ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra TEPER

SEÇİLMİŞ ŞEFTALİ MELEZLERİNİN *İN VİTRO* DEMİR STRESİ ALTINDA MİKROÇOĞALTIM VE KÖKLENME PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2021

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEÇİLMİŞ ŞEFTALİ MELEZLERİNİN *İN VİTRO* DEMİR STRESİ ALTINDA MİKROÇOĞALTIM VE KÖKLENME PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ

Kübra TEPER

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Yıl : 2021, Sayfa : 49
Jüri : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ
: Doç. Dr. Özhan ŞİMŞEK

Şeftali, yetiştiriciliği yapılan ve ekonomik değeri olan meyve gruplarından biridir. Melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen değerli bitkilerin çoğaltılması için bitki doku kültürü çalışmaları önemli bir alternatiftir. Tez çalışmasında, 10 melez şeftali genotipinin *in vitro* demir stresi koşullarında mikroçoğaltım, performansları araştırılmıştır. Ayrıca, köklenme üzerine farklı besin ortamlarının (MS - Murashige and Skoog Medium, ½ MS ve WPM - Woody Plant Medium) etkisi incelenmiştir. *İn vitro* demir stresi denemelerinde farklı konsantrasyonlarda (%0, 25, 50 ve 100) $FeSO_4.7H_2O$ içeren (%100=27.8 mg/l) MS besin ortamı kullanılmıştır. Besin ortamlarına 1 mg/l BAP ilave edilmiştir. *İn vitro* demir stresi sonucunda çoğalma katsayısı (kardeş/bitkicik), bitki boyu (cm) ve yaprak sayısına (adet) veriler değerlendirilmiştir. Bitki boyu ve çoğalma katsayısı bakımından en başarılı demir dozu %25, yaprak sayısı bakımından ise en başarılı demir (Fe) dozu %50 olarak belirlenmiştir. Stres denemesi sonucunda Fe içermeyen besin ortamında kloroz yoğun gözlenirken, diğer tüm oranlarda daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Kök denemelerinde, yaprak sayısı, kök sayısı ve bitki boyu üzerine en başarılı ortamın WPM, bitki boyu üzerine ise en başarılı ortamın MS olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki doku kültürü, demir klorozu, *in vitro, Prunus*

ABSTRACT

MSc THESIS

DETERMINATION OF MICROPROPAGATION AND ROOTING PERFORMANCE OF SELECTED PEACH HYBRIDS UNDER *IN VITRO* IRON STRESS

Kübra TEPER

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTİCULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Year: 2021, Pages: 49
Jury : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ
: Assoc. Prof. Dr. Özhan ŞİMŞEK

Peach is one of the fruit groups that are cultivated and have economic value. Plant tissue culture studies are a strong alternative for the propagation of valuable plants obtained as a result of hybridization studies. In the thesis study, the micropropagation performances of 10 hybrid peach genotypes under *in vitro* iron stress conditions were investigated. In addition, the effect of different nutrient media (MS - Murashige and Skoog Medium, ½ MS and WPM - Woody Plant Medium) on rooting was investigated. MS nutrient medium containing $FeSO_4.7H_2O$ (100%=27.8 mg/l) at different concentrations (0, 25, 50 and 100%) was used in *in vitro* iron stress experiments. 1 mg/l BAP was added to the nutrient media. Micropropagation rate, plant height (cm) and number of leaves (number) data were evaluated as a result of *in vitro* iron stress. The most successful iron dose was determined as 25% in terms of plant height and micropropagation rate, and the most successful iron (Fe) dose was 50% in terms of leaf number. As a result of the stress experiment, chlorosis was observed intensely in the nutrient medium without Fe (0%), while better results were obtained in all other ratios. In root experiments, it was determined that the most successful medium on leaf number, root number and plant height was WPM, and the most successful medium on plant height was MS.

Keywords: Plant tissue culture, iron chlorosis, *in vitro*, *Prunus*

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Şeftalinin anavatanı Doğu Asya ve Çin'dir. Şeftali farklı iklimlerde uyumlu meyve türlerinden biridir. Şeftali yetiştiriciliği dünyada çok hızlı bir şekilde gelişmektedir. Ekonomik değeri de ülkemiz adına yüksek olduğu için bu gelişmede; çeşitlerin çok değişken ekolojilere uyum sağlayabilmesi, meyvelerin gösterişli ve lezzetli olması, çeşitlerin farklı zamanlarda olgunlaşması ve üretimin geniş bir zaman diliminde yapılabilmesi gibi özellikler önemli rol oynamaktadır. Şeftali, çevresel faktörler ve sağlıksız beslenme nedeniyle oluşan, sağlık açısından risk oluşturan serbest radikallerin vücuttan uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır. Yeterli A vitamini alımı, akciğer kanserine yakalanma riskini düşürmektedir. 1 adet şeftali işlendiğinde ise 8.1 g şeker, 1.5 g protein, 0.3 g ham yağ, 1500 mg K, 111 mg Ca, 0,4 mg Fe, 164 mg P, 2.5 g selüloz ve 0.3 g pektin posa alınmış olmaktadır**.** Bağışıklık sistemini kuvvetlendiren, kas oluşumuna destekleyici, derinin onarılmasında yenilenmesinde etkili olan C vitamini bakımından zengin, lif oranı yüksek değerli bir meyvedir. Şeftali, meyve olarak tüketiminin yanı sıra sanayide pek çok alanda kullanılan ekonomik açıdan önemli bir meyvedir. Meyve şurupları, salataları, suyu ve yoğurt vb. pek çok ürünün üretiminde faydalanılmaktadır.

Yeni özelliklerin elde edilmesi ve varyasyonlar oluşturmak amacıyla ıslahçılar melezleme yöntemine sıkça başvurmaktadırlar. Türlerarası melezleme, biyotik ve abiyotik strese dayanım gibi belirli özellikleri yabani akrabalarından kültür bitkilerine aktararak bitkilerin özelliklerini iyileştirmek için kullanılır. Türlerarası melezleme çok etkili bir gen transfer yöntemidir. Doğada, çiçekli bitki türlerinin %30-%35'i türlerarası melezleme ve ardından kromozom sayılarının ikiye katlanması ile meydana gelmişlerdir, bu sebeple hibrit çeşitlerde direnç daha yüksektir**.** Melez bireylerin gerek ıslahçı gerekse üretici açısından bazı avantajları bulunmaktadır. Melezleme ile verim arttırılmakta, hastalıklara ve olumsuz çevre şartlarına dayanıklı bitkiler elde edilmektedir. Şeftali bitkisinde değişik nitelikleri taşıyan yeni çeşitlerin ihya edilmesine yönelik sayısız ülkede farklı ıslah tasarıları

yürütülmektedir. Özellikle meyve rengi, sağlamlığı ve çekiciliği gibi ticari niteliklerinin geliştirilmesine yönelik faaliyetler yürütülmektedir. Tüm bu özelliklerinden dolayı *in vitro* koşullarda performansı incelenmesi gereken önemli bir bitki türüdür. Klasik doku kültürü teknikleri olarak adlandırdığımız agar vb ile katılaştırılmış besi ortamları, kitlesel üretimde başarıyı sağlayan ve ticari laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Bu tezde on melez şeftali genotipinde, RÜ-8, RÜ-46, RÜ-90, VÜ-61, VÜ-65, VÜ-70, VÜ-74, VÜ-78, VÜ-82, VÜ-89 sürgün uçları kullanılarak bitki doku kültürü teknikleriyle bitki rejenerasyonu sağlanmıştır. Sürgün uçları çeşitli besin ortamlarında (MS, ½ MS, WPM) kültüre alınmıştır. İlaveten bitkilerin köklendirilmesi için teşvik edici hormon IBA (İndol-3-bütirik asit) kullanılmıştır. Elde edilen köklü bitkiler dış koşullara alıştırılmıştır. Çalışma sonucunda her melez bireyin genotip etkisinden dolayı farklı ilerleme gösterdiği saptanmıştır. Tez içinde kullanılan genotiplerden Fe denemesi sonucunda en elverişli genotip RÜ-8 ve RÜ-46 olmuştur.

TEŞEKKÜR

Araştırma safhasında çok zevk aldığımız bu çalışmamızda bize bilgisiyle yol gösteren, bilime ve gözlem yeteneğimize katkı sağlayan, araştırma merakımızı güçlendiren danışmanım sayın Prof. Dr. Yıldız Aka KAÇAR a, şükranlarımı sunuyorum.

Tezimin değerlendirilmesinde katkı sağlayan Prof. Dr. N.Yeşim YALÇIN MENDİ ve Doç. Dr. Özhan ŞİMŞEK'e teşekkür ederim.

Tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyaller, TÜBİTAK-Prima 118O855 no'lu ve "Akdeniz Bölgesindeki Bazı Meyve Türlerinin İklim Değişikliğine Adaptasyonları" adlı projesinden temin edilmiştir. Bitkisel materyalin temin edilmesinde katkı sağlayan proje yürütücüsü Prof. Dr. Ayzin KÜDEN'e ve tüm proje ekibine teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında katkı ve görüşleri ile beni yönlendiren Dr. Dicle DÖNMEZ'e, Zir. Yük. Müh. Belgin BİÇEN'e, Zir. Yük. Müh. Melike CENGİZ'e, Dr. Emine ACAR'a, tez çalışmamın laboratuvar aşamasında bana yardımcı olan Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanları Tüt. Tek. Müh. Hakan MANSUR, Fatma KARA, Eda ARSLANKILIÇ'a, yüksek lisans öğrencisi Zeynep GİRİCİ'ye, ve Zir. Yük. Müh. Sevim GÖK'e teşekkürü borç bilirim.

Bu tez aşamasında manevi destek ve dostluklarını esirgemeyen arkadaşlarım Metalürji Malzeme Mühendisi Anıl BATTI'ya, Av. Elif TİLEKLİOĞLU'na, tezime yapmış oldukları katkılardan ve fedakarlıklarında dolayı bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca aldığım her kararda yanımda olan, maddi ve manevi her türlü desteğini benden esirgemeyen başta annem Nuran TEPER'e ve değerli aileme çok müteşekkirim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER VI
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ X
KISALTMALAR XII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 7
2.1. Şeftali ve Diğer *Prunus* Türlerinde Yürütülen Doku Kültürü Çalışmaları 7
2.2. *Prunus* Türleri ve Diğer Bitkilerde Yürütülen *in vitro* Demir Stresi Çalışmaları 11
3. MATERYAL METOD 15
3.1. Bitkisel Materyal 15
3.1.1. Üstün Çeşidi 15
3.1.2. Venüs Çeşidi 16
3.1.3. Stark Red Gold Çeşidi 16
3.2. Metod 17
3.2.1. Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu 17
3.2.2. Besin Ortamı ve Sürgün Uçlarının Kültüre Alınması 18
3.2.2.1. Solüsyon Kullanarak Sürgün Geliştirme İşlemi 20
3.2.3. *In vitro* Demir Stresi Altında Mikroçoğaltım Denemesinin Kurulması 21
3.2.4. Farklı Besin Ortamlarında Kök Denemesinin Kurulması 22
3.2.5. Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılması 24
3.2.6. Deneme Planı, İncelenen Kriterler ve İstatistiksel Analizler 24

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 27
4.1. *In vitro* Demir Stresi Koşullarında Mikroçoğaltım Denemelerine Ait Bulgular 27
4.1.1. Kardeşlenme Katsayısına Ait Bulgular 27
4.1.2. Bitki Boyuna Ait Bulgular 29
4.1.3. Yaprak Sayısına Ait Bulgular 31
4.2. Kök Denemelerine Ait Bulgular 33
4.2.1. Kök Sayısına Ait Bulgular 33
4.2.2. Kök Uzunluğuna Ait Bulgular 34
4.2.3. Yaprak Sayısına Ait Bulgular 36
4.2.4. Bitki Boyuna Ait Bulgular 36
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 41
KAYNAKLAR 43
ÖZGEÇMİŞ 49

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Yıllara göre (2010-2020) Türkiye şeftali üretimi 2
Çizelge 3.1. MS besin ortamı içeriği..... 19
Çizelge 3.2. WPM besin ortamı içeriği..... 23
Çizelge 4.1. Demir stresi altında kardeşlenme katsayısına ait veriler..... 28
Çizelge 4.2. Demir stresi altında bitki boyuna ait veriler 30
Çizelge 4.3. Demir stresi altında yaprak sayısına ait veriler..... 31
Çizelge 4.4. Kök sayısına (adet) ait veriler..... 33
Çizelge 4.5. Kök uzunluğuna (cm) ait veriler..... 35
Çizelge 4.6. Katı kültür yaprak sayısına (adet) ait veriler..... 36
Çizelge 4.7. Kök denemelerinde bitki boyuna (cm) ait veriler..... 37

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. 2019 yılında Dünyada gerçekleştirilen şeftali üretiminde Ülkelerin payı 3
Şekil 3.1. Üstün şeftali çeşidinin meyveleri 15
Şekil 3.2. Venüs nektarin çeşidinin meyveleri 16
Şekil 3.3. Stark Red Gold nektarin çeşidinin meyveleri 16
Şekil 3.4. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü deneme alanında bulunan sürgün uçlarının alındığı melez parselinden görüntü 17
Şekil 3.5. Sterilizasyon aşamalarından görüntü. 18
Şekil 3.6. Bitkilerin MS besin ortamında kültüre alınmasına ait görüntü 20
Şekil 3.7. Kalem aşılarının sürdürülmesi 21
Şekil 3.8. *İn vitro* demir denemelerinin kurulması 22
Şekil 3.9. Bitkilerin dış koşullara alıştırılması 24
Şekil 4.1. RÜ-46 genotipinin %25 Fe konsantrasyonu içeren besin ortamındaki görüntüsü 29
Şekil 4.2. VÜ-74 genotipinin %25 Fe içeren MS besin ortamındaki görüntüsü 30
Şekil 4.3. Farklı Fe oranlarında RÜ-8 genotipinin görüntüsü 32
Şekil 4.4. Farklı Fe oranlarında VÜ-74 genotipinin görüntüsü 32
Şekil 4.5. 1mg/l IBA içeren MS besin ortamında VÜ-82 genotipine ait görüntü 34
Şekil 4.6. 1mg/l IBA içeren WPM besin ortamında RÜ-8 genotipine ait görüntü 35

KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
BAP	:6-Benzylamino pürine
Cm	: Santimetre
dk	: Dakika
FAO	: Food and Agriculture Organisation (Gıda ve Tarım Örgütü)
Fe	: Demir
$FeSO_4 7H_2O$	: Demir sülfat heptahidrat
g	: Gram
GA_3	: Gibberallic acid
IBA	: Indolebutyric acid
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
Mm	: Milimolar
MS	: (Murashige ve Skoog, 1962)
RÜ	: Stark Red GoldxÜstün şeftali melezi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
WPM	: (WP, Lloyd ve McCown, 1980)
VÜ	: VenüsxÜstün şeftali melezi
µM	: Mikromolar

1. GİRİŞ

Şeftali (*Prunus persica*) *Rosaceae* familyasın *Prunus* cinsine ait çok yıllık bir bitki türüdür.

Şeftalinin Sistematiği:

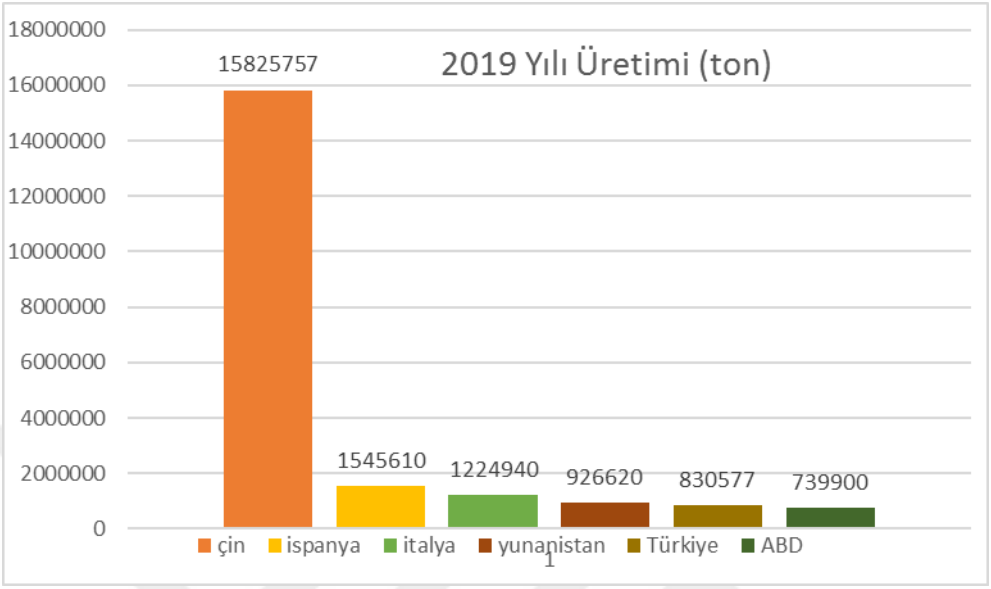
• Takım : Rosales
• Familya : *Rosaceae*
• Alt Familya: *Prunoideae*
• Cins : *Prunus*
• Tür : *P. persica* (L.) Batsch.
•Formlar : 1- Tüylü şeftaliler (*P. persica vulgaris* Mill.) 2- Tüysüz şeftaliler=Nektarinler (*P. persica* var. *nectarina* Maxim.) 3- Domates şeftalisi (*P. persica* var. *platycarpa*) şeklindedir.

Şeftalinin anavatanı Doğu Asya ve Çin'dir (De Candolle, 1967). Şeftali farklı iklim koşullarına uyumlu meyvelerdendir. Şeftali ilk çiçeklenen meyvelerdendir. Çiçeklenme takiben görülen ilkbahar geç donlarından zarar görürler. Yaz sıcaklığının yüksek olmadığı yerlerde yavaş gelişim gösterir ve meyve kalitesi yükselmez. Ülkemizde şeftali yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde iklimsel sıkıntı görülmez. Şeftali, farklı ekolojilere uyumlu olması nedeniyle dünyada çok geniş bir coğrafyaya dağılım göstermiştir. Günümüzde İngiltere ve Kuzey ülkeleri hariç tüm Avrupa'da yetiştiriciliği yapılmaktadır. Şeftali, çevresel faktörler ve sağlıksız beslenme nedeniyle oluşan, sağlık açısından risk oluşturan serbest radikallerin vücuttan uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır (Salçın ve Ercoşkun, 2021). Şeftali, A vitaminine dönüşen beta-karoten bakımından zengin bir meyvedir. Bir adet şeftali tüketildiğinde ise 8100 mg şeker, 1500 mg protein, 300 mg ham yağ, 1500 mg K, 111 mg Ca, 0.4 mg Fe, 164 mg P, 2500 mg selüloz ve 300g pektin posa alınmış olmaktadır (Ekşi, 1982). Bağışıklık sistemini

kuvvetlendiren, kas oluşumuna destekleyici, derinin onarılmasında ve yenilenmesinde etkili olan C vitamini bakımından zengin, lif oranı yüksek değerli bir meyvedir (Salçın, 2021). Şeftali, meyve olarak tüketiminin yanı sıra sanayide pek çok alanda kullanılan ekonomik açıdan önemli bir meyvedir. Meyve şurupları, salataları, suyu ve yoğurt gibi pek çok ürünün üretiminde faydalanılmaktadır (Bassi ve Pirazzoli, 1998). Şeftali yetiştiriciliği dünyada çok hızlı bir şekilde gelişmektedir. Bu gelişmede; çeşitlerin çok değişken ekolojilere uyum sağlayabilmesi, meyvelerin gösterişli ve lezzetli olması, çeşitlerin farklı zamanlarda olgunlaşması ve üretimin geniş bir zaman diliminde yapılabilmesi gibi özellikler önemli rol oynamaktadır. Türkiye 2019 yılı verilerine göre 830.577 ton üretim ile Dünya sıralamasında 5.sırada yer almaktadır (FAO, 2019). 2020 yılında Ülkemizde 892.048 ton şeftali üretimi gerçekleştirilmiştir (TUİK, 2020). Yıllara göre (2010-2020) Türkiye şeftali üretimi Çizelge 1.1'de, 2019 yılında Dünyada gerçekleştirilen şeftali üretiminde Ülkelerin payı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Yıllara göre (2010-2020) Türkiye şeftali üretimi (TUİK, 2020)

Yıllar	Üretim (ton)
2010	539.403
2011	545.902
2012	611.165
2013	637.543
2014	608.513
2015	642.727
2016	674.136
2017	771.459
2018	789.457
2019	830.577
2020	892.048



Şekil 1.1. 2019 yılında Dünyada gerçekleştirilen şeftali üretiminde Ülkelerin payı

Yeni özelliklerin elde edilmesi ve varyasyon oluşturulması amacıyla ıslahçılar melezleme yöntemine sıkça başvurmaktadırlar. Türlerarası melezleme, biyotik ve abiyotik strese dayanım gibi belirli özellikleri yabani akrabalarından kültür bitkilerine aktararak bitkilerin özelliklerini iyileştirmek için kullanılır. Türlerarası melezleme çok etkili bir gen transfer yöntemidir. Doğada, çiçekli bitki türlerinin %30 - %35'i türlerarası melezleme ve ardından kromozom sayılarının ikiye katlanması ile meydana gelmişlerdir, bu sebeple melez bireylerde direnç daha yüksektir (Stebbins, 1971). Melez çeşitlerin gerek ıslahçı gerekse üretici açısından bazı avantajları bulunmaktadır. Melezleme ile verim arttırılmakta, hastalıklara ve olumsuz çevre şartlarına dayanıklı bitkiler elde edilmektedir. (Karauz, 2013). Şeftali bitkisinde değişik nitelikleri taşıyan yeni çeşitlerin elde edilmesine yönelik sayısız ülkede farklı ıslah araştırmaları yürütülmektedir. Özellikle meyve rengi ve meyve kalite unsurları gibi ticari niteliklerinin geliştirilmesine yönelik faaliyetler yürütülmektedir. Abiyotik stres, karmaşık çevresel etkenlerin yol açtığı; ultraviole, değişken sıcaklık, kuvvetli ışık, donma, tuzluluk, ağır metaller kuraklık ve sınırlı

oksijen benzeri unsurlar içeren durumdur (Hirayama ve Shinoza, 2010). Abiyotik stres bitkinin topraktan gerekli besin ve minerallerin taşınmasında metabolik sorunlara yol açabilir, kalite ve verimini düşürebilir. Demir (Fe^{+}), canlılar için gerekli olan ve yeryüzünde en çok bulunan dördüncü elementtir (Marshner, 1995). Demir yeryüzünde çok miktarda mevcut bir element olmasına karşın, bitkilerde noksanlığı durumunda kloroza çokça rastlanmaktadır. Bitkilerde demir noksanlığına neden olan etmenler, kök aracılığı ile topraktan var olan demirin emilimini, bitki içinde aktarımını ve metabolizmasını engelleyen etmenlerdir. Bu etmenler; toprağın yüksek pH'sı, kalsiyum karbonat, toprak çözeltisinde fazla Ca^{++} ve HCO_3^- iyonları konsantrasyonu ve demirin öteki elementlerle etkileşimidir. Çorak ve yarı çorak topraklarda, kireçli topraklarda demir klorozu genel bir önemli bir sorundur (Sanz ve ark. 1997). Kalkerli topraklar Ca^{++} ve HCO_3^- konsantrasyonu ve pH'sı yüksek olan topraklardır (Vallejo ve ark, 2000). Demir-kloroz, özellikle kireçli topraklar içeren yarı kurak bölgelerde dünya çapında bir sorundur. Çoğu toprakta yeterli toplam demir bulunmasına rağmen, bitki için mevcut olan miktar, demir türleri ve bitki genotipi gibi faktörlere bağlıdır. Demir, gerekirse kök yüzeyinde demirli forma indirgenir ve kombine halde ksilem yoluyla yaprağa taşınır. Demir, yaprakta klorofil (Chl) oluşumu ve çeşitli demir içeren enzimlerin işleyişi için kullanılır. Klorofil, bitkilerde öncül δ-amino-levulinik asitten (ALA) oluşur. Bu ara madde, ALA, klorofil oluşumu için işlev görür ve ketoglutarat veya glutamat gibi 5 karbonlu bir substrat gerektiren bitkilerde birincil biyosentez yolu ile oluşturulabilir. Bu yol, akonitaz etkinliği ve/veya ferredoksin (Fd) oluşumu ile ilgili olarak demir tarafından aktive edilebilir. ALA sentezleyen enzimi aktive etmek için ferredoksin gerekli olabilir. Demir stresi olan bitkilerde Fd sınırlayıcı olur ve Chl biyosentezini doğrudan etkiler (Miller ve ark, 1984). Akdeniz Bölgesi topraklarının yoğun kalker içermesi sebebiyle bu yörede yetiştiriciliği yapılan meyve ağaçlarında demir klorozu ile karşılaşılmaktadır. Demir noksanlığı, kireçli topraklarda yetiştirilen bitkilerde sıkça görülür, nemli iklime sahip bölgelerde

yetiştirilen bitkilerin genelini, demir klorozu olumsuz etkilemektedir (Yadav ve Singh, 1988; Lopez-Millan ve ark, 2000).

Demir noksanlığına neden olan koşullar;

- Demir noksan ve serbest yada aktif kalker miktarı yoğun toprak,
- Ortamdaki HCO_3^- oranı,
- Ortamdaki aşırı su veya sulama,
- Toprağın sıkışmasına bağlı kök gelişiminin engellenmesi,
- Fosforun yüksek olması,
- Ekstrem miktarda ağır metaller (Mn, Cu ve Zn),
- Toprağın kötü havalanması (yüksek CO_2),
- Kalkerli ortamda potasyum noksanlığı,
- Nitratça bol azotlu gübre muameleleri,
- Yüksek değerde fizyolojik kireçli ve azotlu gübre uygulamaları,
- Aşırı sıcaklıklar ve yüksek ışık şiddeti,
- Çok düşük ya da çok yüksek organik madde içeriği,
- Ağaçlarda yüksek verim ile metabolizma ürünlerinin köklere yeterli miktarda aktarılamamasıyla kök gelişimi azalarak, ertesi sene demir alımının düşmesi,
- Nematod gibi canlılar nedeniyle köklerin zarar görmesi şeklinde sıralanabilir (Horuz ve ark, 2016).

Şeftali, demir noksanlığına duyarlı meyvelerden olup, demir yoksunluğunda önemli miktarlarda verim düşüşü olmaktadır. Ayrıca bu gibi durumlarda ciddi boyutta ağaç ölümleri de görülebilir. Şelatlı demir gübreleri demir klorozunu engellemede genel bir yöntemdir (Akgül ve ark, 2014).

Meyve anaçlarının *in vitro* koşullarda klonal üretimi gerek Türkiye'de gerekse Dünyada vazgeçilmez bir çoğaltım yöntemidir. Kısa sürede fazla miktarda

anaç bitki üretebilmek amacıyla *in vitro* çoğaltım tekniklerinden uzun yıllardır yararlanılmaktadır. *İn vitro* şartlarda gerçekleştirilen mikroçoğaltım, çevresel şartlardan bağımsız şekilde uygulanmakta ve klasik metodlarla çoğaltmaya seçenek sağlamaktadır (Hasan Ali Dagman, 2019). Mikroçoğaltım, bir bitkiden alınan kısımların (embriyo, tohum, sürgün vb.) yapay besin ortamlarında ve mikroorganizmalardan ari koşullar altında genetiksel açıdan benzer olan çok sayıda bitkiyi, seri üretim için kullanmada elverişli bir doku kültürü tekniğidir (Mansuroğlu ve Gürel, 2001). Pek çok bitki türünde uygulanan mikroçoğaltım çalışmaları yüksek potansiyel sağlayıp; zamandan kazanç, hızlı ve sınırlı alandan yüksek performans sağlamaktadır (Aka-Kaçar ve ark, 2001). *In vitro* tekniklerden mikroçoğaltım tekniği ile kısa sürede mikroorganizmadan ari, sağlıklı bitki üretimi yapılabilmektedir (Kozai ve ark, 1997).

Bu tez çalışmasında, şeftalilerde gerçekleştirilen melezleme çalışmaları sonrasında elde edilen melez bireylerden seçilen 10 bireyin *in vitro* demir stresi altında mikroçoğaltım ve farklı besin ortamlarında köklenme verimlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Şeftali ve Diğer *Prunus* Türlerinde Yürütülen Doku Kültürü Çalışmaları

Hepaksoy (2004), çalışmasında, klonal kiraz anaçlarından Gisela 5 ve Gisela 6'nın sürgün ucu metodu ile *in vitro* koşullarda çoğalma ve gelişme sürecine istinaden elverişli besin ortamlarını saptamaya çalışmıştır. Çalışma sonunda, Gisela 6 anacının çoğalma eğiliminin Gisela 5'ten daha yüksek olduğu belirlenmiştir. çogunlukla çoğalma üzerine düşük konsantrasyonda GA_3'ün herhangi bir etkisinin bulunmadığı, GA_3'ün konsantrasyonun arttırılması durumunda çoğalmanın olumsuz yönde etkilenmeye başladığını ifade etmiştir. Yapılan çalışmada en elverişli besin ortamının 1 mg/l BA + 0.5 mg/l IBA / NAA içeren MS besin ortamı olduğu bildirilmiştir.

Özden (2007), yapmış olduğu çalışmada, badem anacı olarak kullanılan Garnem (GN-15) melez (*P. dulcis* x *P. persica*) anacının *in vitro* rejenerasyonu için protokol oluşturmuştur. Boğum eksplantları değişik konsantrasyonlarda (0.5-2.0 mg/l) BA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Daha sonra 2.0 mg/l BA'lı MS besin ortamında kültüre alınan boğum eksplantlarında büyük oranda kardeşlenme olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada, sürgün boyunun uzamasında en etkili kültür ortamının 0.5 mg/l BA, 30 g/l sukroz ve 5.5 g/l agar içeren MS besin ortamı olduğu belirlenmiştir. Boyları uzayan sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla sürgünler, 0.5-2.0 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamına aktarılmıştır. Yapılan çalışmada en iyi köklendirme ortamının 2 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamı olduğu, ilgili ortama ait köklenme oranının %42.8 olduğu ve köklü bitkilerin %47.2 sinin dış koşullara aktarıldığı rapor edilmiştir.

Çelik (2008), AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotipleri ile Ferragnes badem, Francoise şeftali ve Ninfa kayısı çeşitlerine ait sürgün uçlarını kullanarak mikroçoğaltımını gerçekleştirmiştir. Araştırmada MS makro ve mikro besin elementleri, vitaminleri ve Fe-NaEDTA kompozisyonu kullanmıştır. Sürgün geliştirme ve çoğaltmada 1.0 mg/l BA ve 0.1 mg/l GA3 konsantrasyonları

kullanılmıştır. Kardeşlenmede en iyi sonucun 1 mg/I BA içeren besin ortamda görüldüğü vurgulanmıştır. Çalışma sonunda 1.0 mg/l BA kullanılmasının sürgün getirisi ve gelişmesini pozitif şekilde etkilediği bildirilmiştir.

Arıcı (2008), yapmış olduğu çalışmada, MaxMa 14, MaxMa 60, Myrobolan 29-C, GN ve GF 677 anaçlarının sürgün uçları ve yan sürgünlerini kullanarak doku kültürü ile çoğaltma olanaklarını araştırmıştır. Eksplantlar 1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, 1 mg/l BAP+ 0.2 mg/l NAA, 2 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, 2 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA, 1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA+0,5 mg/l GA_3, 1 mg /L BAP+ 0.2 NAA+0.5 mg/l GA_3, 2 mg/l BAP+0.02 NAA+0.5 mg/l GA_3, 2 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA+0.5 mg/l GA_3 bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS ortamında kültüre almıştır. Ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Ancak, en fazla sürgün oluşumunun Myrobolan' da MS+1 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA, MaxMa 60'da MS+2 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, MaxMa 14'da MS+2 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA+0.5 mg/l GA_3, GF 677'da MS+1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, GN 'de MS+1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA+ 0.5 mg/l GA_3 içeren ortamlarda görüldüğü bildirilmiştir.

Demiral ve Ülger (2008), yapmış oldukları çalışmada, Gisela-5 anacının *in vitro* koşullarda çoğaltma olanaklarını araştırmışlardır. Yan ve tepe tomurcuklar eksplant olarak kullanılmış ve sterilizasyon aşamasından sonra eksplantlar 1.0 mg/l IBA + 0.75 mg/l BA, 1.0 mg/l IBA + 1.0 mg/l BA, 2.0 mg/l IBA + 0.75 mg/l BA ve 2.0 mg/l IBA + 1.0 mg/l BA içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Köklendirmede 0, 1, 2, 4 ve 6 mg/l NAA eklenmiş MS besin ortamları kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, mikroçoğaltımda en çok sürgün miktarı 2.93 adet ile 1.0 mg/l IBA + 0.75 mg/l BAP ve en iyi sürgün boyu 1.68 cm ile 2.0 mg/l IBA + 1.0 mg/l BAP muamele edilmiş modifiye ortamlardan sağlanmıştır. En iyi köklendirme ise %92.88 ile 6 mg/l NAA uygulamasında saptanmıştır.

Güçlü ve ark. (2010), Gisela 5, MaxMa 14, MaxMa 60 ve SL 64 klonal kiraz anaçlarının doku kültürü yoluyla çoğaltma olanaklarını araştırdıkları çalışmada eksplant olarak sürgün uçlarını kullanmışlardır. Bu amaçla ekplantlar,

farklı büyüme düzenleyici kombinasyonları ilave edilmiş MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Sürgün uzunluğu bakımından ise en iyi sonuçların 1 mg/l BAP + 0.02 mg/l IBA + 0.5 mg/l GA_3 (1.44 -1.50 cm) ve 1 mg/l BAP + 0.02 mg/l IBA + 1 mg/l GA_3 (1.43-1.61 cm) ilave edilmiş ortamlardan elde edildiği gözlenmiştir.

Dejampour ve ark. (2011), HS314 şeftali badem anacı için mikroçoğaltım protokolü geliştirmişlerdir. Çalışmada, yüzey sterilizasyonu yapılmış boğum eksplantları %3 sükroz, 100 mg/l phloroglucinol, %0.7 agar ve 0.5 mg/l BA içeren modifiye DKW ortamında kültüre alınmıştır. 2 mg/l BA içeren besin ortamında maksimum sürgün sayısı elde edilmiştir. Kök sayısı ve kök uzunluğu en yüksek 2 mg/l IBA içeren besin ortamında sağlanmıştır.

Erbaş (2011), Myrabolan 29C ile Garnem (GN15) anaçlarının *in vitro* koşullarda klonal üretimini gerçekleştirmiştir. 2-3 yaşındaki anaçların sürgün gözü, yaprak ve petiolleri Gamborg B5 vitaminlerini içeren modifiye MS ortamında kültüre alınmıştır. Sürgün teşviki çalışmalarında, Myrobalan 29C sürgün gözlerinde, en yüksek sürgün sayısı (3.00) ve en uzun sürgün gelişimi (18,67 mm) 4 mg/l KIN içeren modifiye MS besin ortamında meydana gelmiştir. Garnem anacı ise sürgün gelişimi saptanmamış olup, kallus meydana gelmiştir. Anaçların yaprak ve yaprak sapı (petiol) eksplantlarında ise kallus oluşumu dışında sürgün gelişimi saptanmamıştır. Kardeşlenme denemelerinde, Myrobolan 29C'nin kültüre alınan her sürgün gözünde ortalama üç kardeş (sürgün) oluşumu saptanmış olup, en yüksek sürgün sayısı (4.778), 2.0 mg/l BAP+2.0 mg/l KIN+0.5 mg/l NAA içeren modifiye MS ortamında, en yüksek sürgün uzunluğu (11.167 mm), 1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l KIN+0.5 mg/l IBA içeren modifiye MS ortamında meydana gelmiştir. Kültüre alınan Garnem anacı sürgün gözlerinde ise kallus ile birlikte birkaç yaprak oluşumu gözlemlenmiştir. Köklenme çalışmalarında kullanılan hormon kombinasyon ve konsantrasyonlarında, bitkilerde kök oluşumu saptanmamıştır. Garnem'de kallus oluşumu meydana gelmiştir.

Sulusoglu ve Çavuşoğlu (2013) yapmış oldukları çalışmada, *P. laurocerasus* L.'nin *in vitro* mikroçoğaltımı için bir protokol geliştirmişlerdir.

Eksplantlar, kontrol grubuyla birlikte 6 farklı BA konsantrasyonu içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Sonuç olarak köklemenin 0.5 mg/1 IBA içeren MS ortamı olduğu gözlenmiştir. Köklerin sayısı ve uzunluğu sırasıyla 4.17 sürgün/eksplant ve 3.29 cm olarak bulunmuştur. 0.5 mg/1 IBA ilave edilmiş besin ortamında köklenmiş ve hayatta kalma oranı %77.3 olarak tespit edilmiştir.

Hepaksoy (2017), yapmış olduğu çalışmada, GF 677 klon anacının in vitro koşullarda çoğaltılması hedeflenmiştir. Bu amaçla MS besi ortamı ve bitki büyüme düzenleyici olarak BAP kullanılmıştır. BAP konsantrasyonu arttıkça canlılık oranı da artmıştır. En çok çoğalma 2.0 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA_3 muhteva eden MS ortamından sağlanmış, genel olarak besin ortamında GA_3 eklenmesinin kardeşlenme miktarını çoğalttığı gözlemlenmiştir. *In vitro* şartlarda bitkilerin köklenmesinde NAA, IBA'e nispeten daha olumlu sonuç göstermekle beraber, istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Besin ortamına 1.0 ve 1.5 mg/l NAA veya IBA eklenmesi en yüksek köklenme oranlarını sağlamıştır. 1 ve ½ MS besin ortamının kullanılması köklenmeye benzer interaksiyon göstermiştir.

Bulunuz-Palaz ve Uğur (2018), yapmış oldukları çalışmada, klonal anaç adayı SP-2 (*P. spinosa*)'nin *in vitro* mikroçoğaltım performansını incelemişlerdir. Çalışmada, modifiye MS besin ortamı kullanılmıştır (MS-1 (0.75 mg/l TDZ, 0.5 mg/l NAA, 0.5 mg/lGA_3) MS-2 (1.5 mg/l TDZ, NAA, 1.5 mg/l NAA, 0.5 mg/l GA_3), MS-0 (bitki büyüme düzenleyici içermeyen MS)). Çalışma sonunda eksplant başına en yüksek kardeş sayısının MS-1 ortamından (12.60 adet/eksplant) ve en uzun sürgün uzunluğunun 14.19 mm değeriyle MS-0 ortamından elde edildiği saptanmıştır. Çalışma sonunda en yüksek kardeşlenme oranının elde edildiği ve daha az miktarda bitki büyüme düzenleyicisinin kullanıldığı MS1 ortamının, MS2 ortamına göre daha başarılı ve ekonomik olduğu bildirilmiştir.

2.2. *Prunus* Türleri ve Diğer Bitkilerde Yürütülen *in vitro* Demir Stresi Çalışmaları

Muleo ve ark (1995), ayva anacı olan "MA" klonu; ve "Ct.S.212'nin *in vitro* kültürde demir (Fe) eksikliği koşullarında inceleme yapmışlardır. Bu çalışmanın hedefi ilk olarak, ayvada Fe etkinliğinin değerlendirilmesi ve tarama protokolü olarak doku kültürü tekniğinin kullanımını geliştirmek olmuştur. İkinci olarak, demir stresine yanıttaki varyasyonla ilişkili morfofizyolojik karakterleri belirlemek hedeflenmiştir. MS ortamının demir içeriği, kloroz semptomlarını indüklemek için standart içeriğin %80, %65, %50, %25 ve %15'ine düşürülmüştür. Çalışma sonucunda "Ct.S.212"; "MA" klonundan daha yüksek bir çoğalma katsayısı ve gelişme gösterirken, %15 ve %25 Fe muamelelerinde her iki klonda da kloroz semptomları gözlenmiştir.

Lambardi ve ark (2003) çalışmalarında, şeftali anacı Mr.S 2/5 üzerinde *in vitro* olarak indüklenen demir eksikliği stresinin bazı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yönlerini incelemişlerdir. Çalışmada iki farklı uygulama gerçekleştirilmiştir. Tamamen demir içermeyen MS ortamında ve 1 mM potasyum bikarbonat içeren MS ortamında yetiştirilen bitkilerin, uygulamaların başlangıcından 10 ve 20 gün sonra yaş ve kuru ağırlık, klorofil ve karotenoid içeriği ölçülmüştür. Demir yokluğunda veya bikarbonat varlığında bitkilerin, taze ve kuru ağırlıklarında önemli bir düşüş gözlenmiştir. Şeftali anaçları, klorofil ve karotenoid konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak şiddetli bir kloroz göstermiştir.

Akgül ve Uçgun (2011), elma, kiraz ve şeftali türlerinden farklı şiddetlerde demir eksikliği görülen yaprak örneklerini almışlar ve demir analizi yapmışlardır. Araştırma neticesinde aktif demir sonuçlarıyla Fe klorozu şiddetleri arasında bağ tespit edilmiştir ve 4 farklı Fe eksikliği seviyesi için sınır değerler saptanmıştır. Böylece aktif demir oranları; elmada, 1. düzeyde 4 ppm'den az, 2. düzeyde 4-6,5 ppm, 3. düzeyde 6.5-8.5 ppm ve 4. düzeyde ise 8.5 ppm'den çok; kirazda, 1. düzeyde 4.5 ppm'den az, 2 düzeyde 4,5-8,5 ppm, 3. düzeyde 8,5-13 ppm ve 4.

düzeyde 13 ppm'den çok; şeftalide ise 1. düzeyde 6.5 ppm'den az, 2. düzeyde 6.5-11 ppm, 3. düzeyde 11-18 ppm ve 4. düzeyde 18 ppm'den çok olarak sınıflandırılmıştır. 1. düzeydeki örnekler en fazla demir klorozu gösterirken, 4. düzeyde hiç demir eksiliği görülmediği bildirilmiştir.

Claveria ve ark., (2012) demir klorozuna karşı toleransı artırmayı amaçlayan armut anacı ıslah programı geliştirilmişlerdir. Çalışmada *Pyrus amygdaliformis, P. amygdaliformis ssp. persica, P. elaeagrifolia ve P. communis ssp. cordata* türlerarası melezlerden elde edilen seksen altı genotip ve kontrol olarak kullanılan açık tozlanma ile elde edilen *Pyrus communis* Williams çeşidi kontrol olarak kullanılmıştır. Genotipler *in vitro* koşullarda çoğaltılmış ve köklendirilmiştir. Köklü bitkicikler, dış koşullara alıştırılmadan önce genotip başına altı ila sekiz tekrar kullanılarak demir klorozuna tolerans açısından *in vitro* koşullarda test edilmiştir. Her klona ait on iki bitki arazi koşullarına aktarılarak "Conference" çeşidi ile aşılanmış ve 2 yıl boyunca gözlemler yapılarak kloroz seviyeleri ölçülmüştür. *In vitro* ve arazi koşullarında elde edilen değerler karşılaştırılmıştır. *İn vitro* performans ile arazi denemeleri her melez için birbirlerinden farklı bulunmuştur. En uyumlu sonuçlar, *P.amygdaliformis, P. communis* var. *cordata* ve *P.elaeagrifolia* olmuştur. *In vitro* seleksiyon sonuçlarına göre en yüksek demir klorozuna dayanıklılık *P. amygdaliformis* var. *persica* ve *P. amygdaliformis, P. communis* var. *cordata* dan elde edilen bireylerde olmuştur. En iyi performans gösteren klonlar, *P. amygdali formis, P. communis ssp. cordata ve P. amygdaliformis var. persica* olmuştur.

Torun ve ark (2014) octoploid *Fragaria chiloensis* (L.) Mill. ve *F. virginiana* Mill. genotiplerinin *in vitro* koşullarda Fe denemelerine karşı tepkilerini değerlendirmişlerdir. İlk denemede HM 1, Pigeon Point, CFRA1267 ve CA1541 genotiplerinin farklı Fe konsantrasyonlarında (%0, %10, %15, %25, %50, %65, %80 ve %100) tepkileri incelenmiş ve sonuç olarak test edilen genotipler arasında bitki boyu, taze ve kuru ağırlık ile makro ve mikro element konsantrasyonlarında farklılıklara neden olmuştur. İkinci deneyde ise 16 octoploid *Fragaria* genotipi, 4

Fe konsantrasyon işlemi (%0, %10, %50 ve %100) ile test edilmiştir. 16 genotip, farklı Fe uygulamalarına farklı tepkiler vermiştir. Bu deneylerin sonuçları, *F. chiloensis* ve *F. virginiana* genotiplerinin *in vitro* koşullarda farklı Fe uygulamaları altında önemli varyasyon sergilediğini ve daha dirençli genotiplerin, düşük Fe konsantrasyonlarına toleranslı yeni çilek çeşitleri geliştirmek için kullanılabileceğini ortaya çıkarmıştır.

Ahmed ve ark (2015) yapmış oldukları çalışmada, bezelyelerde Fe eksikliğine toleranslı genotipleri belirlenmeyi hedeflemişlerdir. Genotip olarak Avustralya (Santi, Parfield, BC11, BC191, BC 17 ve BC14) ve Bangladeş (BARI-1 ve IPSA-2) genotipleri seçilmiştir. Fe eksikliği, *in vitro* koşullarda MS ortamında yetiştirilen Parafield, BC17 ve IPSA-2'de klorofil a ve b konsantrasyonlarında ciddi düşüşe neden olurken; klorofil a ve b konsantrasyonlarının Santi, BC11, BC91, BC14 ve BARI-1'de önemli ölçüde azalma göstermediği gözlenmiştir. Ayrıca, Parafield, BC17, BD14 ve IPSA-2'de yaprak sayısı, sürgün boyu ve ağırlığı önemli ölçüde azalmış; Santi, BC11, BC91 ve BARI-1 ise Fe eksikliğine bağlı olarak bahsedilen büyüme parametrelerinde belirgin bir düşüş göstermediği tespit edilmiştir. Yine Parafield, BC17 ve IPSA-2, Fe noksanlığında kök uzunluğunda ve kök biyokütlesinde önemli azalma gösterirken Santi, BC11, BC91, BC14 ve BARI-1'de Fe eksikliğine kontrollere göre değişme göstermediği tespit edilmiştir. Bu bulgulara dayanarak, bu bezelye genotiplerinde Fe eksikliğine tolerans sıralaması şu şekilde oluşmuştur; demire toleranslı (Santi, BC11, BC91, BARI-1), demire orta toleranslı (BC14) ve demire hassas (Parafield, BC17, IPSA2) genotipler olarak kategorize edilmiştir.

3. MATERYAL METOD

3.1. Bitkisel Materyal

Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak Tübitak-PRIMA (118O855) projesi kapsamında değerlendirmeye alınan melez şeftali genotipleri içerisinden 10 adet şeftali melezi kullanılmıştır.

Çalışmada ‘‘Üstün’’ isimli yerli şeftali çeşidi baba ebeveyn, ‘‘Venüs’’ nektarin çeşidi ise ana ebeveyn olarak kullanılan VÜ melez bitkileri ve yine ‘‘Üstün’’ baba ebeveyn ‘‘Stark Red Gold’’ nektarin çeşidinin ana ebeveyn olduğu RÜ melez bitkileri kullanılmıştır.

3.1.1. Üstün Çeşidi

J.H. Hale şeftali çeşidinden tomurcuk mutasyonu sonucu oluşmuş bir şeftali çeşididir. Ekim ayının ilk haftası ile üçüncü haftası arasında, oldukça geç olgunlaşır (1400-1500 rakım). Meyve kabuğu oldukça tüylü, sarı zemin üzerinde kırmızı yanaklı, meyve sapı kısa, meyve eti sert ve sarı renkli olup, meyve oldukça güzel bir aromaya sahiptir. Yola dayanımı çok iyidir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Üstün şeftali çeşidinin meyveleri (Çömlekçioğlu, 2014)

3.1.2. Venüs Çeşidi

Sarı etli, geççi bir nektarin çeşididir. İrilik, renk ve tat bakımından iyi özelliklere sahiptir (Şekil 3.2). Venüs çeşidinin meyveleri, Stark Red Gold çeşidinden 10 gün kadar daha geç olgunlaşır (Çömlekçioğlu ,2014).



Şekil 3.2. Venüs nektarin çeşidinin meyveleri (Çömlekçioğlu, 2014)

3.1.3. Stark Red Gold Çeşidi

Sarı etli, meyveleri geç olgunlaşan bir nektarin çeşididir. İrilik, renk ve tat bakımından oldukça iyi özelliklere sahiptir. Stark Red Gold çeşidinin meyveleri, Venüs çeşidinden 10 gün daha erken olgunlaşır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Stark Red Gold nektarin çeşidinin meyveleri (Çömlekçioğlu, 2014)

Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü deneme alanında bulunan melez parselinden alınan sürgün uçlarına ait görüntü Şekil 3.4'te sunulmuştur.

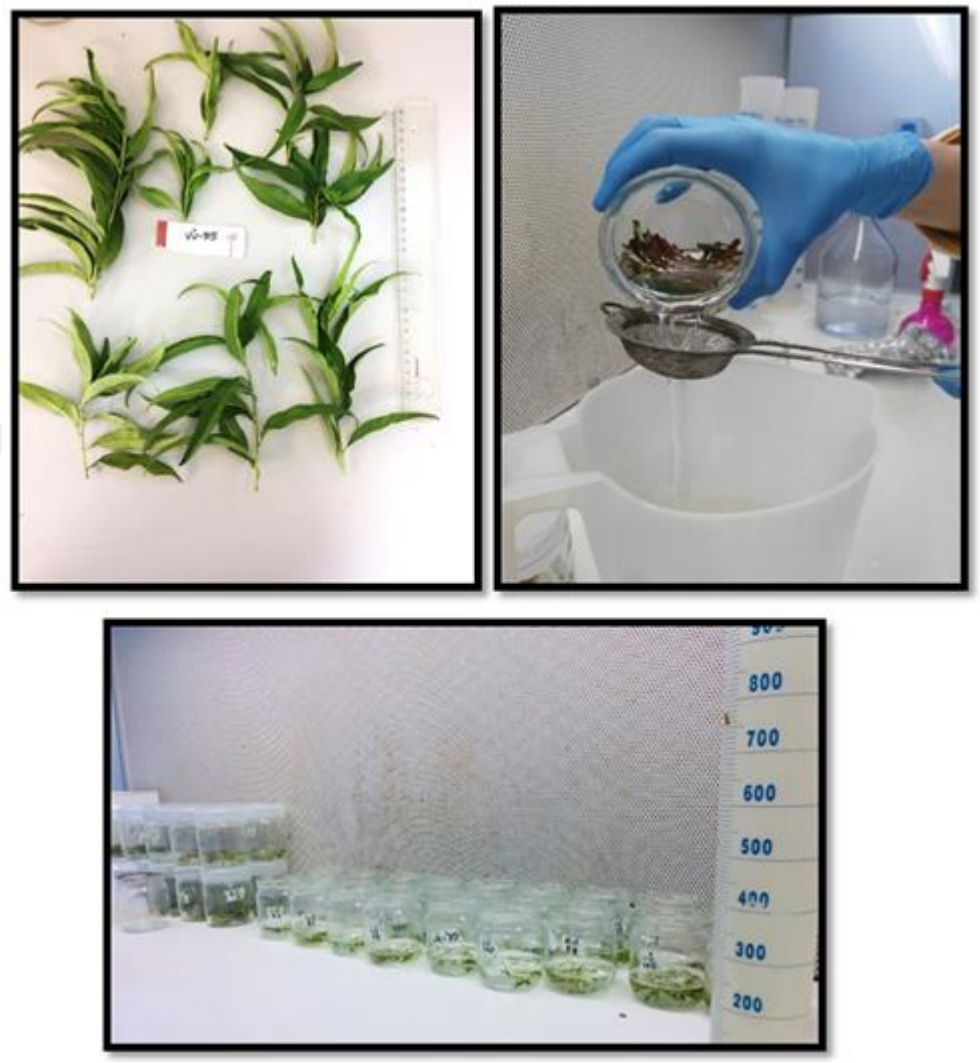


Şekil 3.4. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü deneme alanında bulunan sürgün uçlarının alındığı melez parselinden görüntü

3.2. Metod

3.2.1. Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu

Araştırmada çalışılan şeftali melezlerinin sürgün uçları aktif sürgün periyodunda sera koşullarından temin edilmiştir. Yüzey sterilizasyonları yapıldıktan sonra sürgün uçları kültüre alınmıştır. Laboratuvarda sürgün uçları çeşme suyu altında on dakika yıkanmış, sonra %70'lik etil alkolde 3 dk., ve %20'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinde 10 dk steril edilmiştir. Sonrasında steril kabin içerisinde 3 defa steril saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Sterilizasyon aşamalarından görüntü.

3.2.2. Besin Ortamı ve Sürgün Uçlarının Kültüre Alınması

Sterilizasyon sonrası sürgün uçları 1mg/l BA, 30 g/l sükroz, 8 g/l agar içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamında kültüre alınmıştır. Besin ortamının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. Besin ortamları kültür kaplarına dökülerek 121 °C'de ve 1.05 atm. basınçta otoklavda sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sürgün uçları bu ortamlarda kültüre alınmıştır. MS besin ortamı içeriği Çizelge

3.1'de sunulmuştur. Sürgün uçları 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyot ve 25 °C iklim şartlarında kültüre alınmıştır. Kültüre alınan sürgün uçları 4 haftada bir olmak üzere 3 defa alt kültüre alınmıştır ve elde edilen bitkiler *in vitro* demir uygulamaları denemelerinde kullanılmıştır. Bitkilerin MS besin ortamında kültüre alınmasına ait görüntü Şekil 3.6'da sunulmuştur.

Çizelge 3.1. MS besin ortamı içeriği

Bileşik	**Konsantrasyon (mg/l)**
MakroElementler	**(MS, 1962)**
$MgSO_4.7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
KNO_3	1900
NH_4NO_3	1650
$CaCl_2.2H_2O$	440
MikroElementler	**(MS, 1962)**
H_3BO_3	6,2
$MnSO_4.H_2O$	15,6
$ZnSO_4.7H_2O$	8,6
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0,25
$CuSO_4.5H_2O$	0,025
$CoCl_2.6H_2O$	0,025
KI	0,83
$FeSO_4.7H_2O$	27,8
Na_2 EDTA	37,3
OrganikBileşikler	**(MS, 1962)**
Sakkaroz	30-50 g
Myo-inositol	100
Nikotinikasit	0.5
PiridoksinHCl	0.5
Thiamine HCl	0.1
Glisin	2



Şekil 3.6. Bitkilerin MS besin ortamında kültüre alınmasına ait görüntü

3.2.2.1. Solüsyon Kullanarak Sürgün Geliştirme İşlemi

Arazideki ağaçların mevsim koşulları nedeniyle dinlenme duruma geçmesinden dolayı bazı genotiplerin sürdürülebilmesi için 8-hydroxyguinoline sülfat içerikli solüsyon kullanılarak araziden alınan kalem aşıları çeliğin altından 1 cm kesilmiş ve hazırlanan solüsyona daldırılmıştır (Şekil 3.7). Onüç gün sonra süren sürgün uçlarının sterilizasyonu yapılıp kültür ortamına alınmıştır.



Şekil 3.7. Kalem aşılarının sürdürülmesi

3.2.3. *In vitro* Demir Stresi Altında Mikroçoğaltım Denemesinin Kurulması

Kültüre alınan ve çoğaltılan bitkiler ile demir stresi denemesi kurulmuştur. Bu amaçla 1 mg/l BA ile desteklenmiş ve içerisinde %0, 25, 50 ve 100 oranında $FeSO_4.7H_2O$ bulunan (%100=27.8 mg/l) MS besin ortamları hazırlanmış ve bitkiler

bu ortamlara aktarılmıştır (Şekil 3.8). Bitkiler, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 25 °C iklim şartlarında kültüre alınmıştır. Bitkiler 4 haftada bir şeklinde 3 kez altkültüre alınmıştır. Her altkültür sonunda bitkilerin demir klorozuna verdikleri tepkiler incelenmiştir.



Şekil 3.8. *İn vitro* demir denemelerinin kurulması

3.2.4. Farklı Besin Ortamlarında Kök Denemesinin Kurulması

Mikroçoğaltım denemeleri sonucunda elde edilen bitkiler MS, WPM ve ½ MS içeren besin ortamlarına aktarılmıştır. Besin ortamları içerisine IBA'nın 1.0 mg/l konsantrasyonu ilave edilmiştir. WPM besin ortamı içeriği Çizelge 3.2 'de sunulmuştur. Kök ortamlarına aktarılan bitkicikler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık, 25°C koşullarında kültüre alınmıştır. 2 ay sonunda bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm) ve kök sayısı (adet) değişkenlere ait bulgular alınmıştır.

Çizelge 3.2. WPM besin ortamı içeriği

Bileşik	**Konsantrasyon(mg/l)**
Makro Elementler	**(WPM,1981)**
$MgSO_4.7H_2O$	180.54
KH_2PO_4	170
$Ca(NO_3)_2$	386.8
K_2SO_4	990
$CaCl_2.2H_2O$	72.5
NH_4NO_3	400
Mikro Elementler	**(WPM,1981)**
H_3BO_3	6.25
$MnSO_4.H_2O$	22.3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.25
FeNa EDTA	36.7
Organik Bileşikler	**(WPM,1981)**
Sakkaroz	30 g
Myo-inositol	100
Nikotinik asit	0.5
Piridoksin HCl	0.5
Thiamine HCl	1
Glisin	2

3.2.5. Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılması

Köklenen bitkiler viyollere aktarılmadan önce bitkilerin olduğu kavanozlar kademeli olarak açılmıştır. Bitkiler agardan tamamen temizlendikten sonra serada yarı yarıya steril torf:perlit karışımı içeren viyollere aktarılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Bitkilerin dış koşullara alıştırılması

3.2.6. Deneme Planı, İncelenen Kriterler ve İstatistiksel Analizler

Şeftali genotiplerinin *in vitro* demir stresi altında mikroçoğaltım ve farklı besin ortamlarında köklenme performanslarının incelenmesi amacıyla kurulan denemelerin tamamı 4 tekerrürlü, her tekerrürde 5 bitki olacak biçimde, faktöriyel düzende tesadüf parselleri deneme desenine göre yerleştirilmiştir. *In vitro* demir stresi altında kurulan mikroçoğaltım denemelerinde bitkiler 4 haftada bir olmak üzere toplam 3 defa altkültüre aktarılmıştır. Mikroçoğaltım denemelerinde, her altkültür bitiminde;

- kardeş sayısı (kardeş/bitki),
- bitki boyu (cm),
- yaprak sayısına (adet) ait veriler incelenmiştir.

Köklendirme denemelerinde kültüre alma süresi sonunda;

- köklenme oranı (%),
- bitki boyu (cm),
- kök uzunluğu (cm),
- kök sayısına (kök/bitki) ait veriler incelenmiştir.

İn vitro demir stresi sonucunda bitkilerden elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi neticesinde değişikliklerin önemli olduğu uygulamalara ait ortamalar LSD testi ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler JMP programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışmasında, şeftalilerde gerçekleştirilen melezleme çalışmaları sonrasında elde edilen melez bireylerden seçilen 10 genotipin *in vitro* koşullarda farklı demir ($FeSO_4.7H_2O$) konsantrasyonlarında (%0, 25, 50 ve 100) (%100=27.8 mg/l) mikroçoğaltım performansları incelenmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin köklenmesi üzerine farklı besin ortamlarının (MS, ½ MS ve WPM) etkisi araştırılmıştır.

4.1. *In vitro* Demir Stresi Koşullarında Mikroçoğaltım Denemelerine Ait Bulgular

Tez çalışmasında farklı konsantrasyonlarda demir içeren (%0, 25, 50 ve 100) MS besin ortamında *in vitro* demir stresi denemeleri kurulmuştur. Besin ortamlarına çoğaltma amacıyla sitokinin olarak 1 mg/l BAP ilave edilmiştir. Demir stresi denemelerinde genotiplere ait kardeşlenme katsayısı (kardeş/bitkicik), bitki boyu (cm) ve yaprak sayısı (adet) parametreleri incelenmiştir.

4.1.1. Kardeşlenme Katsayısına Ait Bulgular

Tez çalışmasında kullanılan şeftali genotiplerinin *in vitro* demir stresinde kardeşlenme katsayısı üzerine Fe, genotip ve Fe*genotip interaksiyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Tez çalışmasında kullanılan genotiplerin *in vitro* demir stresi altında kardeşlenme katsayısına ait veriler, Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1 incelendiğinde, 3 altkültür çoğalma ortalamasının oldukça düşük olduğu gözlenmektedir. En fazla kardeşlenme katsayısı %25 oranında Fe içeren ortamda RÜ-46 genotipinde (4.23) belirlenmiştir. En düşük kardeşlenme katsayısı (1.00) %0, 50 ve 100 Fe içeren besin ortamında VÜ-82 genotipinde ve Fe içermeyen besin ortamında VÜ-89 genotiplerinde belirlenmiştir. RÜ-46

genotipinin %25 Fe konsantrasyonu içeren besin ortamındaki görüntüsü, Şekil 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Demir stresi altında kardeşlenme katsayısına ait veriler

Genotip	**Fe konsantrasyonu (%)**				**Genotip ort.**
	0	25	50	100	
RÜ-8	1.95cdefgh	1.90defgh	2.26cd	2.06cdef	2.04B
RÜ-46	3.43b	**4.23a**	3.83ab	2.56c	3.51A
RÜ-90	1.03kl	1.33hıjkl	1.10kl	1.20kl	1.16DE
VÜ-61	1.10kl	1.26jkl	1.33kl	1.16kl	1.16DE
VÜ-65	1.43ghıjk	1.33ıjkl	2.10cde	1.84defghı	1.67C
VÜ-70	1.16kl	2.00cdefg	1.43ghıjk	1.33kl	1.48CD
VÜ-74	1.83defghıj	1.86defghı	1.53efghıjk	1.46ghıjk	1.43CD
VÜ-78	1.83defghıj	1.86defghı	1.53efghıjk	1.46ghıjk	1.67C
VÜ-82	1.00kl	1.06kl	1.00kl	1.00kl	1.01E
VÜ-89	1.00kl	1.16kl	1.16kl	1.5fghıjk	1.20DE
Fe kont. Ort.	1.49B	1.72A	1.63AB	1.47B	

LSDgenotip= 0.302
LSDgenotip*Fe konsantrasyonu= 0.595
LSD Fe konsantrasyonu=0.189



Şekil 4.1. RÜ-46 genotipinin %25 Fe konsantrasyonu içeren besin ortamındaki görüntüsü

4.1.2. Bitki Boyuna Ait Bulgular

Tez çalışmasında kullanılan şeftali melez genotiplerinin *in vitro* demir stresi altında bitki boyu üzerine genotip ve Fe*genotip interaksiyonu istatiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Tez çalışmasında kullanılan genotiplerin *in vitro* demir stresi altında bitki boyuna ait veriler, Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Çizelge 4.2 incelendiğinde, en uzun bitki boyu %25 Fe oranında VÜ-74 genotipinde 2.55 cm olarak belirlenmiştir. En düşük bitki boyu %50 ve 100 Fe oranında VÜ-70 (0.76) genotipinde gözlenmiştir. VÜ-74 genotipinin %25 Fe içeren MS besin ortamındaki görüntüsü Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Demir stresi altında bitki boyuna ait veriler

Genotip	**Fe konsantrasyonu (%)**				**Genotip ort.**
	0	25	50	100	
RÜ-8	1.72bcdefg	1.50efghıjkl	1.63cdefgh	2.08b	1.73B
RÜ-46	1.45fghıjklm	1.58defghıjk	1.43ghıjklmn	1.80bcdef	1.56BC
RÜ-90	0.80rst	1.26ıjklmnop	1.33hıjklmno	1.58defghıjk	1.24EF
VÜ-61	0.93pqrs	1.05opqrs	1.37ghıjklmno	1.38ghıjklmno	1.18F
VÜ-65	1.33hıjklmno	1.25jklmnop	1.63defghı	1.81bcde	1.50CD
VÜ-70	1.11mnopqrs	1.23klmnopq	0.76st	0.76st	0.94G
VÜ-74	2.05b	**2.55a**	1.98bc	1.26ıjklmnop	1.96A
VÜ-78	1.25jklmnop	1.93bcd	1.26ıjklmnop	1.07nopqrs	1.38DE
VÜ-82	1.15lmnopqr	0.86rst	0.88qrst	1.40ghıjklmno	1.07FG
VÜ-89	1.93bcd	1.50efghıjkl	1.60defghı	1.40ghıjklmno	1.60BC
Fe kont. ort.	1.37	1.47	1.38	1.44	

LSDgenotip= 0.180
LSDgenotip*Fe konsantrasyonu= 0.361



Şekil 4.2. VÜ-74 genotipinin %25 Fe içeren MS besin ortamındaki görüntüsü

4.1.3. Yaprak Sayısına Ait Bulgular

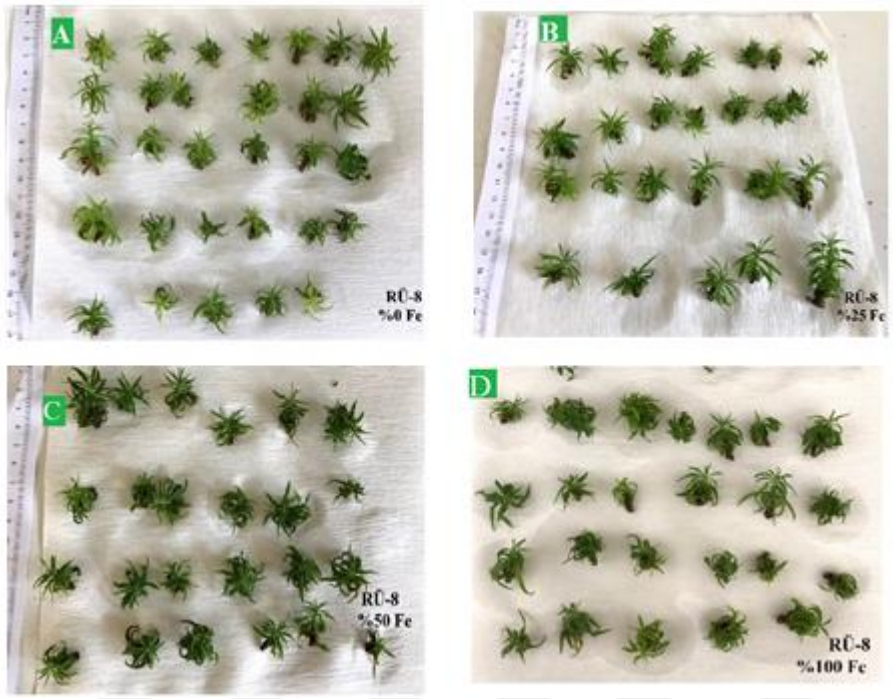
Tez çalışmasında kullanılan şeftali genotiplerinin *in vitro* demir stresinde yaprak sayısı üzerine genotip, Fe ve Fe*genotip interaksiyonu istatiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Tez çalışmasında kullanılan genotiplerin *in vitro* demir stresi altında yaprak sayısına ait veriler Çizelge 4.3'de sunulmuştur. Çizelge 4.3 incelendiğinde, en fazla yaprak sayısı %50 Fe oranında olarak RÜ-8 genotipinde (28 adet) belirlenmiştir. En düşük yaprak sayısı %50 Fe oranında VÜ-70 (5 adet) genotipinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Demir stresi altında yaprak sayısına ait veriler

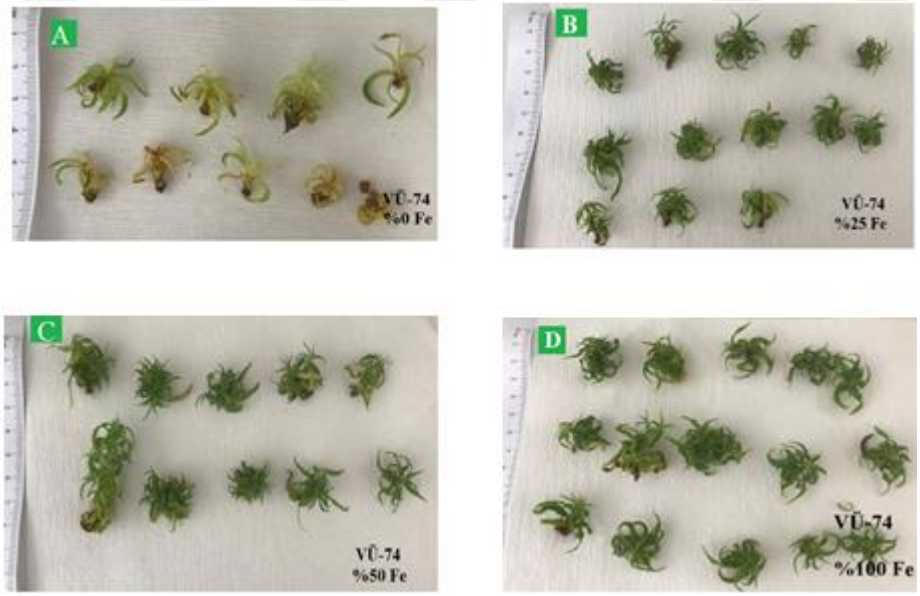
Genotip	**Fe konsantrasyonu (%)**				**Genotip ort.**
	0	25	50	100	
RÜ-8	22bcdef	24bc	**28a**	25ab	24.75A
RÜ-46	18hıj	22bcdef	21bcdefg	20efghı	20.45B
RÜ-90	11kl	20defghı	20cdefgh	23bcde	18.58CD
VÜ-61	10l	20efghı	19fghı	18ghı	17.00DE
VÜ-65	11l	20defghı	23bcdef	23bcd	19.16BC
VÜ-70	10l	10l	8m	5m	7.91F
VÜ-74	23bcde	23bcdef	18ghı	17hıj	20.38BC
VÜ-78	18hıj	22bcdefg	17hıj	19fghı	19.04BC
VÜ-82	12kl	14jk	16ıj	18hıj	15.28E
VÜ-89	17hıj	19fghı	19efghı	23bcd	19.77BC
Fe kont. Ort.	15.29B	19.38A	18.93A	19.32A	

LSDgenotip= 1.888
LSDgenotip*Fe konsantrasyonu= 3.718
LSD Fe konsantrasyonu= 1.178

Farklı Fe oranlarında RÜ-8 genotipinin görüntüsü Şekil 4.3'te, VÜ-74 genotipinin görüntüsü ise Şekil 4.4'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. Farklı Fe oranlarında RÜ-8 genotipinin görüntüsü



Şekil 4.4. Farklı Fe oranlarında VÜ-74 genotipinin görüntüsü

4.2 Kök Denemelerine Ait Bulgular

Şeftali melezlerinin başarılı bir şekilde çoğaltılmasının ardından kök denemeleri kurulmuştur. Köklendirme denemelerinde MS, ½ MS ve WPM besin ortamları kullanılmıştır. Sekiz haftalık kültür süresi sonucunda bitkilerde kök sayısı (kök/bitki), kök uzunluğu (cm), bitki boyu (cm) ve yaprak sayısı (adet) parametreleri incelenmiştir.

4.2.1. Kök Sayısına Ait Bulgular

Tez çalışmasında kullanılan şeftali melezlerinin kök sayısı verileri değerlendirildiğinde besin ortamı, genotip ve genotip*besin ortamı interaksiyonu sonuçları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Kök sayısına ait veriler Çizelge 4.4'de gösterilmiştir. Çizelge 4.4 incelendiğinde, en fazla kök sayısı WPM besin ortamında RÜ-90 genotipinde (3.20), en düşük kök sayısı ise ½ MS besin ortamında VÜ-89 genotipinde (1.10) tespit edilmiştir. 1mg/l IBA içeren MS besin ortamında VÜ-82 genotipine ait görüntü Şekil 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Kök sayısına (adet) ait veriler

Genotip	**ORTAM**			**Genotip ort.**
	MS	1/2 MS	WPM	
RÜ-8	1.60de	1.30de	1.60de	1.46BC
RÜ-46	1.20e	1.20e	1.20e	1.00D
RÜ-90	3.20a	1.20e	**3.20a**	2.46A
VÜ-61	2.00cd	1.20e	2.00cd	1.66B
VÜ-65	1.20e	1.20e	1.20e	1.13CD
VÜ-70	1.20e	1.20e	1.20e	1.00D
VÜ-78	3.00ab	1.20e	1.20e	1.66B
VÜ-82	2.90ab	2.80ab	2.40bc	2.70A
VÜ-89	1.20e	1.10e	1.20e	1.16CD
Ortam Ort.	1.90A	1.25B	1.60B	

LSDortam= 0.265
LSD genotip= 0.459
LSD genotip*ortam= 0.796

Kök sayıları ile ilgili genel ortalama dikkate alındığında kök sayısı bakımından MS besi ortamında kök sayısının daha yüksek olduğu (1.90) gözlenmiş bunu WPM besi ortamı (1.60) izlemiştir.



Şekil 4.5. 1mg/l IBA içeren MS besin ortamında VÜ-82 genotipine ait görüntü

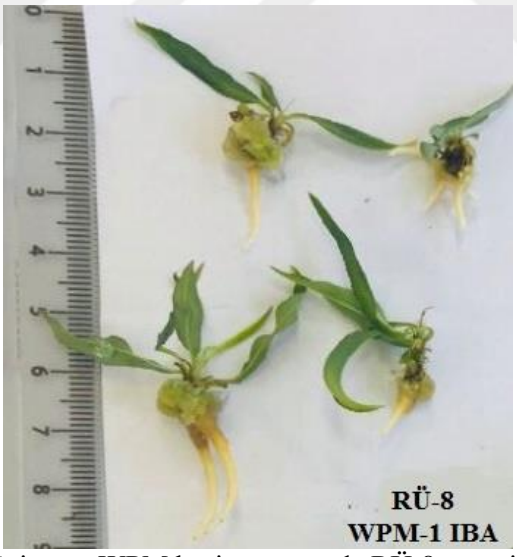
4.2.2. Kök Uzunluğuna Ait Bulgular

Kök denemelerinde kullanılan şeftali melezlerinin kök uzunluğuna (cm) ait verileri değerlendirildiğinde, genotip istatistiksel açıdan önemli bulunurken, besin ortamı ve besin ortamı*genotip interaksiyonu arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($P<0.05$). Kök denemelerinde kök uzunluğuna (cm) ait veriler Çizelge 4.5'te sunulmuştur. Çizelge 4.5 incelendiğinde, en fazla kök uzunluğu WPM besin ortamında RÜ-8 genotipinde (1.00 cm), en düşük kök uzunluğu ise MS besin ortamında VÜ-61 genotipinde (0.20 cm) tespit edilmiştir. 1mg/l IBA içeren WPM besin ortamında RÜ-8 genotipine ait görüntü Şekil 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Kök uzunluğuna (cm) ait veriler

Genotip	**ORTAM**			**Genotip ort.**
	MS	1/2 MS	WPM	
RÜ-8	0.84	0.79	**1.00**	0.87A
RÜ-46	0.39	0.58	0.52	0.46BC
RÜ-90	0.52	0.70	0.52	0.58B
VÜ-61	0.20	0.33	0.20	0.24D
VÜ-65	0.34	0.50	0.28	0.37CD
VÜ-70	0.47	0.48	0.65	0.53BC
VÜ-78	0.65	0.55	0.55	0.58B
VÜ-82	0.27	0.24	0.34	0.28D
VÜ-89	0.50	0.58	0.20	0.42BCD
Ortam Ort.	0.46	0.52	0.47	

LSD genotip= 0.187



Şekil 4.6. 1mg/l IBA içeren WPM besin ortamında RÜ-8 genotipine ait görüntü

4.2.3. Yaprak Sayısına Ait Bulgular

Kök denemelerinde yaprak sayısına ait veriler değerlendirildiğinde, genotip, genotip*ortam etkileşimi istatistiksel yönden önem arz etmiştir (P<0.05). Kök denemelerinde yaprak sayısına (adet) ait veriler Çizelge 4.6'da sunulmuştur. Kök denemeleri sonucunda, en fazla yaprak sayısı WPM besin ortamında VÜ-78 genotipinde (20.80 adet), en düşük yaprak sayısı ise WPM besin ortamında VÜ-65 genotipinde (11.00 adet) belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Katı kültür yaprak sayısına (adet) ait veriler

Genotip	**ORTAM**			**Genotip ort.**
	MS	1/2 MS	WPM	
RÜ-8	16.10defghıj	16.60cdefghı	20.00ab	17.56AB
RÜ-46	15.5fghıj	16.00defghıj	16.20cdefghıj	15.90BC
RÜ-90	14.30hıj	15.80efghıj	14.30hıj	14.80CD
VÜ-61	13.70ijk	13.80ijk	13.60jk	13.70D
VÜ-65	15.10ghıj	13.90ijk	11.00k	13.33D
VÜ-70	17.60bcdefg	18.60abcde	17.50bcdefg	17.90A
VÜ-78	18.80abcd	13.90ijk	**20.80a**	17.83A
VÜ-82	14.50hıj	14,30hıj	14.70ghıj	14.50CD
VÜ-89	19.10 abc	18.40abcde	17.20bcdefgh	18.23A
Ortam Ort.	16.07	15.70	16.14	

LSD genotip =1.682
LSD genotip*ortam: 2.914

4.2.4. Bitki Boyuna Ait Bulgular

Kök denemelerinde bitki boyuna ait veriler değerlendirildiğinde, genotip, ortam ve genotip*ortam yönünden önemli bulunmuştur (P<0.05). Kök denemelerinde bitki boyuna (cm) ait veriler Çizelge 4.7'de sunulmuştur. Kök denemeleri sonucunda, en uzun bitki boyu MS besin ortamında RÜ-8 genotipinde

(1.65 cm) tespit edilmiştir. En kısa bitki boyu ise WPM besin ortamında VÜ-89 genotipinde (0.70 cm) belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Kök denemelerinde bitki boyuna (cm) ait veriler

Genotip	**Ortam**			**Genotip ort.**
	MS	1/2 MS	WPM	
RÜ-8	**1.65a**	0.82ef	1.45ab	1.30A
RÜ-46	1.00de	1.00de	1.00de	1.00BC
RÜ-90	1.12cd	0.72f	1.12cd	0.98BC
VÜ-61	1.10d	1.10d	1.10d	1.10B
VÜ-65	1.00de	1.00de	1.00de	1.10BC
VÜ-70	1.00de	1.00de	1.00de	1.00BC
VÜ-78	1.00de	1.00de	1.00de	1.00BC
VÜ-82	1.35bc	1.35bc	1.10d	1.26A
VÜ-89	1.00de	1.00de	0.70f	0.90
Ortam Ort.	1.35A	1.05B	0.99C	

LSD ortam = 0.081
LSD genotip = 0.142
LSD genotip*ortam= 0.242

Kök denemeleri sonucunda yaprak sayısı, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından en başarılı ortam WPM ortamı, bitki boyu bakımından en başarılı ortamın ise MS ortamı olduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında melez şeftali genotipleri, farklı demir konsantrasyonlarına sahip (%0, 25, 50,100) MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Yaprak sayısı, bitki boyu ve çoğaltma katsayısı incelendiğinde, farklı demir konsantrasyonları ve genotip etkisi bakımından farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Fe içermeyen besin ortamında kültüre alınan bitkilerde kloroz yoğun olarak görülürken, diğer konsantrasyondaki besin ortamlarında genotipler nispeten daha iyi gelişme göstermiştir. Tez

çalışması kapsamında elde edilen sonuçların literatürde rapor edilen sonuçlarla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Manuel Sanz ve ark (1997) yapmış oldukları çalışmada, şeftalide Fe kloroz semptomlarını indüklemek için standart içeriğin Fe oranını %80, %65, %50, %25 ve %15'e düşürmüşlerdir. Çalışmada kullanılan 2 genotip yüksek Fe oranlarında (%80 %65 ve %50) büyüme, çoğalma ve yaprak sayısında artış göstermiştir. En düşük iki Fe oranında (%25 ve %15) her iki genotipte açık kloroz semptomları gözlenmiştir. Lambardi ve ark. (2003), şeftali anaçlarında yaptıkları çalışmada, demir (Fe) içermeyen besin ortamında bitkiciklerin, klorofil ve karotenoid konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak şiddetli bir kloroz gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ahmed ve ark (2015) bezelyelerde yaptıkları çalışmada, Fe eksikliğine toleranslı genotipleri taranmışlardır. Fe eksikliği, *in vitro* koşullarda MS ortamında kültüre alınan bazı genotiplerin klorofil a ve b konsantrasyonlarında, yaprak sayısı, sürgün boyu ve bitki ağırlığında ciddi düşüşe neden olmuştur, genotip etkisinden dolayı bazı genotiplerde ise önemli ölçüde azalma görülmemiştir. Genotipler arasında Fe eksikliğine dayanıklı seleksiyona olanak sağlayan geniş bir varyasyon olduğu belirlenmiştir. Fe eksikligine karşı duyarlılığı düşük ve yüksek görülen çeşitler arasındaki en önemli farkın, düşük veya demir olmayan koşularda Fe eksikliği, simptom şiddeti, SPAD veya klorofil içeriği ve buna bağlı olarak Fe etkinlik değerleri olduğu saptanmıştır. Yapılan araştırmalarda sürgündeki Fe konsantrasyonunun, bitkilerin Fe ile beslenme durumlarını yeterince yansıtmadığını göstermiştir. Örneğin; Erdem (2008); parametreler açısından hassas olarak tanımlanmış CFRA 1267 genotipi dirençli olarak kabul edilen Pigeon Point ve Scotts Creek'ten daha yüksek Fe

konsantrasyonuna sahip olmuştur. Fe eksikliği belirtisi gösteren yaprakların içerdiği mevcut Fe konsantrasyonunun belirti göstermeyen yapraklardan daha fazla olabileceği görülmektedir. Bu nedenle genotiplerin yapraklarındaki aktif Fe konsantrasyonlarının Fe eksikliğine hassaslığı belirlemede daha uygun bir parametre olarak benimsemiştir. Öncelikle Fe eksikliğine karşı test edilerek dayanıklı ve duyarlı olarak seçilen genotiplerin kültür denemesinde kullanılan Pigeon Point ve RCP 37 genotipleri aynı seviyede aktif ve toplam Fe içermesine karşın Pigeon Point genotipinin daha yüksek bir Fe-redüktaz enzim aktivitesine sahip olması bu çeşidin Fe eksikliğine karşı hücresel düzeyde önemli seviyede dayanıklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Daşgan (1999), yapmış olduğu çalışmada, domates genotiplerinde aktif Fe konsantrasyonu, toplam Fe konsantrasyonundan daha güvenilir bir parametre olduğu bildirilirken, hücre düzeyinde aktif Fe kullanım göstergesi olan Fe-redüktaz enzim aktivitesi, aktif Fe'den de daha doğru bir parametre olarak tespit etmiştir.

İn vitro kültürlerde çoğalma sisteminin başarısı, büyüme düzenleyicilerinin tipi, konsantrasyonu ve eksplant tipi gibi etmenlere bağlıdır. Genotip etkisi doku kültürü çalışmalarında önemli bir yere sahiptir. Doku kültürü denemelerindeki bulgular bitki türüne bağlı olarak değişim gösterdiğine ilişkin birçok araştırma mevcuttur. Bu denemeler için yaygın bir yöntem uygulanmasına karşın, aynı tür içerisindeki çeşitler birbirinden farklı besin ortamı ve kültür şartlarına ihtiyaç duyabilmekte ve farklı tepkiler gösterebilmektedirler. Bu nedenle mikroçoğaltım ve köklendirme çalışmalarında en uygun besi ortamı her genotip için ayrı ayrı optimize edilmelidir. Özden (2007), yapmış olduğu çalışmada, badem anacı olarak kullanılan Garnem (GN-15) melez (*P. dulcis* x *P. persica*) anacının *in vitro* rejenerasyonu için protokolünde en iyi besin ortamının MS olduğunu

bildirmişlerdir. Çelik (2008), AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotipleri ile Ferragnes badem, Francoise şeftali ve Ninfa kayısı çeşitlerine ait sürgün uçlarını kullanarak yaptıkları mikroçoğaltım çalışmasında en iyi besin ortamının MS olduğunu bildirmiştir.

Bitki büyüme düzenleyici olarak kök denemelerinde en iyi köklenme sonucunu kiraz (Hepaksoy, 2004; Demiral ve Ülger, 2008; Güçlü ve ark, 2010), mersin (Biçen, 2017)**,** badem (Dejampour ve ark, 2011), karayemiş (Sulusoğlu ve Çavuşoğlu, 2013), şeftali ve badem melezlerinde (Hepaksoy, 2017) IBA'nın verdiği bildirilmiştir.

Hasan Ali Dagman (2009), Prunus anaçlarının (Myrobolan ve Garnem) mikroçoğaltımı üzerine çalışmalar yürütmüştür. Çalışmada %100 demir içeriğine sahip MS besin ortamı kullanılmıştır. Çalışma sonunda en yüksek çoğalma katsayısı 4.21, bitki boyu 2.38 cm ve yaprak sayısı 42.43 olarak tespit edilmiştir. Myrobolan anacı için kardeş sayısı (5.25), bitki boyu (2.25), yaprak sayısı (45.71) olarak bulmuştur. Yapmış olduğumuz tez çalışması kapsamında %100 demir konsantrasyonunun bulunduğu ortamlarda en yüksek olarak kardeş sayısı RÜ-46 genotipinde (2.56), RÜ-8 genotipinde bitki boyu (2.08) ve RÜ-8 genotipinde yaprak sayısı (25.0) olarak belirlenmiştir. Aynı familyaya ait bu iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde standart anaç olarak kullanılan Myrobolan ve Garnem anaçlarının *in vitro* performanslarının yüksek olduğu fakat melezleme sonucu elde edilen ve tez çalışması kapsamında kullanılan genotiplerin *in vitro* koşullarda çoğalma ve köklenme performansının oldukça düşük olduğu söylenebilir. Bu sonuçlar demirin bitki gelişimi açısından önemli olduğunu, bununla birlikte demir konsantrasyonun çoğalma, köklenme, bitki boyu ve yaprak sayısı gibi parametrelere etkisinin genotiplere göre farklı sonuçlar verebileceğini göstermiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında, TÜBİTAK-Prima 118O855 no'lu ve "Akdeniz Bölgesindeki Bazı Meyve Türlerinin İklim Değişikliğine Adaptasyonları" adlı proje kapsamında yürütülen proje bitkileri bitki materyali olarak kullanılmıştır. Şeftalilerde gerçekleştirilen melezleme çalışmaları sonrasında elde edilen melez bireylerden seçilen 10 bireyin *in vitro* demir stresi altında mikroçoğaltım ve farklı besin ortamlarında (MS, ½ MS ve WPM) köklenme performanslarının incelenmiştir.

Melez şeftali genotiplerinde *in vitro* koşullarda %0, 25, 50 ve 100 olmak üzere 4 farklı Fe konsantrasyonunda çalışmalar gerçekleştirilmiş, elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Yaprak sayısı, bitki boyu ve çoğaltma katsayısı incelendiğinde, farklı demir konsantrasyonları ve genotip etkisi bakımından farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Fe içermeyen besin ortamında kültüre alınan bitkilerde kloroz yoğun olarak görülürken, diğer konsantrasyondaki besin ortamlarında genotipler nispeten daha iyi gelişme göstermiştir. Genel anlamda melez bireylerde çoğalma ve köklenme performansları düşük bulunmuştur. *İn vitro* demir stresi denemelerinde, bitki boyu ve çoğalma katsayısı bakımından en yüksek olduğu demir dozunun %25, yaprak sayısı bakımından ise en başarılı demir dozu %50 olarak belirlenmiştir. Söz konusu genotip Stark Red Gold çeşidinin ana ebeveyn ve Üstün çeşidinin baba ebeveyn olarak kullanıldığı RÜ-46 genotipidir. Bu genotipi yine aynı ebeveynlerin melezlenmesi ile elde edilen RÜ-8 genotipi izlemektedir. Bu bağlamda Fe klorozu ile ilgili ileride yapılacak çalışmalarda bu genotiplerin dikkate alınması dış koşullarda Fe stresi çalışmalarının gerçekleştirilmesi, Fe-redüktaz analizi, klorofil analizi, bitki aksamında mineral miktarları, fizyolojik analizler, fotosentez aktivitesi gibi parametreler Prunus ve diğer bitkilerde çalışılabilir ve elde edilen sonuçların desteklenmesi önerilmektedir.

Farklı besin ortamlarının şeftali melez bireylerinin köklenmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bu tez çalışmasında, kök uzunluğu bakımından ½ MS besi

ortamının daha başarılı olduğu, bitki boyu ve kök sayısı üzerine en başarılı ortamın MS olduğu tespit edilmiştir. Yaprak sayısı bakımından en fazla yaprak sayısının WPM besi ortamında oluştuğu gözlenmiştir.

Bitki doku kültürü çalışmaları ile bitkilerin hızlı bir şekilde bazı özellikler açısından taranması mümkün olabilmektedir. Demir taraması da bu özellikler arasında yer almakta ve farklı bitki türlerinde örnekleri bulunmaktadır. Ancak bitki doku kültürü çalışmalarının sonunda yapılan bazı değerlendirmelerin arazi koşullarında da tekrar edilmesi önerilmektedir. Bundan sonra yürütülecek çalışmalarda, melez bitkilerin çoğaltılmasında farklı besin ortamlarının kullanılması önerilmektedir. Hatta besin ortam içeriklerinde modifikasyonlar yapılarak her genotip için optimum besin ortamı belirlenebilir. Mikroçoğaltım ve köklenme aşamalarında farklı bitki büyüme düzenleyicisi ve konsantrasyonları kullanılarak optimum bitki büyüme düzenleyici tipi ve dozu belirlenebilir. Özellikle Fe klorozunun tespitinde farklı parametreler bakılarak başarılı köklenme sağlandıktan sonra köklenme ortamlarında çalışmalar devam ettirilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

Ahmed, I., Kabir, A. H., Rahman, M. F., & Alam, F., 2015. *In Vitro* Screening of Pea Genotypes Tolerant to Iron Deficiency Based on Physiological Traits. Int. J. Biosci, 6:460-467.

Aka-Kaçar, Y., 2001. Türkiye'de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus Cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Akgül, H., Uçgun, K., ve Altındal, M., 2014. Bazı Şelatlı Demir Gübrelerinin Şeftalide Demir Eksikliği Klorozuna Etkileri. Meyve Bilimi, 1(1):12-17.

Akgül, H., ve Uçgun, K., 2011. Bazı Ilıman iklim Meyvelerinde Yaprak Aktif Demir İçerikleri ile Demir Eksikliği Klorozu Arasındaki İlişkilerin Belirlenmesi. 1(2):7-20.

Arıcı, Ş. E., 2008. Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü ile Çoğaltılması. SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 9(1):19-23.

Bassi D. and C. Pirazzoli, 1998. The Stone Fruit Industry in the Mediterranean Region: Agronomic and Commercial Overview. Option Mediterranean's. CIHEAM: 3-38.

Biçen, B., 2017. Micropropagation and Rooting of Myrtle Plant (*Myrtus communis* L.) by Classical and Next Generation Plant Tissue Culture Techniques. 7:20-21.

Bulunuz Palaz, E., ve Uğur, R., 2018. SP-2 (*Prunus spinosa*) Klonal Anaç Adayının *In vitro* Rejenerasyonu Üzerine Farklı Bitki Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonlarının Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 28(1):36-41.

Claveria, E., Asín, L., Iglesias, I., Vilardell, P., Bonany, J., Simard, M.H. and Dolcet-Sanjuan, R. 2012. *In vitro* screening for tolerance to iron chlorosis as a reliable selection tool in a pear rootstock breeding program. Acta Hortic. 935, 199-205, DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.935.28

Çelik, T., 2008. Klonal Anaç Genotiplerin *In vitro* Koşullarda Bazı *Prunus* Türleriyle Aşı Tutma Oranlarının Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Çömlekçioğlu, S., 2014. Nektarin ve Şeftali Melezlerinin Bitkisel Özelliklerinin Tanımlanması ve Bazı SSR Markırlarının Erken Seleksiyonda Kullanılabilirliği. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Daşgan, H. Y., 1999. Domateste Fe Eksikliğine Dayanıklılığın Morfolojik, Fizyolojik Ve Genetiksel Açıdan İncelenmesi (Doktora Tezi), Ç.U. Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.

De Candolle, A., 1967. Origin of Cultivated Plants. Hafner Publishing Comp., London, 232.

Dejampour, J., Majidi, I., Khosravi, S., Farhadi, S., Shadmehr, A., 2011. *In vitro* Propagation of HS314 Rootstock (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). HortScience, 46(6):928-931.

Demiral, S., ve Ülger, S., 2008. Gisela 5 Kiraz Anacının Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(1):117-121.

Ekşi, A., ve Artık, N., 1982. Kayısı ve Şeftali Palper Posası ile Atılan Besin Ögesi Miktarı. GIDA, 7(3).

Erbaş, B., 2011. Myrobalan ve Garnem Anaçlarının *İn Vitro* Doku Kültürü Teknikleri ile Çoğaltımı Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.

Erdem, N., 2008. Farklı Çilek (*Fragaria Sp.)* Genotiplerinin Demir (Fe) Noksanlığına Karşi Duyarlılığının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

FAO, 2019. http://www.fao.org

Gonzalez-Padilla, I. M., Webb K., Scorza R., 2003. Early Antibiotic Selection and Efficient Rooting and Acclimatization Improve the Production of Transgenic Plum Plants (*Prunus domestica* L.). Plant Cell Reports, 22:38-45.

Güçlü, F., Koyuncu, F., Şan, B., 2014. Bazı Klon Kiraz Anaçlarının Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 14(2):144-147.

Hasan Ali Dagman, F. 2019. Bazı Meyve Anaçlarının Klasik Doku Kültürü ve Yeni Nesil Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemi ile Mikroçoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Hepaksoy, S., 2004. Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar 1. Gelişme ve Çoğalma. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 41(3):11-22.

Hepaksoy, S., 2017. GF 677 (*P. amygdalus* x *P. persica*) Klon Anacının Doku Kültüründe Sürgünucu Tekniği ile Çoğaltılması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 54(4):447-451.

Hirayama, T., and Shinozaki, K., 2010. Research on Plant Abiotic Stress Responses in The Post-Genome Era: Past, Present And Future, The Plant Journal, 61:1041-1052.

Horuz, A., Korkmaz, A., Akınoğlu, G., Boz, E., 2016. Bitkilerde Demir Klorozunun Nedenleri ve Giderilme Yöntemleri. Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi, 4(1):32-42.

Karauz, A., 2013. Melezleme Islahı ile Elde Edilen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ebeveyn Analizleri ve Çekirdeksiz Fertlerin Marköre Dayalı Seleksiyonu. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Kozai, T., C. Kubota, and B. R. Jeong., 1997a. Environmental Control for the Largescale Production of Plants Through *In Vitro* Techniques. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 51:49-56.

Kuden, A. B., Comlekcioglu, S., Sarier, K., Imrak, B., Kuden, A., 2018. Peach Breeding Studies in Turkey and the Evaluation of Peach and Nectarine Hybrids. Breeding and Health Benefits of Fruit and Nut Crops, 47.

Lombardi, L. Sebastiani, L., Vitagliano,C., 2003. Physiological, Biochemical, and Molecular Effects of In Vitro Induced Iron Deficiency in Peach Rootstock Mr.S 2/5, Journal of Plant Nutrition, 26(10-11):2149-2163.

Lopez-Millan A. F., Morales, F., Andaluz, A., Gogorcena, Y., Abadia, A., De Las Rivas, J., Abadıa, J., 2000. Protective Mechanisms in Roots of İron Deficient Sugar Beet: Changes in Carbonassimilation and Oxygenuse. Plant Physiology, 124:885–897.

Manganaris, G. A., Economou A. S., Boubourakas I. N., Katis N. I., 2003. Elimination of PPV and PNRSV Through Thermotherapy and Meristem-Tip Culture in Nectarine. Plant Cell Reports, 22:195-200.

Marschner HV., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed. Academic Press Inc., San Diego, USA.

Miller, G. W., Pushnik, J. C., Welkie, G. W., 1984. Iron Chlorosis, A World-Wide Problem, The Relation of Chlorophyll Biosynthesis to Iron. Journal of Plant Nutrition, 7(1-5):1-22.

Muleo, R., Cinelli, F., Viti, R., 1995. Application of Tissue Culture on Quince Rootstock in Iron-Limiting Conditions. Journal of Plant Nutrition, 18(1):91-103.

Özden, A.N., 2007. GF-677 Hibrit (*Prunus amygdalus* X *P. persica*) Anacının *İn Vitro* Rejenerasyonu ve Mikroçoğaltımı. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

Palaz, E. B., ve Remzi, U., 2018. SP-2 (*Prunus spinosa*) Klonal Anaç Adayının *İn Vitro* Rejenerasyonu Üzerine Farklı Bitki Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonlarının Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 28(1):36-41.

Salçın, N., Ercoşkun, H., 2021. Diyet Lifi ve Sağlık Açısından Önemi. Akademik Gıda, 19(2):234-243

Sanz, M., Pascual, J., Machín, J., 1997. Prognosis and Correction of Iron Chlorosis in Peach Trees: Influence on Fruit Quality. Journal of Plant Nutrition, 20(11):1567-1572.

Stebbins, G. L., 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. Ad-dison-Wesley. Reading, Massachusetts.

Sulusoglu, M., and Cavusoglu, A. 2013. Micropropagation of Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L). Journ. Food Agric. Environ, 11:576-579.

Torun, A. A., Kaçar, Y., Bicen, B., Erdem, N., and Serce, S., 2014. *In Vitro* Screening of Octoploid *Fragaria chiloensis* and *Fragaria virginiana* Genotypes Against Iron Deficiency. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38(2):169-179.

Tuik, 2020 . http://www.tuik.gov.tr

Vallejo, G. E. B., Morales F., Cistue L., Anunciscion A., and Abadia J., 2000. Iron Deficiency Decreasesthe Fe (III)-Chelatereducingactivity of Leaf Protoplasts. Plant Physiology. 122:337-344.

Yadav, D. V., and Singh, K. 1988. Lime –Induced Iron Chlorosis in Sugarcane Fert. Res., 16:119-136.

ÖZGEÇMİŞ

Hatay'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Hatay'da, tamamladı. 2013 yılında Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladığı lisans eğitimini 2017 yılında tamamladı. Yüksek Lisans eğitimini Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda yapmaktadır.