

BAZI *FRAGARIA CHILOENSIS* GENOTİPLERİNİN DEĞİŞİK NaCl KONSANTRASYONLARINA *IN VITRO* ÇOĞALTMA SIRASINDAKİ TEPKİLERİ

Ayfer A. TORUN¹, Yıldız AKA KAÇAR², Onur KILLI², Halil ERDEM¹, Pınar YARDIM¹, Sedat SERÇE³, Sezen İNAN⁴

¹Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü, Adana

²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana

³Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antakya

⁴Toros Agripark Laboratuvarları, Adana

ÖZET

Kültür çileği (*Fragaria ×ananassa*) Güney (*F. chiloensis*) ve Kuzey Amerika'dan (*F. virginiana*) iki ayrı türün doğal melezlemesiyle ortaya çıkmıştır. Genellikle ebeveyn türler kültür çileğine oranla daha geniş bir çeşitlilik göstermektedirler. Kültür çileği tuza hassas bitkiler arasında yer almaktayken, ebeveyn türlerden *F. chiloensis*'in tuza tepkisi daha önce bilinmemektedir. Bu nedenle tuza dayanıklı çilek genotiplerinin elde edilmesinde bu yabancı türün tuza dayanıklılığının test edilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada çilek çekirdek koleksiyonundan dört *F. chiloensis*'in (2 TAB 4B, CFRA 1267, HM1 ve Scotts Creek) *in vitro* koşullarda değişik NaCl konsantrasyonlarına (0, 25, 50, 75 ve 100 mM) tepkileri araştırılmıştır. 45 günlük deneme sonucunda çoğaltma katsayısı ve kuru ağırlık ile birlikte bazı besin elementlerinin (K, Ca, Mg, Na) bitkilerdeki konsantrasyonları belirlenmiştir. Deneme sonuçları, yüksek tuz konsantrasyonunun çoğaltma katsayısını azalttığı, kuru ağırlık, Ca, Na konsantrasyonlarını da etkilediği tespit edilmiştir. En yüksek bitki Na konsantrasyonları 75 ve 100 µM NaCl uygulamalarından, en yüksek Ca konsantrasyonu ise 0 ve 25 mM NaCl uygulamalarından elde edilmiştir. Genotiplerin kuru ağırlıklarında, K/Na ve Ca/Na oranlarında genelde NaCl konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak bir azalma gözlemlense de, bu azalma en düşük olarak da HM1 genotipinde kaydedilmiştir. Denemede elde edilen sonuçlar doku kültürü yoluyla çilek genotiplerinin yüksek NaCl konsantrasyonlarına tepkilerinin, hızlı ve etkili bir şekilde belirlenebileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Çilek, Doku kültürü, *Fragaria ×ananassa*, Stres, Tuz

RESPONSES OF SOME *FRAGARIA CHILOENSIS* GENOTYPES TO THE VARIOUS SALT (NaCl) CONCENTRATIONS DURING *IN VITRO* PROPAGATION

ABSTRACT

Cultivated strawberry (*Fragaria ×ananassa*) is the natural hybrid of two species from South (*F. chiloensis*) and North America (*F. virginiana*). The parental species usually have broader diversity when compared to the *F. ×ananassa*. Cultivated strawberry is known as a salt-sensitive species while the salt response of the *F. chiloensis* has not been tested experimentally. Therefore, it is important to test parental strawberry species *F. chiloensis* for salt tolerance to recover salt-tolerant strawberry genotypes. The response of four *F. chiloensis* (2 TAB 4B, CFRA 1267, HM1 and Scotts Creek) from super-core collection to the various NaCl concentrations (0, 25, 50, 75 and 100 mM) under *in vitro* conditions was tested. At the end of 45-day culture, several variables were collected including multiplication rate, dry weight and concentrations of some nutrient-elements (K, Ca, Mg, Na). The results indicated that high NaCl concentrations decrease the multiplication rate and affect dry weight and Ca and Na concentrations. The highest plant Na concentrations were obtained from 75 and 100 mM NaCl treatments, and the highest Ca concentrations were obtained from 0 and 25 mM NaCl treatments. In general, the dry weights of the genotypes, as well as K/Na and Ca/Na ratios decreased as the NaCl concentrations increased; the lowest decrease were observed in HM1. Our results indicated that tissue culture can be used as fast and efficient tool to screen responses of strawberry to the high salt concentrations.

Keywords: Strawberry, Tissue culture, *Fragaria ×ananassa*, Stress, Salt

1. GİRİŞ

Dünyada değişik ploidi düzeylerinde 20'den fazla çilek türü tanımlanmıştır (Staud, 1962). Ülkemiz florasında da bulunan yabani türler *Fragaria vesca* ve *F. viridis* diploid ($2n = 2x = 14$) iken, kültür çileği (*F. ×ananassa*) ve ebeveyn türler *F. chiloensis* ve *F. virginiana* oktoploid türlerdir ($2n = 6x = 56$) (Serçe ve ark., 2005). Çevre koşullarına adaptasyon bakımından ebeveyn türler genellikle kültür çileğinden daha geniş bir çeşitlilik içermektedirler (Hancock, 1999). Bu geniş çeşitliliğin bahçe bitkileri ıslahında gen kaynağı olarak daha etkin bir şekilde kullanımının sağlanabilmesi için, son yıllarda daha önce koruma altına alınmış çilek tür ve genotiplerinden bir çekirdek koleksiyon oluşturulmuştur (Hancock ve ark., 2002). Bu koleksiyonun, değişik ekolojilerdeki bahçe bitkileri özellikleri (Hancock ve ark., 2001), metal bromid ile fümige edilmeyen topraklardaki performansları (Osborn, 2003), düşük ve yüksek sıcaklıklarda CO₂ asimilasyon oranları (Serçe ve ark., 2002), kırmızı örümcek zararına dayanımları (Serçe ve Hancock, 2002), sera koşullarında değişik nematod türleri zararına dayanımları (Pinkerton ve Finn, 2005) gibi birçok agronomik özelliği araştırılmıştır.

Çilek çekirdek koleksiyonu içinde yer alan 38 genotipin yaklaşık yarısı *F. chiloensis*'tir. *Fragaria chiloensis* kumsal veya Şili çileği olarak ta bilinmektedir ve kültür çeşitlerinin ıslahından önce özellikle Şili ve Fransa'da kültürü yapılan bir türdür (Hancock, 1999). Çiçekleri 20-35 mm çapında, yaprakları genellikle kalın, koyu renkli ve parlaktır. Meyveler yuvarlak şekilli ve akenler meyve etine gömülü, meyve dış rengi beyazdan soluk kırmızıya kadar değişkenlik gösteren ve meyve eti beyaz olan bir çilektir (Carrasco ve ark., 2007).

Son yıllarda çilek genotiplerinin test edilmesinde *in vitro* uygulamalar basit, hızlı, görece olarak ucuz olmaları ve klasik denemelere oranla çevre koşullarından daha az etkilenmeleri gibi sebeplerden sıklıkla kullanılır olmuşlardır. Örneğin, Rugienius ve Stanys (2001) değişik çilek çeşit ve bu çeşitlerden üretilmiş açılım gösteren populasyonların düşük sıcaklıklara toleranslarını, Eikemo var ark. (2000) dokuz çilek çeşidinin *Phytophthora cactorum* etmeni tarafından oluşan kök çürüklüğü hastalığına dayanımlarını, Qin ve ark. (2005) değişik çilek genotiplerinin besin ortamlarındaki gümüş nitrata (AgNO₃) tepkilerini *in vitro* ortamlarda test etmişlerdir. Hammerschlag ve ark. (2006) ise çilek çeşitlerinin antraknoz hastalık etmenlerinden *Colletotrichum acutatum* patojenine karşı tepkilerini yine *in vitro* koşullarda belirlemişlerdir.

Kültür çileği tuza duyarlılığı yüksek türler arasında yer almaktadır (Pirlak ve Eşitken, 2004). Oysa *F. chiloensis*'in tuz stresine tepkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada, çekirdek koleksiyon içinde yer alan dört *F. chiloensis* genotipinin *in vitro* çoğaltılmaları sırasında beş değişik NaCl konsantrasyonunda (0, 25, 50, 75, 100 mM) test edilerek tuza dayanıklı çilek genotiplerinin elde edilmesinde umut verici bir ebeveyn olup olmadığı araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada genotip olarak daha önce oluşturulmuş çekirdek koleksiyon grubundan dört *F. chiloensis* genotipi (2 TAB 4B, CFRA 1267, HM1 ve Scotts Creek) kullanılmıştır. Genotipler, örneklendikleri yerler göz önünde bulundurularak, yüksek NaCl konsantrasyonlarına dayanım olasılığı en

yüksek olanlar seçilmiştir. Bitkilerin *in vitro* çoğaltımları daha önce belirlenen ortamlarda yürütülmüştür (Aka-Kaçar ve Çetiner, 1995; Aka-Kaçar ve ark., 2007). Bitkiler 21 °C sıcaklıkta ve $\approx 600 \mu\text{mol/sn/m}^2$ ışık yoğunluğunda 45 gün boyunca kültüre alınmışlardır. Bu süresinin sonunda deneme tamamlanmış, bitkilerdeki çoğaltma katsayıları belirlenmiştir. Deneme sonunda hasat edilen bitkinin yeşil aksamı 70 °C sıcaklıkta 2 gün süreyle bekletilerek kurutulmuşlar ve sonrasında kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Bitkilerdeki K, Ca, Na ve Mg konsantrasyonları ise yaş yakma metoduna göre Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre’de (Torun ve ark. 2007) saptanmıştır.

3. BULGULAR

Doku kültürü ile çoğaltılan *F. chiloensis* genotiplerinde en yüksek çoğaltma katsayısı NaCl bulunmayan ortamdan elde edilmiştir (Çizelge 1). En yüksek NaCl konsantrasyonu bulunan uygulamada ise en düşük çoğaltma katsayısı gözlenmiştir. Bu durum yüksek NaCl konsantrasyonun doku kültürü ile çoğaltılan çilek genotiplerinin çoğaltma katsayısına olumsuz etkisini göstermektedir. Genotip çoğaltma katsayıları ortalamalarında ise en yüksek katsayı HM1 en düşük katsayı ise CFRA 1267 genotipinde elde edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Değişik NaCl konsantrasyonlarında doku kültürü ortamlarında çoğaltılan *Fragaria chiloensis* genotiplerinin ortalama çoğaltma katsayıları

Genotip	NaCl konsantrasyonu (mM)					Ortalama
	0	25	50	75	100	
2 TAP 4B	4,1	1,3	--	2,0	1,7	2,3
CFRA 1267	1,4	1,4	1,1	1,0	0,9	1,2
HM1	2,4	1,8	3,5	3,0	1,4	2,4
Scotts Creek	1,7	2,0	1,3	0,9	1,3	1,4
Ortalama	2,4	1,6	2,0	1,7	1,3	1,8

Varyans analizleri denemede test edilen tüm değişkenler bakımından genotiplerin istatistiksel olarak farklı olduklarını göstermiştir (Çizelge 2). Tuz (NaCl) konsantrasyonu etkisi ise kuru ağırlık, Ca ve Na konsantrasyonları ile K/Na ve Ca/Na oranları için farklı bulunurken, K ve Mg konsantrasyonları için önemsiz bulunmuştur.

Denemeye alınan tüm genotipler arasından deneme sonunda konsantrasyonları belirlenen besin elementlerinin tamamı (K, Ca, Na, Mg) ve

test edilen oranlar (K/Ca ve K/Na) bakımından en yüksek değerler 2 TAB 4B genotipinden elde edilmiştir (Çizelge 3). Ca ve Mg bakımından öteki genotipler arasında istatistiksel farklılık tespit edilmemiştir. Tuz (NaCl) konsantrasyon ortalamaları denemede genotip Na konsantrasyonlarının istatistiksel olarak üç gruba ayrılmıştır (0 mM = c; 25 ve 50 mM = b; 75 ve 100 mM = a) (Çizelge 3). Bunlar sırasıyla düşük, orta ve yüksek NaCl konsantrasyonları olarak da değerlendirilebilir.

Çizelge 2. Değişik NaCl konsantrasyonlarında doku kültürü ortamlarında çoğaltılan *Fragaria chiloensis* genotiplerinin kuru ağırlıkları ve bazı besin elementleri ve oranlarına (K, Ca, Na, Mg, K/Na, Ca/Na) ait varyans analiz sonuçları.

Kaynak	sd	Kuru ağırlık	K	Ca	Na	Mg	K/Na	Ca/Na
Genotip (G)	3	4178,5**	365,6**	2,66**	78,6**	2,02**	146**	170,7**
NaCl (N)	4	2472,6**	46,0	0,56**	155,6**	0,09	1503**	23,8**
G x N	11	750,2*	32,3	0,22	14,7	0,14	121,9**	1,5**
Hata	171/76 ¹	364,4	20,2	0,13	9,2	0,13	4,5	0,3

¹Kuru ağırlık için hatanın serbestlik derecesi 171, öteki değişkenler için 76 dır.

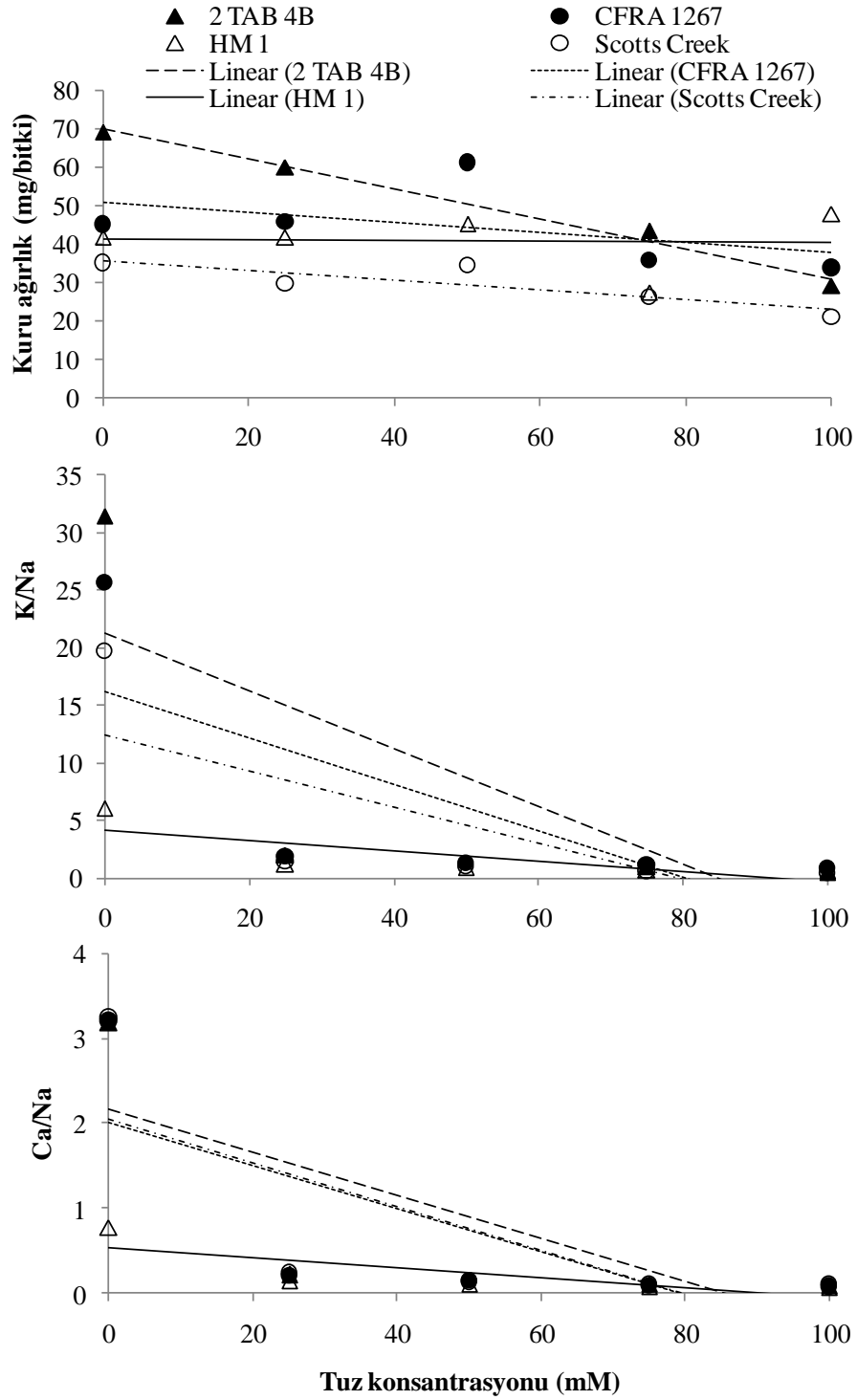
*, **Sırasıyla %5 ve %1 önem seviyelerinde önemli.

Çizelge 3. Değişik NaCl konsantrasyonlarında doku kültürüyle çoğaltılan *Fragaria chiloensis* genotiplerinin bazı besin elementleri (K, Ca, Na, Mg) konsantrasyonlarının ortalamaları.

Kaynak	K		Ca		Na		Mg	
Genotip								
2 TAB 4B	12,8	a ¹	1,3	a	7,2	a	1,0	a
CFRA 1267	6,9	b	0,7	b	4,8	ab	0,4	b
HM 1	5,2	bc	0,6	b	5,5	ab	0,3	b
Scotts Creek	3,0	c	0,5	b	2,8	c	0,3	b
NaCl konsantrasyonu (mM)								
0	8,1	öd	1,0	a	0,5	c	0,5	öd
25	8,0		1,0	a	4,9	b	0,5	
50	5,2		0,6	b	4,9	b	0,3	
75	7,1		0,7	b	7,3	a	0,6	
100	4,4		0,6	b	7,2	a	0,4	

¹Ortalamalar LSD metodu ile 5% önem seviyesinde karşılaştırılmıştır.

öd Önemli değil



Şekil 1. Değişik NaCl konsantrasyonlarında doku kültürüyle çoğaltılan *Fragaria chiloensis* genotiplerinin kuru ağırlık ortalamaları ve bu ortalamalar için oluşturulan linear (doğrusal) regresyon çizgileri.

Kuru ağırlık dışındaki tüm “genotip x NaCl konsantrasyonu” interaksyonları önemsiz çıkmıştır. Bu durum denemdeki genotiplerin test edilen bitki besin maddeleri konsantrasyonları bakımından NaCl konsantrasyon uygulamalarına benzer şekilde cevap verdiklerini göstermektedir. Ancak, kuru ağırlık ve K/Na ve Ca/Na bakımından istatistiksel olarak önemli bulunan “genotip x NaCl konsantrasyonu” interaksyonları, çilek genotiplerinde stres koşullarıyla oluşan ağırlık kayıpları bakımından genotipsel farklılıklar olduğunu göstermektedir. Genel olarak NaCl konsantrasyonundaki artışla birlikte bitki kuru ağırlıklarında bir azalma gözlemlenmiştir (Şekil 1). Bununla birlikte en yüksek “azalış hızı” olarak 2 TAB 4B genotipinde gözlenirken en düşük azalma HM1 genotipinde olmuştur. Benzer şekilde K/Na ve Ca/Na oranları, NaCl konsantrasyonundaki yükselişle azalsa da, genotiplerin doz artışına tepkileri farklı olmuştur. HM1’deki azalma öteki genotiplere oranla daha düşük olmuştur; ancak, HM1 0 mM NaCl uygulamasında da en düşük oranları vermiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dziadczy ve ark. (2003) *in vitro* koşullarda yüksek tuz konsantrasyonuna tepkilerini *F. ×ananassa* türüne ait çilek genotiplerinin dayanıklılıklarını belirledikleri çalışmada yüksek tuz konsantrasyonu olarak 75 mM NaCl kullanmışlardır. Denemeden elde edilen sonuçlar bütünsel olarak değerlendirildiğinde, 75 mM NaCl uygulamasının *F. chiloensis* türüne ait genotipler için de tuza dayanım performanslarını test edilmesi için

kullanılabilecek bir doz olduğunu göstermektedir (Çizelge 2 ve 3; Şekil 1). Dolayısıyla, deneme sonuçları test edilen *F. chiloensis* türü genotiplerinin genel olarak tuza dayanım bakımından *F. ×ananassa* türüne benzer olduğunu göstermektedir.

Bitkide K ve Mg konsantrasyonları bakımından NaCl konsantrasyon uygulamaları arasında farklılık gözlemlenmezken, bitki Ca konsantrasyonları 0 ve 25 μ M NaCl uygulama dozunda en düşük olarak saptanmıştır.

Tuz stresi bitkileri besin elementleri alımlarını azaltmak suretiyle etkilemektedir. Örneğin, stres altındaki bitkilerde K ve Na alımı azalmaktadır. Tuzluluk ayrıca bitki metabolizmasına öteki yollarla da zarar verebilmektedir. Örneğin, Na^+ ve Cl^- birikimi K^+ ve Ca^{++} alımını azaltarak hücrelerde iyonik dengesizliklere yol açabilmektedir. Bu sebeplerden K, Ca ve Na gibi elementlerin kendi konsantrasyonları yanında, bitki kuru ağırlığı gibi K/Na ve Ca/Na oranları da bitkilerin içinde buldukları stres seviyelerinin göstergesi olarak kullanılmaktadır. Denemede elde edilen önemli “genotip x NaCl konsantrasyonu” interaksyonları, *F. chiloensis* genotiplerinin NaCl konsantrasyona tepkilerinin değişik olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, *in vitro* koşullarda yürütülen bu çalışmada test edilen *F. chiloensis* genotipleri arasında tuza dayanımın en yüksek olduğu genotip olarak HM1 belirlenmiştir. Ayrıca, bu deneme ile doku kültürü ortamında çilek genotiplerinin yüksek tuz konsantrasyonlarına gösterdikleri tolerans düzeyinin hızlı ve etkili bir şekilde test edilebilecekleri de belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aka-Kaçar, Y., Çetiner, S. 1995. Çilek Çeşitlerinin Meristem Kültürü Yöntemi İle Çoğaltılmasında Gözlenen Değişimler. Türkiye II Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Adana. Cilt I: 351-355
- Aka-Kaçar, Y., Biçen, B., Torun, A. Serçe, S. 2007. Bazı Oktoploid Yabani Çilek Genotiplerinin Doku Kültürü Yoluyla Çoğaltılması. II. Ulusal Üzüm Sü Meyveler Sempozyumu, Tokat. 310-314.
- Carrasco, B., Garc'és, M., Rojas, P., Herrera, R., Retamales, J.B., Caligari, P. D.S., 2007. The Chilean Strawberry [*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.]: Genetic Diversity And Structure. Journal of the American Society for Horticultural Science, 132:501-506.
- Dziadczyk, P., Bolibok, H., Tyrka, M., Hortynski, J.A., 2003. *In Vitro* Selection Of Strawberry (*Fragaria ×ananassa* Duch.) Clones Tolerant To Salt Stress. Euphytica, 132:49-55.
- Eikemo, H., Stensvand, A., Tronsmo, A.M., 2000. Evaluation Of Methods Of Screening Strawberry Cultivars For Resistance To Crown Rot Caused By *Phytophthora cactorum*. Annals of Applied Biology, 137:237-244.
- Hammerschlag, F., Garces, S., Koch-Dean, M., Ray, S., Lewers, K., Maas, J., Smith, B.C., 2006. *In Vitro* Response Of Strawberry Cultivars And Regenerates To *Colletotrichum Acutatum*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 84:255-261.
- Hancock, J.F., 1999. Strawberries. CAB International, Wallingfer, UK.
- Hancock, J.F., Finn, C.E., Hokanson, S.C., Luby, J.J., Goulart, B.L., Demchak, K., Callow, P.W., Serçe, S., Schilder, A.M.C., Hummer, K.E., 2001. A Multistate Comparison Of Native Octoploid Strawberries From North And South America. Journal of the American Society for Horticultural Science, 126:579-586.
- Hancock, J. F., Hokanson, S.C., Finn, C.E., Hummer, K.E., 2002. Introducing A Supercore Collection Of Wild Octoploid Strawberries. Acta Horticulturae, 567:77-80.
- Osborn, C. 2003. Resistance Of Native And Cultivated Strawberry Genotypes To The Black Root Rot Syndrome. Master Thesis. Michigan State University.
- Pinkerton, J., Finn, C.E., 2005. Responses Of Strawberry Species And Cultivars To The Root-Lesion And Northern Root-Knot Nematodes. HortScience, 40:11-11.
- Pirlak, L., Esitken, A., 2004. Salinity Effects On Growth, Proline And Ion Accumulation In Strawberry Plants. Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science, 54:189-192.
- Qin, Y.H., Zhang, S.L., Zhang, L.X., Zhu, D.Y., Syed, A., 2005. Response Of *In Vitro* Strawberry To Silver Nitrate (AgNO₃). Hortscience, 40:747-751.
- Rugienius, R., Stanys, V., 2001. *In Vitro* Screening Of Strawberry Plants For Cold Resistance. Euphytica, 122:269-277.
- Serçe, S., Gündüz, K., Bakan, M., Paydaş, S., Kaşka, N., 2005. Ülkemizin Çilek Gen Kaynakları. Gıda Tarım, 68:60-64.
- Serçe, S., Hancock, J.F., 2002. Screening Of Strawberry Germplasm For Resistance To The Two-Spotted Spider Mite. 2002. HortScience, 37:593-594.
- Serçe, S., Callow, P.W., Ho, H., Hancock, J.F., 2002. High Temperature Effects On CO₂ Assimilation Rate İn Genotypes Of *Fragaria ×Ananassa*, *F. Chiloensis* And *F. Virginiana*. Journal of American Pomological Society, 56:57-62.
- Staud, G., 1962. Taxonomic Studies İn The Genus *Fragaria*: Typication Of *Fragaria* Species Known At The Time Of Linnaeus. Canadian Journal of Botany, 40:869-886.
- Torun, A., Aka-Kaçar, Y., Erdem, N., Yardım, P., Dölek, N., Serçe, S., 2007. Bazı Çilek Çeşitlerinin Demir Noksanlığına Dayanıklılığının Sera Koşullarında Belirlenmesi. II. Ulusal Üzüm Sü Meyveler Sempozyumu, Tokat. 111-118.