve 25 °C de optimum kallus gelişimini sağlamışlardır.

Foucault ve Letouze (1987) çilek çeşitlerinde 2,4-D, K ve BA'ın değişik konsantrasyonlarını içeren Gamborg gıda ortamında kallus elde etmişler ve kallusun yine bu büyümeye regulatörlerinin değişik dozlarını içeren gıda ortamına aktarılması halinde ise sürgünlerin gelişmesini sağlamışlardır.

Nehra ve ark.(1990) çilek yapraklarından yaptıkları kültürde değişik oranlarda BA ve 2,4 -D içeren Murashige-Skoog ortamında kallus oluşumunun, 10mg/l BA ve 1 mg/l NAA içeren ortamda ise kallustan sürgün oluşumunun iyi olduğunu belirlemişlerdir.

Badawi ve ark.(1990) yaptıkları bir çalışmada Bajaro, Tioga ve Tuft çilek çeşitleri ile 1 mg/lt IBA, 1 mg/l BA ve 0,1 mg/l GA3 içeren gıda ortamlarında yapılan kültürlerde sürgün gelişmesinin sağlandığını saptamışlardır.

Günver ve Tanrisever (1992) yapmış oldukları çalışmada değişik oranlarda BAP ve IBA içeren MS ortamlarında kallus farklılaşması bakımından fark bulamazken, aydınlatıcı koşulların karanlık koşullara göre daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir.

Klasik ıslah çalışmalarının yanında; mutasyon ıslahı,somoklonal varyasyon yaratma (hücre kültürü,kallus kültürü vb.) ve gen transferi yöntemleri de kullanılarak; verimli, kaliteli, hastalık ve zararlılara dayanıklı,değişik toprak tiplerine ve değişik ekolojilere uyabilecek çeşitlerin geliştirilmesi büyük önem kazanmaktadır.

“Somaklon” hücre kültürünün herhangi bir formundan oluşan bitkiyi, “smaklonal varyasyon” ise hücre kültürlerinden oluşan bitkiler arasındaki varyasyonu ifade etmektedir. Hücre kültürlerinde kromozon sayılarında değişme ve/veya mutasyonun meydana geldiği, somaklonal varyasyonun oluşumuna;karyotipik değişiklikler, kromozonları, somatik genlerin organellerin yeniden aranjmanı gibi farklı faktörler etkili olmaktadır (HANSON, 1984).

Bu çalışma ile *in-vitro* teknikleri kullanılarak oluşturulan kalluslardan rejenerasyon yaparak yeni bitkiler oluşturmak için en uygun gıda ortamı koşullarının saptanması amaçlanmıştır.

## METARYAL VE METOT

1997 yılında Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yürütülen çalışmada aşağıda belirtilen materyal kullanılmıştır:

-İki çilek çeşidinin (Cruz ve Y-110) genç yaprakları.

-Murashige-Skoog(MS) temel ortamı(Murashige ve Skoog 1962),

-Değişik büyümeye regulatörleri; oksin olarak Naftalin Asetik Asit (NAA) ve Indol Bütirik Asit (IBA), sitokinin olarak Benzyl Amino Purin(BAP).

Daha önceki araştırmalarla belirlenmiş olan 2,0 mg/l NAA+0,5 mg/l BAP içeren MS ortamında ve karanlık koşullarda elde edilen kaltuslar Çizelge 1'de verilen hormon konsantrasyonlarını içeren MS gıda ortamlarına regenerasyon amacıyla transfer edilmişlerdir.

Çizelge 1.Rejenerasyon ortamı olarak kullanılan hormon kombinasyonları

BAP mg/l	IBA mg/l				
	0	1,0	2,0	4,0	6,0
0	+	+	+	+	+
1,0	+	+	+	+	+
2,0	+	+	+	+	+
4,0	+	+	+	+	+
6,0	+	+	+	+	+
8,0	+	+	+	+	+

Her gıda ortamı için dörder adet kültür yapılmıştır.Kültürler 24°C sıcaklık ve 3000 lux ışıkta 16 saat aydınlichkeit, 8 saat karanlık ışık rejimine sahip çevre koşullarında gelişmeye alınmışlardır. Deneme deseni dört tekerrürlü tesadüf parselleridir. Her kültür ortamında gelişen sürgün sayıları ve gelişme hızları tekerrürler ortalaması olarak belirlenmiştir.Gelişme hızları (bitkicik sayısı ve gelişme durumuna göre) 0-5 skalaşına göre (0=hiç gelişme yok, 5=en iyi gelişme) puanlanmıştır.

## BULGULAR

Yalnız oksin ve yanlış sitokinin içeren ortamlarda farklılaşma gözlenmezken, kallus çoğalmasının değişik oranlarda devam ettiği gözlenmiştir. Ancak kallus gelişimi hiç bir ortamda karanlık koşullarda  $2,0 \text{ mg/l NAA} = 0,5 \text{ mg/l BAP}$  içeren MS ortamında oluşan çoğalma hızını göstermemiştir (GÖNÜLŞEN ve ark. 1996).

Tüm kombinasyonlarda elde edilen sürgün sayıları ve gelişme hızları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Ortamlar, çeşitlerin oluşturduğu bitkicik sayıları ve gelişme hızları

Ortamlar	Farklılaşan bitkicik sayısı		Gelişme hızları	
	Cruz	Yalova 110	Cruz	Yalova 110
MS 1 IBA+1 BAP	8	6	5	4
MS 1 IBA+2 BAP	3	2	3	2
MS 1 IBA+4 BAP	2	1	2	2
MS 1 IBA+6 BAP	2	2	1	1
MS 1 IBA+8 BAP	3	3	2	2
MS 2 IBA+1 BAP	0	0	0	0
MS 2 IBA+2 BAP	5	8	4	5
MS 2 IBA+4BAP	10	8	5	5
MS 2 IBA+6BAP	1	1	1	1
MS 2 IBA+8BAP	1	1	2	1
MS 4 IBA+1BAP	1	1	1	1
MS 4 IBA+2BAP	6	5	3	3
MS 4 IBA+4BAP	3	3	2	2
MS 4 IBA+6BAP	2	2	1	1
MS 4 IBA+8BAP	4	3	3	2
MS 6 IBA+1BAP	0	0	0	0
MS 6 IBA+2BAP	0	2	0	1
MS 6 IBA+4BAP	4	4	2	2
MS 6 IBA+6BAP	4	4	3	3
MS 6 IBA+8BAP	5	4	3	3

Rejenerasyon ortamı kullanılan kombinasyonlardan  $1,0 \text{ mg/l IBA} + 1,0 \text{ mg/l BAP}$ ,  $2,0 \text{ mg/l IBA} + 2,0 \text{ mg/l IBA} + 2,0 \text{ mg/l BAP}$ ,  $2,0 \text{ mg/l IBA} + 4,0 \text{ mg/l BAP}$ ,  $0,4 \text{ mg/l IBA} + 2,0 \text{ mg/l BAP}$ ,  $6,0 \text{ mg/l IBA} + 6,0 \text{ mg/l BAP}$ ,  $6,0 \text{ mg/l IBA} + 8,0 \text{ BAP}$  içeren

kombinasyonu en iyi sonucu vermiştir. Bu ortamla beraber Cruz çeşidinde MS 1,0 mg/l IBA+1,0 mg/l BAP; Yalova 110 çeşidinde de MS 2,0 mg/l IBA+2,0 mg/l BAP ortam kombinasyonları en iyi rejenerasyonu sağlamışlardır. Diğer hormon konsantrasyonlarında da değişik oranlarda kallus farklılaşması sağlanmıştır.

Kalluslardan farklılaşan bitkiler gelişme durumlarına göre puanlanmalarının yanında her ortam için sayısal olarak da sayılmışlardır. Elde edilen bitkicikler bakımından sayısal olarak da her iki çeşit içinde MS 2,0 mg/l IBA+4,0 BAP ortamı en yüksek değeri verirken; Cruz çeşidinde MS 1,0 mg/l IBA +1,0 mg/l BAP; Yalova 110 çeşidinde de MS 2,0 mg/l IBA +2,0 mg/l BAP ortam kombinasyonları ikinci sırada yer almışlardır.

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Kallustan rejenerasyon sağlamak için uygun ortam ve hormon konsantrasyonları; çeşit, kültüryapma zamanı, kültürün yapıldığı bitkinin kısmı, kültür koşulları vb. bir çok faktöre göre değişmektedir (BUTCHER ve INGRAM, 1978; JONES ve ark., 1988; GÖNÜLŞEN ve ark., 1996). Yapılan araştırma ile smoklonal varyasyon yaratmak amacıyla iki çilek çeşidinde (Cruz ve Yalova 110) *in vitro* koşullarda elde edilen kalluslardan yine *in vitro* koşullarda renejerasyon ile yeni bitkiler elde edilmesi için uygun gıda ortamları belirlenmiştir.

Cruz ve Yalova 110 çeşitlerinin her ikisi içinde 2,0 mg/l IBA+4,0 BAP içeren MS gıda ortamı en iyi renejerasyon ortamı olarak belirlenmiştir. Denemede yeralan diğer hormon konsantrasyonlarında değişik oranlarda farklılaşma olurken, bazı ortamlarda hiç farklılaşma gözlenmemiştir. Bulunan bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (NEHRA ve ark., 1990; GÜNVER ve TANRISEVER, 1992). Birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar sonucu ortaya konduğu gibi (HARTMAN ve KESTER, 1975; BUTCHER ve INGRAM, 1978) kallustan rejenerasyon yoluyla bitki elde etmede sitokinin oksin dengesi önemli bulunmuş, sadece oksin ve sadece sitokinin içeren, ortamlarda herhangi bir farklılaşma gözlenmemiştir.

Cruz çeşidinde rejenerasyonun Yalova 110'a göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çok araştırmada değişik çeşitlerin değişik ortamlara ve hormon konsantrasyonlarına gösterdikleri reaksiyonların farklı olduğu saptanmıştır (JONES ve ark., 1998; FOUCault ve LETOUZE, 1987; BADAWI ve ark., 1990).

### ÖZET

Çilekte smoklonal varyasyon oluşturabilmek için 2,0 mg/l NAA +0,5 mg/l BAP içeren MS ortamında ve karanlık koşullarda elde edilen kalluslar farklı hormon konsantrasyonları

İçeren MS ortamında kültüre alınmışlar ve yeni bitkiler elde edilmiştir. En uygun farklılaşma ortamını belirlemeye yönelik bu çalışmada, 1,0 mg/l IBA + 1,0 mg/l BAP, 2,0 mg/l IBA + 2,0 mg/l BAP ve 2,0 mg/l IBA + 4,0 mg/l BAP hormon konsantrasyonlarını içeren MS gıda ortamları Cruz hem de Yalova -110 çeşidi için en iyi sonucu vermişlerdir.

## SUMMARY

### **A Research on Formation of Somaclonal Variation by Means of Callus Culture in Cruz and Yalova-110 Strawberry (*Fragaria x Ananassa Duch.*) Cultivars**

For formation of somaclonal variation in strawberry cultivars, calluses were raised in MS media with 2,0 mg/l NAA+0,5 mg/l BAP in dark condition. Those calluses were cultured in MS media with different hormone concentrations and new plants were obtained. It MS media with 1,0 mg/l IBA + 1,0 mg/l BAP, 2,0 mg/l BAP ve 2,0 mg/l IBA + 4,0 mg/l BAP hormones concentrations were found to be the most suitable ones both for Cruz and Yalova -110 cultivars.

## KAYNAKLAR

**ANONİM, 1998.**Tarımsal Yapı (ürütim,fiyat,değer)1996. T.C.Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No:2097, Ankara.

**BADAWI,M.A., M.ALPHOUSE,A.BONDOK, and Y.A.HOSNI,1990.** Effect of some disinfectant treatments and different sodium chloride concentrations on the *in vitro* growth of some strawberry cultivars. *Egyptian Jour. of Hort.* 17(1): 17-24.

**BUTCHER, D.N. and D.S.INGRAM,1987.**Plant Tissue Culture. The Inst. Biol. Stud. in Biology No.65 Edward Arnold Publ.

**FOUCAULT, C. and LETOUZE, R., 1987.***In vitro* regeneration of strawberry plants from excides petiole segments and from flower buds. *Biologia Plantarum* 29 (6): 409-417.

**GÖNÜLŞEN, N., 1987.** Bitki Doku kültürleri yöntemleri ve uygulama alanları. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Yayın No.78.

**GÖNÜLŞEN, N.,ÖZCAN,Ö.,1983.**Asma (*Vitis spp*)nın doku kültürü ile üretilmesi üzerinde araştırmalar.TÜBİTAK, TOAG. VII. Bilim Kongresi 6-10 Ekim 1980. s: 445-466.

- GÖNÜLŞEN, N., ÖNAL,K., ERCAN, N. ve ÖZSEZGIN, E., 1996.**Callus culture of strawberry (*Fragaria x Ananassa* Duch.).II. Asia-Pasific conference on plant cell and Tissue Culture, July 29-August 1, Beijing, CHINA.
- GÜNVER, G.ve TANRISEVER, A., 1992.** Çilekte (*Fragaria x Ananassa* Duch) kallus oluşumu ve indirekt morgogenesis üzerine araştırmalar.Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 3-6 Ekim, Adana, Cilt 1:341-345.
- HANSON, M.R., 1984.**Cell culture and recombinant DNA methods for understanding and improving salt tolerance of plant.In: R.C.Stagles (ed.) Salinity tolarence in plants: Strategies for crop improvement.
- HARTMAN, H.T. and KESTER, D.E., 1975.**Plant proragation:Principles and pratices.Prentice-Hall, Inc. Engle Wood Cliffs, N.J. USA.
- JONES, O.P., WALLER, B.J. and BEECH, M.G., 1988.**Production of strawberry plants from callus culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 12 (3): 235-241.
- MURASHİGE, T.and SKOOG, F., 1962.**A revised medium for rapid growth and biassays with tobacco tissue cultures.Physiol. PLant. 15: 473- 497.
- NEHRA, N.S.,STUSHNOFF, C.and KARTH,K.K., 1990.**Regeneration of plant from immature leaf-devired callus of strawberry (*Fragaria x Ananassa*). Plant Science, 66: 119-126.
- PAYDAŞ, S.ve KAŞKA, N., 1992.** Türkiye için önemli olalilecek yabancı bazı yeni çilek çeşitleri. Derim, 9(2):71-79,Antalya.

## GEOMETRİSİ VERİLMİŞ BİR CAM SERA KONTRÜKSİYONUNDA, DEĞİŞİK YÜKLEME GRUPLARINA GÖRE ÇELİK MALZEME GİDERİNİN ARAŞTIRILMASI

Zeki AY<sup>(1)</sup>

Hüseyin CEVRI<sup>(2)</sup>

Gülhan DURMUŞ<sup>(3)</sup>

### GİRİŞ

Bugün ülkemizde olduğu gibi, bu sektörün gelişmiş olduğu diğer ülkelerde de 15-20 yıl öncesine kadar sera konstrüksiyon üretimleri tamamen veya kısmen tecrübe üzerine dayanıyordu. Mukavemet hesapları ya hiç yapılmıyor ya da nadiren yapılıyordu. Bu nedenle yapı ya ekonomik olmaktan uzak ya da emniyetsiz olarak yapılmaktaydı. Bütün bu olumsuzluklar, Hollanda da 1972-73 yıllarında seralarda meydana gelen toplam zararı 40 milyon gülden (1973 birim fiyatları ile) civarında olan iki şiddetli fırtınada açıkça ortaya çıktı. Bunun sonucunda yine Hollanda'da bulunan Wageningen'de IMAG ve Delft'te TNO enstitülerinde sera ihtiyaçlarını formule etmek için bir çok araştırmalar gerçekleştirildi.

Sonuçta Hollanda'da ve bugün bütün dünyada kullanılan büyük hacimli (wide span) ve venlo seraları olarak isimlendirilen iki konstrüksiyon üzerinde çalışıldı. Bütün bu çalışmaların sonucunda başta Hollanda da yine bunları örnek alan diğer ülkelerde de sera yapı standartları geliştirildi (NEN 3859 Greenhouses Structural Requirements 1978). Bu standartlar, rüzgar, kar ve bitkinin yükleri de dikkate alarak hazırlanmıştır. Standartlar aynı zamanda konsüksiyon malzemesi ve deformasyon sınır değerleri vb. bilgileri de kapsamaktadır.

Bilindiği gibi ülkemizde başta Ziraat Bankasının tesis kredileri yanında, son yıllarda uygulanan destekleme politikası sonucu Kaynak Kullanımı Destekleme Fonundan sadece Antalya'da 50 milyon \$ tutarında yeni sera tesis edilmiştir. Yine sadece Antalya'da yaklaşık 35 milyon \$ tutarında cam seranın yapıldığı bu dönemde, özellikle sera sebze yetiştiriciliğinde cam seranın tercih edildiği görülmektedir. Ülkemizde sera tasarımda bilgisayar kullanımı önceki yıllara dayanmakla birlikte halen belirli bir üretim standardına varılamamıştır. Bunun yanında, halihazırda cam sera tasarımda ciddi bir uygulamanın olmamasıümüzde önemli bir eksiklik olarak durmaktadır.

(1) Yard. Doç. Dr. S.D Ü Mühendislik Fakültesi İnşaat Bölümü - ISPARTA

(2) Dr/Zir.Yük.Müh. Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü - ANTALYA

(3) İnşaat Mühendisi S.D Ü Mühendislik Fakültesi İnşaat Bölümü - ISPARTA

Mevcut durumda veya dünden bugüne uygulandığı şekliyle sera projeleri, gerek üretici gerekse imalatçı açısından bir külfet olarak görülmekte ve uygulandığı şekliyle imalatlar projeye dayandırılmamaktadır. Bu nedenle, yeni geometri ve bölgelere göre belirlenmiş gerçek yük değerleri için tasarımlı yapılan seralar ile birlikte projesiz sera imalatı durumunun yaratabileceği milli servet kaybını önlemenin yanı sıra, yetiştircilik isteklerini optimum koşullarda sağlayabilecek standartların ortaya konulması büyük önem taşımakta ve bunun gerçekleştirilmeye olanağı bulunmalıdır.

Bu proje ile amaçlanan, geometrisi verilmiş bir sera konstrüksiyonunda, değişik yükleme gruplarına göre çelik malzeme giderinin araştırılmasıdır. Bu çalışma devam etmekte olan TOGTAG / TARP2060 TÜBİTAK projesinde bir alt başlık olarak yapılmıştır.

## MATERİYAL VE METOT

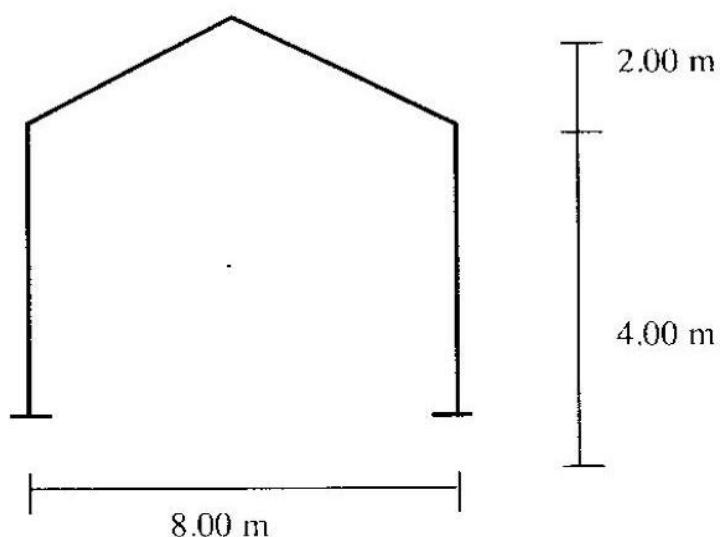
### İncelemeye Esas Konsrüksyon Ve Malzemesi

Çatı eğimi açısı  $\alpha$  :  $= 26.5650^\circ$

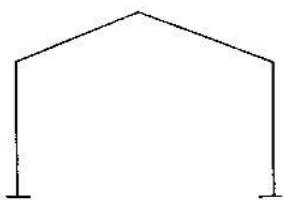
Çerçeve açıklığı : 8.00 m

Çevçeve aralığı : 4.50 m

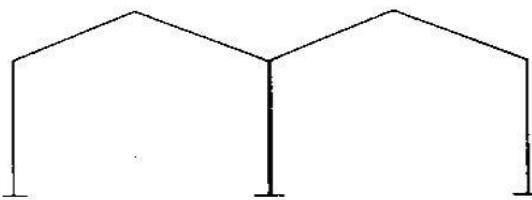
### Açıklık Tipleri



Şekil 1 İncelemeye Esas Konstrüksyon



**Tek açılıklı**



**İki açılıklı**

Şekil 2 Açıklık Tipleri

### Kesit Tipleri Ara çerçeve

Kolon : I profili

Kiriş : I profili

Aşırı : Ø

Gergi : Ø

### Kalkan Duvar Çerçeveesi

Kolon : I profili

Kiriş : I profili

Kuşak : [ profili

Orta dikme : I profili

Ara dikme : I profili

Cam taşıyıcı : Özel profil

### Yan Duvar Çerçeveesi

Dikme : [ profil, I profili

Cam Taşıyıcı : Özel Profil

Kuşak : [ profil

Çatı cam taşıyıcısı : Özel profil

Aşırı : I profil

Rüzgar bağlantıları : Ø

### Malzeme

#### Cam:

0.4 cm kalınlıklı Şişecam tarafından üretilen sera camı. Birim hacim ağırlığı 2.5 t/m<sup>3</sup> tür.

#### Konstrüksiyon malzemesi (st 37 yumuşak yapı çeliği):

Akma gerilmesi : 2.4 t/cm<sup>2</sup>

Kopma Gerilmesi : 3.7 t/cm<sup>2</sup>

Elastisite modülü : 2100 t/cm<sup>2</sup>

Birim hacim ağırlığı : 7.85 t/m<sup>3</sup>

Poisson oranı : 0.30