T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOKULU ÜZÜMÜN (*Vitis labrusca* L.) KURAKLIK STRESİNE TOLERANSININ İN VİTRO'DA SORBİTOL KULLANILARAK BELİRLENMESİ

DEMET AKIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ORDU 2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Demet AKIN

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

KOKULU ÜZÜMÜN (*Vitis labrusca* L.) KURAKLIK STRESİNE TOLERANSININ *İN VİTRO*'DA SORBİTOL KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Demet AKIN

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 43 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Hatice BİLİR EKBİÇ)

Bu araştırma Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümündeki doku kültürü laboratuvarında 2021 yılı vejetasyonunda gerçekleştirilmiştir. Bitkisel materyal olarak kokulu üzümün (Balıkçı Siyahı tipinde) aktif sürgünlerinden alınan, tek boğum içeren 2-3 cm uzunluğundaki mikro çelikler kullanılmıştır. Mikro çeliklere %20 ticari çamaşır suyunda 20 dakika süreyle yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Steril edilen eksplantlar 1 mg/l BA içeren Murashige-Skoog ortamında (MS) kültüre alınmıştır. BA içeren ortamda kültüre alınan eksplantlardan süren sürgünler köklendirme aşamasında, kuraklık stresinin oluşturulması amacıyla ortama 5 farklı dozda 0, 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 M sorbitol ilave edilmiştir. Deneme aşamasında; bitki canlılığı (%), sürgün uzunluğu (cm), sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g), sürgündeki boğum sayısı (n) ve yaprak sayısı (n), yaprak taze ve kuru ağırlığı (g), klorofil içeriği, zararlanma derecesi, tolerans oranı (TO), iyon akışı (%), yaprak turgor ağırlığı, hücre zarı zararlanma oranı (HZZO, %), eksplantın oransal su kapsamı (%) incelemeleri gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçlarına bakıldığında bitki canlılığı (%), sürgün boyu (cm), sürgündeki boğum sayısı ve yaprak sayısı (n), sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g), zararlanma derecesinin (1-4) kontrol uygulamasına kıyasla sorbitol dozunun artmasına bağlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. En fazla zararlanmanın 0.3 M ve 0.4 M sorbitol uygulamalarında olduğu ve bitki büyüme ve gelişmesinin de önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kuraklık stresi, *in vitro*, kokulu üzüm, sorbitol

ABSTRACT

DETERMINATION OF DROUGHT STRESS TOLERANCE FOX GRAPE (*Vitis labrusca* L.) ROOTSTOCK BY USING SORBITOL *IN VITRO*

DEMET AKIN

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF HORTICULTURE

M. SC. THESIS, 43 PAGES

(SUPERVISOR: Assoc. Prof. Hatice BILIR EKBIC)

This research was carried out in the tissue culture laboratory of Ordu University Faculty of Agriculture, Department of Horticulture in 2021 vegetation. As a material, 2-3 cm long micro-cuttings containing with a single node from active shoots of foxy grape (Balikci Siyahi grape type) were used. Surface sterilization was performed on micro-cutting in 20% commercial bleach for 20 minutes. Sterilized explants were cultured in Murashige-Skoog medium (MS) containing 1 mg/l BA. During the rooting phase of explants cultured in BA-containing medium, 5 different doses of 0, 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 M sorbitol were added to the medium in order to create drought stress. In the trial phase; plant viability (%), shoot length (cm), dry and weight of shoots (g), number of internodes and leaves on shoots (n), fresh and dry weight of leaves (g), chlorophyll content (SPAD), degree of damage, tolerance rate (TO), ion flow (%), leaf turgor weight (g), cell membrane damage rate (HZZO, %), proportional water scope (%) of explant were examined. Looking at the results of the research, it was observed that plant viability (%), shoot length (cm), dry and weight of shoots (g), number of internodes and leaves on shoots (n), decreased due to the increase in sorbitol dose compared to the control application. It was determined that the most damage was in 0.3 M and 0.4 M sorbitol applications and plant growth and development were significantly reduced.

Anahtar Kelimeler: Drought stress, *in vitro*, fox grapes, sorbitol

TEŞEKKÜR

Akademik hayatın başlangıcı olan yüksek lisans eğitimi almam konusunda beni yüreklendiren, tez konumun belirlenmesinde ve hazırlanma aşamasında tüm içtenliğiyle, kıymetli bilgilerini benimle paylaşan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum Sayın Doç. Dr. Hatice BİLİR EKBİÇ'e çok teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük şansım olan, her adımımda arkamda hissettiğim, desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen babam Erdoğan AKIN'a ve annem Mevlüde AKIN'a, aynı zamanda manevi desteğini her daim hissettiğim ağabeyim Levent AKIN'a minnetarım.

Tez çalışma süresince desteklerini hiç bir zaman egirsemeyen Arş. Gör. Mert İLHAN'a ve Yüksek Ziraat Mühendisi Şifanur AKBULUT'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans sürecimde beni evlerinde misafir eden ve desteklerini bir an olsun esirgemeyen değerli kuzenim İzel ÖZÜRK'e, eniştem Osman ÖZTÜRK'e ve yeğenim Deniz ÖZTÜRK'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ BİLDİRİMİ I
ÖZET II
ABSTRACT III
TEŞEKKÜR IV
İÇİNDEKİLER V
ŞEKİL LİSTESİ VII
ÇİZELGE LİSTESİ VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ IX
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL ve YÖNTEM 12
3.1. Materyal 12
3.1.1 Balıkçı Siyahı (*Vitis labrusca* L.) 12
3.2. Yöntem 13
3.2.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu 13
3.2.2 Besin Ortamının Hazırlanması 13
3.2.3 Bitki Materyalinin Hazırlığı ve Kültüre Alınması 15
3.2.4 Kültür Koşulları 16
3.3 İncelenen Özellikler 16
3.3.1 Bitki Canlılığı (%) 17
3.3.2 Sürgün Uzunluğu (cm) 17
3.3.3 Sürgün Yaş Ağırlığı (g) 17
3.3.4 Sürgün Kuru Ağırlığı (g) 17
3.3.5 Sürgündeki Boğum Sayısı (adet) 17
3.3.6 Sürgündeki Yaprak Sayısı (adet) 17
3.3.7 Yaprak Taze Ağırlığı (g) 17
3.3.8 Yaprak Kuru Ağırlığı (g) 17
3.3.9 Yaprak Turgor Ağırlıkları 18
3.3.10 Klorofil İçeriği (SPAD) 18
3.3.11 Zararlanma Derecesi (1-4) 18
3.3.12 Sürgün Tolerans oranı (TO) 18
3.3.13 İyon akışı (%) 19
3.3.14 Hücre zarı zararlanma oranı (HZZO, %) 19
3.3.15 Eksplant oransal su kapsamı (%) 20
3.4 İstatiksel Analiz 20
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 21
4.1 Büyüme ve Gelişim Parametrelerine ait Bulgular 21
4.1.1 Bitki Canlılığı (%) 21
4.1.2 Sürgün Uzunluğu (cm) 22
4.1.3 Sürgün Yaş ve Kuru Ağırlığı (g) 23
4.1.4 Sürgündeki Boğum Sayısı (adet) 24
4.1.5 Sürgündeki Yaprak Sayısı (adet) 26

4.1.6 Yaprak Yaş ve Kuru Ağırlığı (g) 27
4.1.7 Klorofil İçeriği (SPAD) 27
4.2 Fizyolojik Parametre Bulguları 29
4.2.1 Zararlanma Derecesi (1-4) 29
4.2.2 Sürgün Tolerans oranı (TO) 30
4.2.3 Yaprak Turgor Ağırlığı (g) 31
4.2.4 İyon akışı (%) 32
4.2.5 Hücre zarı zararlanma oranı (HZZO, %) 33
4.2.6 Eksplant oransal su kapsamı (%) 34
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 36
6. KAYNAKLAR 38
ÖZGEÇMİŞ 43

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Mikro Çelik Görünümü. 12
Şekil 3.2 Ortam Hazırlık Aşamalarından Görünüm 14
Şekil 3.3 Mikro Çeliklerin Yüzey Sterilizasyonuna Ait Görünüm 15
Şekil 3.4 Eksplantların Kültüre Alınmasından Görünüm 16
Şekil 3.5 Boğumlardan Oluşan Sürgünlerin Köklendirme Ortamlarına Transfer Edilmesi 16
Şekil 3.6 Bitki Zararlanma Derecesi Skalasından Görünüm 18
Şekil 3.7 İyon Akışının Belirlenme Aşamasından Bir Görünüm 19
Şekil 4.1 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Bitki Canlılığı Üzerine Etkisi 21
Şekil. 4.2 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Uzunluğu Üzerine Etkisi 23
Şekil 4.3 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi 24
Şekil 4.4 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Yaş Ağırlığı Üzerine Etkisi 24
Şekil 4.5 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgündeki Boğum Sayısı Üzerine Etkisi 25
Şekil 4.6 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgündeki Yaprak Sayısı Üzerine Etkisi 26
Şekil 4.7 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Klorofil İçeriği Üzerine Etkisi 28
Şekil 4.8 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Zararlanma Derecesi Üzerine Etkisi 29
Şekil 4.9 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Zararlanma Derecesi Görünümü 30
Şekil 4.10 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Tolerans Oranı Üzerine Etkisi 30
Şekil 4.11 *İn vitro*' da Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinde Farklı Dozdaki Sorbitol Uygulamalarının İyon Akışı Üzerine Etkisi 32
Şekil 4.12 Farklı Sorbitol Dozlarının Hücre Zarı Zararlanma Oranı Üzerine Etkisi. 33
Şekil 4.13 Farklı Sorbitol Dozlarının Eksplant Oransal Su Kapsamına Etkisi 35

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 MS temel besin ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962)..... 14
Çizelge 4.1 Sorbitol'ün sürgün büyüme ve gelişimi üzerine etkisi. 26
Çizelge 4.2 Sorbitol'ün Bazı Gelişim ve Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi. ... 31

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

%	:	Yüzde
cm	:	Santimetre
MS	:	Murashige ve Skoog
°C	:	Santigrad Derece
g	:	Gram
mg	:	Miligram
mm	:	Milimetre
M	:	Molar
CO_2	:	Karbondioksit
Atm	:	Atmosfer
µM	:	Mikromolar
mg/l	:	Miligram/Litre
g/l	:	Gram/Litre
HCl	:	Hidroklorik Asit
BA	:	Benzil Adenin
IBA	:	Indole-3-butirik asid
NaOCl	:	Sodyum Hipoklorit
Ca	:	Kalsiyum
K	:	Potasyum
P	:	Fosfor
Zn	:	Çinko
Cu	:	Bakır
Mn	:	Mangan
KOH	:	Potasyum Hidroksit
CO_2	:	Karbondioksit
Mg	:	Magnezyum
m^3	:	Metreküp

1. GİRİŞ

Tabii afetlerin en başında yer alan kuraklık, çevreye ve insana çok fazla zarar vererek büyük kayıplara yol açmaktadır. Dünyada ise, küresel ısınma nedeniyle meydana gelen orman yangınları, yağışların azalması, sera gazlarındaki artış, su kaynaklarının yetersiz kalması ve iklim değişikliği ile birlikte ülkeleri tehdit eden büyük bir sorun haline gelmiştir (Hekimoğlu ve Altındeğer, 2008). Ayrıca kuraklık stresi, Dünya üzerinde ekilebilir alanlarda görülen stres faktörleri içerisinde %26'lık oranla en büyük paya sahiptir. (Kalafatoğlu ve Ekmekçi, 2005). Bitkilerin hayatta kalabilmeleri için ihtiyaç duydukları nemi bulamamaları nedeniyle kuraklık stresi, yağışların yeterli olmadığı bölgelerde yaygındır (Sircelj ve ark., 2007). İklim föktörleri arasında üretim ve verim üzerinde en yüksek etkiye sahip olan yağış faktörünün, zamansal ve mekânsal olarak bitkilerde çok büyük değişimlere sebep olduğu bilinmektedir (Kapluhan, 2013).

Yaşanan iklim değişikliğiyle beraber dünyanın birçok bölgesinde olduğu gibi ülkemizde de özellikle yaz aylarında yağışların azaldığı ve düzensiz olduğu görülmektedir (Kaynaş ve Kaynaş, 2003). İklim değişikliği ile birlikte ülkemizde sıcaklık değerleri yükselecek ve yükselen bu sıcaklıktan, yeterli suya sahip olmayan yarı kurak ve kurak bölgelerin etkilenebileceği öngörülmektedir. Yağış miktarında meydana gelen bu azalışlar ve yağışın aylara olan dağılımının düzensizliğinden dolayı bitki veriminin ve tarımsal üretimin olumsuz yönde etkilenmesi tahmin edilmektedir (Öztürk, 2002). Ülkemiz iklim değişikliğinden muhtemelen etkilenecek risk grubu ülkeler arasında bulunacağı ve özellikle ilerleyen zamanlarda İç Anadolu ve Akdeniz bölgelerimizin küresel ısınmadan daha fazla etkileneceği bildirilmiştir (Sircelj ve ark., 2007). Bu bağlamda Türkiye 2006-2007 yılları arasında son 37 yılın en kurak 5. dönemini yaşamış ve bu dönemden en fazla İç Anadolu, Ege ve Marmara Bölgelerinin etkilendiği saptanmıştır (Şimşek ve Çakmak, 2010).

Dünya'da nüfusunun hızla artmasıyla beraber kişi başına tüketilen su miktarı da artmıştır. 1700'lü yıllarda kişi başına tüketilen su miktarı 110 m^3 iken, bu miktarın büyük bir bölümünün tarım alanlarının sulanmasında kullanıldığı, 1990'lı yıllarda ise bu miktarın 40 kat arttığı bilinmektedir (Kılıç, 2008). Dünyadaki ürün kaybının %50'den daha fazlasına abiyotik stres faktörleri neden olmaktadır (Wang ve ark.,

2001; Wang ve ark., 2003). Bitkiler kuraklık, sıcaklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres faktörlerine, büyüme ve gelişmeleri en az zarar görecek şekilde fizyolojik ve metabolik olaylarla tepki vermektedirler. Kuraklık stresi, bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Kuraklık stresi bitkilerde birçok fizyolojik, biyokimyasal ve metabolik olayları etkilemekte ve buna bağlı olarak bitkiler, çevre koşullarına uyum sağlayabilmek adına tolerans mekanizmaları geliştirebilmektedirler (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Kuraklık stresi, bitkilerde hücrelerin bölünmesini engelleyerek bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Bununla beraber turgor basıncının azalması ve transpirasyonla kaybedilen su miktarındaki azalma ile birlikte mineral madde alımını engellemekte bu durum ise, bitki gelişimini olumsuz etkileyerek doğrudan verimi azaltmaktadır. Buna dayalı olarak tarımsal üretimde en önemli sınırlayıcı faktörlerden biri kuraklık olarak bildirilmiştir (Capell ve ark., 2004, Faroog ve ark., 2009). Kuraklık stresinde transpirasyonla kaybedilen su miktarındaki azalma ile birlikte, yapraklarda ve köklerde oluşan morfolojik değişimler topraktaki suyu daha yüksek bir kuvvetle absorbe ederler (Çırak ve Esendal, 2006; Kutlu, 2010). Bitkiler kuraklık stresine girdiklerinde yapraklarını dökerek ve yaprak alanlarını küçülterek su kaybını ve transpirasyonu azaltmaya çalışmaktadırlar. Yaprak alanındaki azalmayla birlikte birim alandaki CO2 fiksasyonu da azalır. Bu nedenle bitki daha az fotosentez yapar ve harcadıklarını yerine koyamadığı için gelişme ve büyümede yavaşlar. Buna ilaveten yaprak yüzeyindeki tüyler alttaki hücrelerin sıcaklığını 1-2°C düşürerek transpirasyon hızını düşürür. Ayrıca yaprak yüzeyindeki mum üretimi artar ve kütikula tabakası güneş ışınlarını yansıtarak sıcaklığın etkisini azaltır, böylece transpirasyon hızı azalır (Göksoy ve Turan, 1991; Costa-França ve ark., 2000; Türkan ve ark., 2005). Son olarak, kuraklık stresi bitkide su potansiyelinde azalma, yapraklarda solma, hücre büyüme ve gelişmesinde azalma ve stomaların kapanması şeklinde görülmektedir. Şiddetli kuraklık ise, metabolizma bozukluğu, fotosentezin azalması ve son olarak ölümle sonuçlanabilir (Bohnert ve Jensen, 1996). Bu sebeple bitkilerde su eksikliği ürün kayıplarına yol açtığından bitki yetiştiriciliği için önemli bir faktördür.

Asmanın kuraklık stresine olan dayanıklılığı strese maruz kalma süresine göre değişmekle birlikte, çiçeklenme döneminde ve çiçeklenmeden hemen sonra daha

duyarlı hale gelmektedir. Su stresinin ürün üzerindeki etkisi kuraklığın şiddetine ve maruz kalma süresine göre değişmektedir (Grimplet ve ark., 2007; Deluc ve ark., 2009; Chaves ve ark., 2010). Bağ alanlarının büyük bir bölümü, yüksek sıcaklıkla birlikte toprak ve havanın nispi neminde azalmalara neden olan, ürün kalite ve veriminde de fazlasıyla sınırlamalara yol açan mevsimsel kuraklığın görüldüğü yerlerde yaygındır (Chaves ve ark., 2007). Kuraklık üzerine yıllık yağış miktarından ziyade, yağışın aylar üzerine düzgün dağılışı etkilidir (Çırak ve Esendal, 2006). Ancak bağ alanlarının ekolojik özellikleri esas alındığında, genel olarak yağış miktarının vejetasyon döneminde düşük olduğu bilinmekte ve bu durumun, verim ve kalite üzerine önemli etkilere neden olduğu gözlenmektedir (Ağaoğlu ve ark., 2003).

Bazı çoğaltma yöntemlerinin sınırlı sayıda ve uzun zaman içerisinde bitki üretimine imkan sağlaması, hastalık ve zararlıların taşınmalarına ve istenmeyen mutasyonlara neden olması gibi olumsuz özellikleri vardır. Bu özellikler nedeniyle günümüzde bitki çoğaltımında virüsten arındırılmış çeşitlerin daha hızlı ve üretimde daha etkili olan doku kültürü yöntemlerinin önem kazandığı görülmektedir. Asmada ilk mikro çoğaltmanın mikro çeliklerden bitkicik elde edilmesi için kullanıldığı bilinmektedir (Jean ve ark., 1998; Kinfe, 2010). Doku kültürü yöntemiyle çoğaltma ile, genetiksel olarak homojen bitki popülasyonlarının çoğaltılmasıyla birlikte daha kuvvetli, patojenden ari ve verimi yüksek bitkilerin üretimi sağlanabilmektedir (Murashige and Skoog, 1974; Blazina ve ark., 1991). Doku kültürünü alışılmış yöntemlerin dışında, steril şartlar sağlanmasıyla, yapay bir besin ortamı içerisinde bitkinin hücre, doku veya organ gibi bölümlerinden yararlanarak, yeni baştan doku ya da bitki üretilmesi veya çoğaltılması şeklinde tanımlamak mümkündür. Bitki doku kültürü teknikleri, bitki ıslahında ve ıslah dışı uygulamalarda da fazlasıyla kullanılmaktadır. Bitki ıslahında, haploid bitki üretimi, in vitro seleksiyon, in vitro döllenme, genetik kaynakların muhafazası, protoplast füzyonu, gen transferi vb. gibi alanlarda kullanılırken; ıslah dışında da mikro çoğaltım, sentetik tohum üretimi, sekonder metabolit üretimi gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001). In vitro olarak yetiştirilen bitki dokuları farklılaşarak kök, sürgün ve yaprak gibi yeni organları doğrudan ya da dolaylı olarak meydana getirebilirler.

Abiyotik stresin bitkiler üzerindeki etkilerini incelemek için, in vitro koşullarda fiziksel ortamın sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir (Verslues

ve ark., 2006; Kielkowska ve ark., 2012). Doku kültüründe stres, besin ortamına bazı özel bileşiklerin ilavesiyle uyarılabilir. Fizyokimyasal özelliklerine bağlı olarak bu bileşikler, stresi tetikleyici iyonik ve hücreye nüfuz eden gibi sınıflara ayırmak mümkündür. Bunlar iyonik olmayan ve nüfuz eden (mannitol, sorbitol) ve iyonik olmayan ve nüfuz etmeyen (polietilen glikol (PEG)) şeklinde ayrılabilir (Gangopadhyay ve ark., 1997). Genel olarak, kuraklık stresi kültür ortamına PEG, mannitol veya sorbitol gibi bileşiklerin eklenmesiyle yapay olarak oluşturulabilir (Ahmad ve ark., 2007). Mannitol veya sorbitol gibi ozmotikler, hücrelerden mineral alımını engellerler. Bu nedenle bitkilerin büyüme ve gelişmesi yavaşlar ve olumsuz etkilenir (Dodds ve Roberts, 1985; Thomson ve ark., 1986). Yapay kuraklık stresi oluşturmak amacıyla polietilen glikol (PEG) veya sorbitol kullanıldığına dair birçok çalışma bulunmaktadır. Sorbitol aslında bitkiler tarafından metabolize edilmeyen bir çözeltidir. Buna ilaveten besin ortamının ozmotik potansiyelini azaltır ve bitkiler tarafından metabolize edilmeyen su stresini oluşturur (Rai ve ark., 2011; Bidabadi ve ark., 2012; Placide ve ark., 2012; Vanhove ve ark., 2012).

Karadeniz Bölgesinde Amerika üzümü, çilek üzümü, kokulu kara üzüm veya İzabella gibi farklı isimlerle tanınan Labrusca grubu üzüm tipi bakımından oldukça zengin bir potansiyel bulunmaktadır (Oraman, 1972; Çelik ve ark., 1998; Çelik, 2004). Bu bölgede yaygın olarak yetişen kokulu üzümler, gerek bahçelerde çardak şeklinde gerekse, ormanlarda ağaçlara sarılarak yetiştiği ve hatta serbest bırakıldığında ağaçlara sarılarak 12 m'ye kadar tırmandığı bilinmektedir. Ayrıca bu türe giren üzüm tipleri mantari hastalıklardan etkilenmemekle beraber herhangi bir ilaçlama yapmadan yetişebilmektedirler (Cangi, 1999; Çelik, 2004).

Yapılan bu çalışma ile hem kokulu kara üzüm tiplerinden biri olan Balıkçı Siyahı'nın tek boğumlu mikro çelikleri kullanılarak *in vitro* koşullarda yapay bir kuraklık oluşturma imkânı sunan sorbitolün etkinliği belirlenmiş hem de bu amaca yönelik en etkili sorbitol dozu/dozları belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Al-Khayri ve Al-Bahrany (2002), *in vitro* koşullarda farklı konsantrasyonlarda sorbitol ve sukroz tarafından uyarılan ozmotik stresin, pirinç kallus kültürünün (*Oryza saliva L.*) büyüme ve prolin birikmesi üzerine tepkilerini incelemişlerdir. Düşük sorbitol konsantrasyonlarında kallus büyümesinin arttığı, yüksek sorbitol konsantrasyonlarında ise kallus büyümesinin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca araştırıcılar sorbitol konsantrasyonunun arttıkça, sukroz konsantrasyonundan bağımsız olarak pirinç kallusundaki prolin birikiminin arttığını bildirmişlerdir. Araştırıcılar hem sorbitol hem de sukrozun ozmotik strese katkıda bulunduğunu ve buna bağlı olarak prolin birikiminin ilave bir şekilde arttığını bildirmişlerdir.

Brito ve ark., (2003) *Olea europaea* spp. Maderensis sürgünlerini *in vitro* şartlarda 2 ay DKW (Driver ve Kuniyuki Ceviz ortamı) ortamında yetiştirmiştir. Sürgünler DKW ortamında 0.1 M (orta kuraklık stresi) ve 0.2 M (şiddetli kuraklık stresi) sorbitol kullanılarak kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. Şiddetli kuraklık seviyesi (0.2 M) sürgün gelişimini azaltırken, orta dereceli kuraklık seviyesinin (0.1 M) sürgün gelişimini etkilemediği ve K içeriğini yükselterek ozmotik düzenlemeye teşvik ettiği gözlemlenmiştir. Şiddetli kuraklık seviyesi (0.2 M) sorbitol konsantrasyonunda lipid peroksidasyonun arttığı, buna karşın su ve çözünebilir protein içeriğinin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca sürgünlerdeki Mg ve Zn içeriği her iki sorbitol konsantrasyonunda da düşük bulunmuştur. Aynı zamanda şiddetli kuraklık stresinde de K ve Cu içeriğinin azaldığı belirtilmiştir.

Turhan ve Baser (2004) bu araştırmada ayçiçeği çeşitlerinin kuraklık stresine karşı tepkilerini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırmışlardır. *İn vitro* kuraklık için bir dizi polietilen glikol (PEG1000) konsantrasyonuyla takviye edilmiş Murashige ve Skoog bazal ortamı kullanılmıştır. Hem *in vitro* hem de *in vivo* denemelerden elde edilen sonuçlar, bitki büyümesinin artan PEG konsantrasyonları içinde azaldığını göstermiştir. Ayrıca çeşitler arasında kuraklığa tepkileri açısından da farklılıklar görülmüştür. *İn vitro* (kök sayısı hariç) ve *in vivo* karakterler arasındaki önemli korelasyonlar, *in vitro* yaklaşımın arazi denemesinden önce kuraklık tepkisinin taranması ve seçilmesinde faydalı olabileceğini göstermiştir. Ölçülen tüm *in vitro*

karakterler (kök sayısı hariç), ayçiçeği genotiplerinin kuraklık karşısında *in vivo* performansı için ipuçları verebileceğini göstermiştir.

Gopal ve Iwama (2007), bu araştırmada 3 farklı patates genotiplerinin kuraklığa dayanımını belirlemeyi hedeflemişlerdir. *İn vitro* şartlarda MS ortamına farklı dozlarda (0, 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 M) sorbitol ve (0.000, 0.003, 0.006, 0.009, 0.012 M) polietilen glikol (PEG) ilave edilerek sürgün ve kök büyümeleri incelenmiştir. Tüm genotiplerde sorbitol konsantrasyonundaki artışla birlikte bitki boyu azaldı. Tüm genotiplerde 0.3 M ve 0.4 M sorbitol içeren ortamlarda sürgün büyümesi çok az olmuştur. Araştırıcılar, 0.2 M sorbitol ve 0.003 M PEG uygulanmış IWA-1, IWA-3 ve IWA-5 genotiplerindeki kök uzunluğu, kök hacmi ve kök-kuru ağırlığının daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Denemede patatesin kısıtlı su-stresi şartlarında *in vitro* taranmasının, arazi koşullarında beklenen kök kütle üretimine yönelik genotipleri etkili bir biçimde belirlemek amacıyla, bir sistem sağlayabileceği neticesine varılmıştır.

Hassan ve Bekheet (2008) ozmotik stres ortamının, *in vitro* yetiştirilen çilek kültürlerinin orta vadeli depolanması üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. MS ortamına (0.1, 0.2 ve 0.4 M) mannitol ve sorbitol ilave edilerek ozmotik stres oluşturulmuş, hayatta kalma yüzdesi (%), sürgün sayısı ve eksplant başına kök sayısı 4, 6, 10, 14 ve 15 aylık depolamadan sonra incelenmiştir. En yüksek hayatta kalma yüzdesi 0.2 M sorbitol ortamında gözlenirken, sürgün sayısı 10 aylık depolamadan sonra artmıştır. Sürgün üzerindeki kök sayısı 0.1 ve 0.2 M sorbitol konsantrasyonlarında gözlenmiştir ve tüm diğer uygulamalarda ise sürgün üzerinde kökler gözlenmemiştir.

Abu-Romman (2010), hıyar (*Cucumis sativus* L.) tohumlarına *in vitro* koşullarda MS ortamına (0, 25, 50, 75 ve 100 mM) sorbitol ilavesiyle ozmotik stres oluşturulmuş ve kallus büyümesi, bitki canlılığı, bitki yaş ve kuru ağırlıkları incelenmiştir. Kallus büyümesi, canlılığı, taze ve kuru ağırlığı yüksek sorbitol seviyelerinde önemli ölçüde azalmıştır. Taze ağırlıkta ve nispi büyümede 75 mM' ye kadar her artış için önemli düşüşler gözlemlenmiştir. En az kallus kuru ağırlığı 75 ve 100 mM sorbitol konsantrasyonunda gözlenmiş olup, kontrol, 25 mM ve 50 mM konsantrasyonlarında kallus ağırlığı değişmemiştir.

Sorkheh ve ark., (2010) 8 yerli İran bademi türünü ‘Euamygdalus’ (*Prunus communis, Prunus eleagnifolia, Prunus orientalis*); ‘Lycioides’ (*Prunus lycioides, Prunus reuteri*); ‘Spartioides’ (*Prunus arabica, Prunus glauca, Prunus scoparia*) *in vitro* koşullarda sorbitol ve polietilenglikol kullanarak kuraklık toleransı açısından değerlendirmişlerdir. Araştırıcılar türler bazında "Spartioides" den gelen yabani türlerin "Lycioides" ve "Euamygdalus" dan gelen türlere göre kuraklıktan daha az etkilendiğini belirlemişlerdir. Ayrıca aynı su potansiyelinde, sorbitolün PEG'den daha düşük yan etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. 0.2 M sorbitol ve 0.003 M PEG ilave edilen ortamda yetişen 'Spartioides', toplam kök uzunluğu ve kök hacminin yanı sıra, 'Lycioides' ve 'Euamygdalus'ın köklerinden önemli ölçüde daha fazla kök üretmiştir.

Albiski ve ark., (2012) on sekiz patates çeşidinin (*Solanum tuberosum L.*) *in vitro* koşullarda sürgün ve kök gelişimi ölçülerek kuraklık toleransı açısından taramışlardır. MS besin ortamına %2, %4, %6, %8 ve %10 sorbitol ekleyerek kuraklık stresi oluşturulmuştur. Kültürdeki kuraklık stresi bitki büyümesini olumsuz yönde etkilerken ortamın su potansiyeli sorbitol ilavesiyle azalmıştır. Kuraklık stresine bağlı olarak bitki boyu, gövde kalınlığı, yaprak alanı, yaprak sayısı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök kalınlığı, bitki yaş ve kuru ağırlıkları ile bitki su içeriği azalmıştır.

Karimi ve ark., (2012) yarı kurak ve kurak koşullarda 5 badem çeşidi ve bir hibrit anacın (GF 677) *in vitro* koşullarda kuraklığa dayanımını incelemişlerdir. 3 farklı dozda PEG 6000 ile oluşturulan kuraklık stresiyle, bitkilerin bitki büyüme endeksleri, yaprak oransal su içeriği (RWC), toplam klorofil ve yanal sürgün sayısı gibi özellikleri incelenmiştir. İncelenen kriterlerin kuraklık şiddetinin artmasıyla, kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür. Öte yandan kuraklık stresi altında prolin konsantrasyonu ve lateral sürgün sayısı önemli ölçüde artmıştır. Eksplantlarda prolin birikiminin, badem kuraklık stresine genel bir tepkisi olduğu bulunmuştur. Sonuçlar, kuraklığa dayanıklı badem genotiplerinin *in vitro* denemelerde taranabileceğini göstermiştir.

Placide ve ark., (2012) kuraklığa dayanıklı muz (*Musa* sp.) çeşitlerini seçmek amacıyla *in vitro*’da yapay kuraklık stresi oluşturmuşlardır. Williams, Popoulou,

Obino l'Ewai, Lep Chang Kut, Mbwazirume (kuraklığa duyarlı) ve Cachaco (kuraklığa toleranslı) muz çeşitleri, 0.09 M sukroz, 0.09 M sorbitol, 0.09 M sukroz + 0.1 M sorbitol, 0.09 M sukroz + 0.2 M sorbitol, 0.09 M sukroz + 0.3 M sorbitol, 0.09 M sukroz + 0.4 M sorbitol, 0.09 M sukroz + 0.5 M sorbitol konsantrasyonları ilave edilerek MS sıvı ortamında yetiştirilmiştir. Ozmotik stres nedeniyle bitki büyümesinde en az etkilenme Cachaco gösterirken en fazla olumsuz etkilenme ise Mbwazirume çeşidinde belirlemişlerdir. Ortamda 0.1 ila 0.5 M sorbitol tarafından ilave edilen farklı ozmotik stres seviyelerinin araştırılması ve bunların muz bitkiciklerinin büyümesi üzerindeki etkilerine bakıldığında, 0.2 M sorbitol konsantrasyonunun farklı büyüme parametrelerini ortaya çıkarmak için en yüksek konsantrasyon olduğunu kanıtlamışlardır. Araştırıcılar tüm muz çeşitlerinin sorbitol kaynaklı ozmotik stresden etkilendiğini, ancak duyarlılık derecesinin farklı olduğunu gözlemlemişlerdir. Çoğu büyüme parametresi için Cachaco en düşük azalmayı gösterirken, Mbwazirume ozmotik stres nedeniyle en yüksek azalmayı göstermiştir. Williams ve Lep Chang Kut çeşitleri, Cachaco'dan sonra bir düzeyde kuraklığa tolerans göstermiştir. Ardından Obino l'Ewai dördüncü sırayı alırken, Popoulou beşinci sırayı almıştır. Mbwazirume, değerlendirilen birçok büyüme parametresinde yüksek azalma ile sorbitol kaynaklı ozmotik stres toleransında son sırada yer almıştır. Bu çalışmadan, kuraklığa dayanıklı muz çeşitlerini belirlemek için *in vitro* bir teknik geliştirmişler ve Cachaco ve Lep Chang Kut'un kuraklığa toleransını ve Mbwazirume'nin kuraklığa duyarlılığını kanıtlanmışlardır. Toplam yaş ve kuru ağırlık, yeni yaprak sayısı ve yaprak alanını, *in vitro* koşullarda kuraklığa dayanıklı muz çeşitlerinin belirlenmesi için uygun büyüme parametreleri olarak belirlemişlerdir. Araştırıcılar sorbitolün, *in vitro* muz bitkisi yetiştiriciliğinde iyi bir bir enerji kaynağı olmadığını ve nötr bir ozmotik indükleyici olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Danial ve ark., (2014) MM 106 elma anacı (*Malus domestica Borkh*.) ve armut (*Pyrus calleryana*)'dan alınan explantları MS ortamında kültüre almışlardır. Polietilen glikol konsantrasyonun (PEG 6000) dört farklı dozunun (% 0.0, %2, %4, %6) ortama eklenmesiyle kuraklık stresi oluşturulmuştur. %4 ve %6 dozunda daha şiddetli olmakla birlikte sürgün sayısında ve sürgün uzunluğunda azalma olduğu tespit edilmiştir.

Bundig ve ark., (2017) *in vivo* ve *in vitro* koşullarda on sekiz patates genotipini (Eurobravo, Euroflora, Euronova, Euroresa, Eurostarch, Heidrun, Jasia, Kiebitz, Kolibri, Kormoran, Lambada, Maxi, Priamos, Ramses, Sibu, Tomba, Topas, Verdi) ve iki yabani türünü (*S. tarijense, S. chacoense*) kuraklık toleransı bakımından değerlendirmişlerdir. Araştırıcılar MS ortamına sorbitol ilavesiz ve 0.2 M sorbitol ilave ederek kuraklık stresi oluşturmuşlardır. *İn vitro* koşullarda her genotipte ve yabani türde bitki büyümesi, kök yaş ve kuru ağırlığı ve sürgün büyümesi azalmıştır. Kuru ağırlıkta en fazla azalma yabani türlere kıyasla, genotiplerde meydana gelmiştir. Bununla birlikte, her iki koşulda da en toleranslı genotip 'Maxi've en hassas genotipin 'Eurobravo' olduğu bildirilmiştir.

Gelmesa ve ark., (2017) *in vitro* koşullarda ozmotik stres toleransı için farklı patates genotiplerini değerlendirmek ve kuraklığa toleranslı genotipleri tanımlamak için kültür ortamında iki konsantrasyonda (0.1 ve 0.2 M) sorbitol kullanarak ozmotik stresin uyarılmasını sağlamışlardır. Toleranslı genotipte her iki sorbitol konsantrasyonunda da kök ve sürgün büyümesi önemli ölçüde etkilenmezken, duyarlı genotipde kök ve sürgün büyümesi önemli ölçüde olumsuz etkilenmiştir.

Kiełkowska (2017), *in vitro*'da kültüre alınmış soğanda (*Allium cepa L.*) çeşitli sorbitol konsantrasyonlarının (100, 200 ve 360 mM) ve NaCl'nin (100, 200 ve 300 mM) kök meristem hücreleri üzerindeki etkilerini incelemiştir. Her iki kök meristem hücredeki çekirdek hacminin ve kesit alanının ozmotik stres altında azaldığını gözlemlemiştir. Araştırıcı, NaCl (200 mM) ve sorbitol (360 mM), konsantrasyonlarında ise mitodepresif etkiler gözlendiği belirtmiştir.

Marssaro ve ark., (2017) *in vitro* şartlarda kuraklığa toleranslı muz genotiplerini (*Musa* sp.) seçmek amacıyla BRS Tropical ve Prata Anã çeşitlerini incelemişlerdir. Araştırıcılar MS ortamına 15, 30, 45 ve 60 g L^{-1} PEG6000 ve 18.2, 36.4, 54.6 ve 72.8 g L^{-1} sorbitol ilave ederek kuraklık stresi oluşturmuşlardır. Sorbitol ve PEG konsantrasyonlarının büyümeyi durduramadığı, ancak kontrol ile karşılaştırıldığında düşük bir büyüme sergilediği ve PEG içinde yetiştirilen çeşitlerin sorbitol içinde yetiştirilenlerden daha fazla bir azalma gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, *in vitro* su stresi simülasyonu için en iyi konsantrasyonların 15 g L^{-1} PEG ve 36.4 g L^{-1} sorbitol olduğu bildirilmiştir.

Şimşek ve ark., (2018) Troyer sitranjı ve C-35 sitranjı turunçgil anaçlarını kullanmışlardır. Bu anaçlara ait tohumlar çimlendirildikten sonra *in vitro* koşullarda 5 farklı dozda PEG 8000 (%0, 1, 2, 4 ve 6) kuraklık stresine maruz bırakılarak çoğalma performansları ve kuraklığa karşı verdikleri reaksiyon belirlenmiştir. Her iki anacında verdikleri tepkilere bakıldığında artan PEG konsantrasyonlarında yaşamları ve çoğalmalarına devam ettirdikleri ancak, performanslarının artan doza göre gerilediği tespit edilmiştir.

Meşe ve Tangolar (2019), Kober 5 BB (kuraklığa hassas), 110 R (kuraklığa dayanıklı) ve 1103 P (kuraklığa orta dayanıklı) anaçları kullanılarak, *in vitro* koşullarda kuraklığa dayanımın erken belirlenmesi için uygun Polietilen Glikol (PEG) dozunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Sürgünlerden alınan boğumlar *in vitro* şartlarda 1 mg/L BA içeren Murashige ve Skoog (MS) ortamında kültüre alınmış ve sonrasında bu boğumlardan elde edilen sürgünler yapay kuraklık stresi oluşturmak amacıyla %0, %2.5, %5.0, %7.5 ve %10.0 oranında PEG ilave edilmiş 1 mg/L IBA içeren MS ortamına transfer edilmiştir. Altı haftalık kültür sonunda sürgünlerin zarar derecesi, bitki boyu, boğum sayısı, ortalama kök uzunluğu ve kök sayısı, bitki yaş ve kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlığı, klorofil miktarı ve bitki besin elementi içerikleri gibi fizyolojik paremetreler incelenmiştir. Artan PEG dozlarıyla birlikte zarar derecesinin arttığı, büyüme ve gelişmenin gerilediği, bitki yaş ve kuru ağırlığı ile kök yaş ve kuru ağırlığının azaldığı belirlenmiştir. Bitki boyunun, kontrol uygulamasında 6.5 cm iken %7.5 ve %10PEG' de 1.7 cm olarak tespit edilmiştir. Kontrol bitkilerine kıyasla bitki yaş ve kuru ağırlığı (sırasıyla, 0.257 ve 0.042 g) ile kök yaş ve kuru ağırlığı (sırasıyla, 0.218 ve 0.023 g) PEG dozlarından daha yüksek çıkmıştır. Klorofil miktarının ise artan PEG dozuyla birlikte azaldığını gözlemlemişlerdir. Besin elementi içeriklerine bakıldığında ise, farklı PEG uygulamalarında, P, K ve Ca ile Mn ve Cu element değerlerinin kontrol bitkilerine kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, asma anaçlarında kurağa dayanımın *in vitro* şartlarda erken belirlenmesi amacıyla PEG'in özellikle %2.5 ve %5.0 dozları ile, sürgün ve kök özelliklerinin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Geçene (2020) *in vitro* koşullarda kuraklık stres toleransının 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinde (*Vitis labrusca L.*) PEG kullarak değerlendirilmesini amaçlamıştır.

Bunun için Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine 5 farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave edilerek yapay kuraklık stresi oluşturulmuştur. Bitki canlılığı (%), sürgün uzunluğu (cm), sürgün boğum sayısı (n), sürgündeki yaprak sayısı (n), klorofil miktarı, sürgün yaş ağırlığı (g), sürgün kuru ağırlığı (g), yaprak taze ve kuru ağırlığı (g), hücre zarı zararlanma oranı (%), zararlanma derecesi, sürgün tolerans oranı, yaprak turgor ağırlığı (g), eksplant oransal su kapsamı (%), iyon akışı (%), kök sayısı (n), kök uzunluğu (cm), kök yaş ve kuru ağırlığı (g) parametreleri incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında PEG dozlarının artmasıyla birlikte bitki canlılığı (%), sürgün uzunluğu (cm), sürgün boğum sayısı (n), sürgündeki yaprak sayısı (n), klorofil miktarı, sürgün yaş ağırlığı (g), sürgün kuru ağırlığı (g), kök sayısı, kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlığının azaldığı, hücre zarı zararlanma oranının, iyon akışının, zarar derecesinin ise arttığı gözlemlenmiştir. En fazla zararlanmanın %4.5 ve %6.0 PEG içeren besin ortamlarında olduğu, bitki büyümesinin azaldığı tespit edilmiştir.

M. Harun-Or-Rashid ve ark., (2021) yerli ve yabancı olmak üzere 16 patates genotipinin (Yerli; Ausha, Chollisha, Dohazari, Jamalu, Lalpakri, Patnai, Sadaguti, Sheelbilati, Sindurkouta, Surjamukhi), (Yabancı; Arun, Asterix, Cardinal, Courage, Diamant, ve Granola) stres toleransı özellik indeksi (STTI), temel bileşen analizi (PCA) ve kümeleme analizi (CA) kullanılarak morfofizyolojik özellikler aracılığıyla kuraklık toleransının belirlenmesi amaçlanmıştır. Altı farklı sorbitol konsantrasyonu [kontrol= 0 (sorbitol olmayan), %2, %4, %6, %8 ve %10] ile takviye edilmiş MS ortamında, 4 tekerrürlü olmak üzere kültüre alınmıştırSonuçlara bakıldığında, temel bileşen analizi için, Arun, Granola, Surjomukhi, Sheelbilati, Jamalu, Chollisha, Patnai ve Dohazari çeşitleri kuraklığa tolerans açısından nispeten daha yüksek değerler göstermiştir. Kümeleme analizi için ise Arun, Granola ve Surjomukhi çeşitleri kuraklığa karşı yüksek tolerans göstermiştir. Test edilen genotiplerde sorbitol uygulamasına bağlı olarak sürgün uzunluğu ve kalınlığı, yaprak ve kök sayısı, kök uzunluk ve kalınlığı, yaş ve kuru ağırlık ve su içeriğinin azaldığı görülmüştür. Bu çalışmayla bitki yetiştiricileri ve biyoteknologların kuraklığa eğilimli bölgelerde patates tohumlarının/yumrularının seri üretimini geliştirmelerine yardımcı olunması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma 2021 vejetasyon döneminde Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yer alan Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Çalışmada Ordu Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Uygulama ve Araştırma bağından temin edilen kokulu üzümün (Balıkçı Siyahı üzüm tipinde) aktif büyüme dönemindeki sürgünlerinden alınan tek boğum içeren 2-3 cm uzunluğundaki mikro çelikleri kullanılmıştır (Şekil 3.1). Çalışmada kullanılan kokulu üzüm tipinin genel özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1 Balıkçı Siyahı (*Vitis labrusca* L.)

Balıkçı Siyahı üzüm tipi, *Rhamnales* takımı, *Vitaceae* familyası, *Vitoideae* alt familyası, *Vitis* cinsi içerisinde bulunmakta ve Amerikan kökenli türler arasında yer almaktadır (Çelik, 2007). Balıkçı Siyahı üzüm tipinin (*Vitis labrusca* L.) tane şekilleri yuvarlak olup, küçük veya orta büyüklükte ve parlak-siyah renktedir. Ayrıca yoğun bir pus tabakası ile örtülüdürler. Dış kabuğu oldukça kalın olup içerisinde yaklaşık 1-5 adet çekirdek bulundurmaktadır. Buna ilaven, dallı silindirik formdaki salkımları ise küçük ve oldukça dolgun yapılıdır. Bu üzüm çeşidinin tadı ise çilek aromalıdır (Çelik, 2006). Ülkemizde ise kokulu üzümler, Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak yetişmektedir (Çelik, 2007).

Şekil 3.1 Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Mikro Çelik Görünümü.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan bisturi, pens, kurutma kağıtları ve deney tüplerinin (15 cm x 2.5 cm), sterilizasyonları 1.05 atm basınç altında 121°C'de ki otoklavda 15 dakika tutularak sağlanmıştır.

3.2.2 Besin Ortamının Hazırlanması

Araştırmada mikro çeliklerin sürmesini sağlamak amacıyla, MS temel besin ortamı (Çizelge 3.1) ve büyüme düzenleyici olarak 1 mg/l BA (Benzil Adenin) kullanılmıştır. Sürgün köklendirme ve kuraklık stresi oluşturma aşamasında ise 1 mg/l IBA (Indole -3-butirik asit) kullanılmıştır.

Besin ortamının hazırlanmasında, bir miktar saf su içerisine 30 g sukroz ilave edilmiş ve balık yardımıyla eritilmiştir. Daha sonra toz haldeki hazır temel MS ortamı (Murashige Skoog, 1962, M5519, SIGMA) ve myo-inositol ve bitki büyüme düzenleyici (BA) ilave edildikten sonra saf su ile hacim tamamlama işlemi yapılmış, besin ortamının pH' sı, 0.1 N HCl ve 0.1 N KOH kullanılarak 5.8' e ayarlanmıştır. Ortama katılaştıcı olarak ise 8 g/L agar ilave edilmiş ve kaynatılmıştır (Şekil 3.2).

Ortam şeffaflaşıp kaynadıktan sonra, deney tüplerine yaklaşık 10 ml olacak şekilde eşit miktarda dağıtılmış ve tüplerin kapakları kapatılmıştır. Sonrasında hazırlanan ortamların sterilizasyonları 1.05 atm basınç altında ve 121°C'deki otoklavda 15 dakika tutularak sağlanmıştır. Sterilizasyonları gerçekleştirilen ortamlar sonrasında steril kabin içine transfer edilmiştir.

Yapay kuraklık stresi oluşturmak amacıyla1 mg/l IBA içeren hazır MS besin ortamına 5 farklı dozda sorbitol (0, 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 M) ilave edilmiştir.

Şekil 3.2 Ortam Hazırlık Aşamalarından Görünüm

Çizelge 3.1 MS temel besin ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962)

Bileşik	**Standart ortam konsantrasyonu (mg/l)**
Makro Elementler (x10)	
$CaCl_2.2H_2O$	440
KNO_3	1900
NH_4NO_3	1650
KH_2PO_4	170
$MgSO_47H_2O$	370
Mikro Elementler (x 100)	
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
H_3BO_3	6.2
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
KI	0.83
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.3
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
Vitaminler (x 100)	
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Büyümeyi Düzenleyiciler	
IBA (Indol butirik asit)	1 mg/l
BA (Benzil adenin)	1 mg/l
Organik Maddeler	
Myo-Inositol	100
Sukroz (g/l)	30
Agar (g/l)	8
pH	**5.8**

3.2.3 Bitki Materyalinin Hazırlığı ve Kültüre Alınması

Balıkçı Siyahı üzüm tipinden alınan mikro çelikler doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir. Sağlıklı bir sterilizasyon amacıyla yaprak kısımları çıkartılan mikro çeliklerin, bitki kaynaklı enfeksiyonların azaltılması amacıyla yüzey sterilizasyonu için, farklı doz ve sürelerde ticari çamaşır suyu yardımıyla bir ön deneme kurulmuştur. Bunun için mikro çelikler 1) %20 ticari çamaşır suyu içinde 10 dakika, 2) %20 ticari çamaşır suyu içinde 15 dakika, 3) %20 ticari çamaşır suyu içinde 20 dakika, 4) %15 ticari çamaşır suyu içinde 10 dakika, 5) %15 ticari çamaşır suyu içinde 15 dakika, 6) %15 ticari çamaşır suyu içinde 20 dakika bekletilmiştir.

Ön sterilizasyon denemesi sonucunda %20 ticari çamaşır suyu ve 20 dakika yüzey sterilizasyon süresinin uygun olduğuna karar verilmiş ve hazırlanan yüzey sterilizasyon çözeltisine 1-2 damla Tween 20 bulunduran çözelti içinde 20 dakika tutularak yüzey sterilizasyonları sağlanmış ve ardından steril kabin içinde steril saf su ile 3 defa çalkalanmıştır (Şekil 3.3).

Şekil 3.3 Mikro Çeliklerin Yüzey Sterilizasyonuna Ait Görünüm

Sterilizasyonu yapılan boğumların, alt tarafta 1.5 cm kalacak şekilde boğumun hemen üzerinden kesilmiştir. Hazırlanan eksplantlar steril kabin içinde 1 mg/l BA ilave edilmiş MS besin ortamına dikilerek, tüplerin kapakları kapatılıp ağızları streç film ile sarılmış ve iklimlendirme odasına alınmıştır (Şekil 3.4).

Şekil 3.4 Eksplantların Kültüre Alınmasından Görünüm

Ortalama 3 hafta sonrasında eksplantlarda yer alan boğumun sürmesiyle oluşan sürgünler eksplantlardan kesilip çıkarılmıştır. Köklendirilmesi ve kuraklığa karşı olan tepkilerinin incelenmesi amacıyla 1 mg/l IBA ve farklı sorbitol dozlarını (0, 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 M) içeren MS besin ortamına transfer edilmiştir (Şekil 3.5).

Şekil 3.5 Boğumlardan Oluşan Sürgünlerin Köklendirme Ortamlarına Transfer Edilmesi

3.2.4 Kültür Koşulları

Bitkilerin dikim işleminin tamamlanmasının ardından, sıcaklığı 25±2 ˚C, fotoperyodu 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde ve ışıklanması 3000-4000 lüks şiddetinde olan beyaz floresan lambaların bulunduğu büyütme odalarında tutulmuştur.

3.3 İncelenen Özellikler

Eksplantlardan sürgün oluşumu ve ardından oluşan sürgünlerin köklendirilmesi ve kuraklığa karşı verdikleri tepkilerin gözlemlenmesi amacıyla oluşturulan denemede bazı özellikler incelenmiştir.

3.3.1 Bitki Canlılığı (%)

In vitro koşullarda farklı dozlarda sorbitol uygulaması yapılmış olan bitkilerden canlı kalanların sayısı toplam bitki sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla elde edilmiş ve '%' ile gösterilmiştir.

3.3.2 Sürgün Uzunluğu (cm)

Farklı dozda sorbitol dozları uygulanan bitkilerde uygulama sonrası oluşturdukları sürgünler cetvel yardımı ile ölçülmüş ve 'cm' cinsinden değerlendirilmiştir.

3.3.3 Sürgün Yaş Ağırlığı (g)

Farklı dozda sorbitol dozları uygulanan bitkilerin uygulama sonrası oluşturdukları sürgünler ±0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla gram cinsinden sürgün yaş ağırlıkları belirlenmiştir.

3.3.4 Sürgün Kuru Ağırlığı (g)

Sürgün yaş ağırlığı belirlenen sürgünler, etüvde 65 ºC de 72 saat kurutulduktan sonra ±0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla gram cinsinden sürgün kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

3.3.5 Sürgündeki Boğum Sayısı (adet)

Farklı dozda sorbitol uygulanan bitkiciklerin boğum sayısı adet olarak belirlenmiştir.

3.3.6 Sürgündeki Yaprak Sayısı (adet)

Farklı dozda sorbitol uygulanan bitkiciklerin bulundurduğu yapraklar adet olarak belirlenmiştir.

3.3.7 Yaprak Taze Ağırlığı (g)

Sorbitol uygulaması sonrasında bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bitkiciğin taşıdığı yaprağın taze ağırlıkları ±0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla tartılmış ve gram cinsinden belirlenmiştir.

3.3.8 Yaprak Kuru Ağırlığı (g)

Yaş ağırlıkları belirlenen yaprakların kuru ağırlıkları 65°C ye ayarlanmış etüvde 24 saat tutulup kurutulması sonrasında ± 0.001 g duyarlıktaki hassas terazi yardımıyla gram cinsinden belirlenmiştir.

3.3.9 Yaprak Turgor Ağırlıkları

Uygulama sonrası bitkiciklerden alınan yaprak örnekleri 6 saat saf su içerisinde bekletilerek turgor ağırlıkları saptanmıştır.

3.3.10 Klorofil İçeriği (SPAD)

Yaprak örneklerinde klorofil tayini bir klorofilmetre (SPAD–502, Konica Minolta Sensing, Inc., Tokyo, Japan) yardımıyla belirlenmiştir.

3.3.11 Zararlanma Derecesi (1-4)

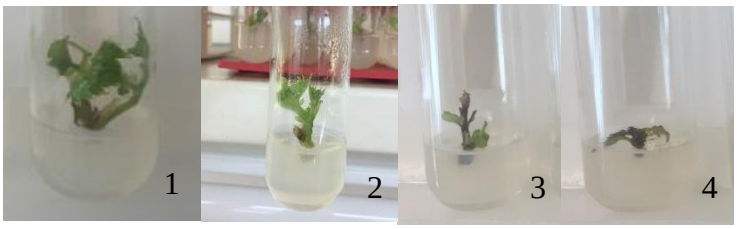
Zararlanma derecesinin belirlenmesinde aşağıdaki skala kullanılmıştır. (Sivritepe ve ark., 2008) (Şekil 3.6).

1: Zararlanmanın olmadığı bitkiler

2: Sürgün ucu ve yaprak kenarlarında yanıklık ve kurumaların olduğu bitkiler

3: Yaprağın tamamı ve gövdenin bir kısmında oluşan nekrozların bulunduğu bitkiler

4: Ölü bitkiler.



Şekil 3.6 Bitki Zararlanma Derecesi Skalasından Görünüm

3.3.12 Sürgün Tolerans oranı (TO)

Çalışmada kullanılan kokulu üzüm tipinin kuraklık stresine olan toleransı aşağıda belirtilen formüle göre sürgün kuru ağırlığı bazında her sorbitol dozu için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

TO: Tx/To

Tx: Belli konsantrasyonda sorbitol uygulanmış bitkiciklerin sürgün kuru ağırlıkları (g)

To: Sorbitol uygulanmamış bitkiciklerin sürgün kuru ağırlıkları (g)

3.3.13 İyon akışı (%)

Uygulamalardan 6 hafta sonra alınan 0.3 g'lık eşit parçalara ayrılmış yaprak örnekleri 25 mm×150 mm'lik cam tüplere konulup üzerine 15 ml saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler çalkalayıcıda 24 saat 100 rpm'de çalkalanmıştır. İnkübasyon sonrasında EC metre kullanılarak solüsyonun elektriksel iletkenliği (EC_1) ölçülmüştür. Daha sonra aynı örnekler 115ºC'de 10 dakika süreyle otoklavlanmıştır. Örnekler 24 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra solüsyonun elektriksel iletkenlik (EC_2) değeri tekrar ölçülmüştür. Yapraklardaki iyon akışı $EC_1/EC_2 \times 100$ olarak hesaplanıp % olarak ifade edilmiştir. (Özden ve ark., 2009) (Şekil 3.7)

Şekil 3.7 İyon Akışının Belirlenme Aşamasından Bir Görünüm

3.3.14 Hücre zarı zararlanma oranı (HZZO, %)

Hücre zarı zararlanma oranı iyon akışında elde edilen aynı veriler kullanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Dlugokecka ve Kacperska-Palacz, 1978; Fan ve Blake, 1994).

$$\text{HZZO } (\%) = [1\text{- } (1\text{- EC1} \div \text{EC2}) \div (1 - \text{EC} * 1 \div \text{EC} * 2) \times 100] \qquad (1.1)$$

EC : Kontrol örneklerinin elektriksel iletkenliği, µs/ms),

3.3.15 Eksplant oransal su kapsamı (%)

Yamasaki ve Dillenburg (1999)'a göre saptanmıştır. Yaprak örneklerinin oransal su kapsamları; taze ağırlıkları (YA), 6 saat saf su içerisinde bekletilerek saptanan turgor ağırlıkları (TA) ve 80ºC sıcaklıkta 24 saat bekletme sonunda saptanan kuru ağırlıkları (KA) dikkate alınarak aşağıdaki formül kullanılarak % olarak bulunmuştur.

$$\text{YOSK (\%)}: [(YA - KA) \div (TA - KA) \times 100] \qquad (2.1)$$

3.4 İstatiksel Analiz

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 9'ar eksplant bulunduran tesadüfi parseller deneme desenine göre planlanmıştır. Denemede uygulamaların etkinliği için varyans analizi %5 önem seviyesinde LSD testi ile JMP 10.0.0 istatistiki paket programında gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

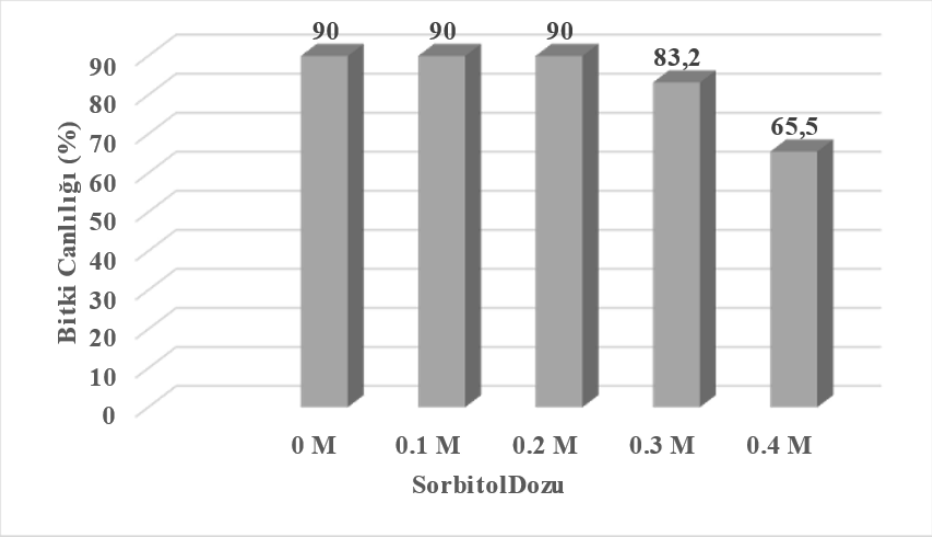
4.1 Büyüme ve Gelişim Parametrelerine ait Bulgular

Büyüme ve gelişme parametrelerine ait bulgular Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2' de gösterilmiştir.

4.1.1 Bitki Canlılığı (%)

Balıkçı Siyahı üzüm tipine uygulanan farklı sorbitol konsantrasyonlarının, *in vitro* koşullarda bitki canlılığı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Çizelge 4.1 incelendiğinde en yüksek canlılık oranı %90'lık değerle %0 (Kontrol) Sorbitol, %0.1 Sorbitol ve %0.2 Sorbitol konsantrasyonlarında olduğu belirlenmiştir. %0.4 Sorbitol konsantrasyonu ise % 65.5'lik değerle en düşük bitki canlılık oranını sağlamıştır (Şekil 4.1).

Araştırmada artan sorbitol konsantrasyonuna dayalı bitki canlılık oranında azalma gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bitki canlılık oranı bulguları Hassan ve Bekheet (2008), Abu-Romman (2010), Geçene (2020) ve Karimi ve ark., (2012)'nın araştırma bulgularıyla desteklenmektedir.

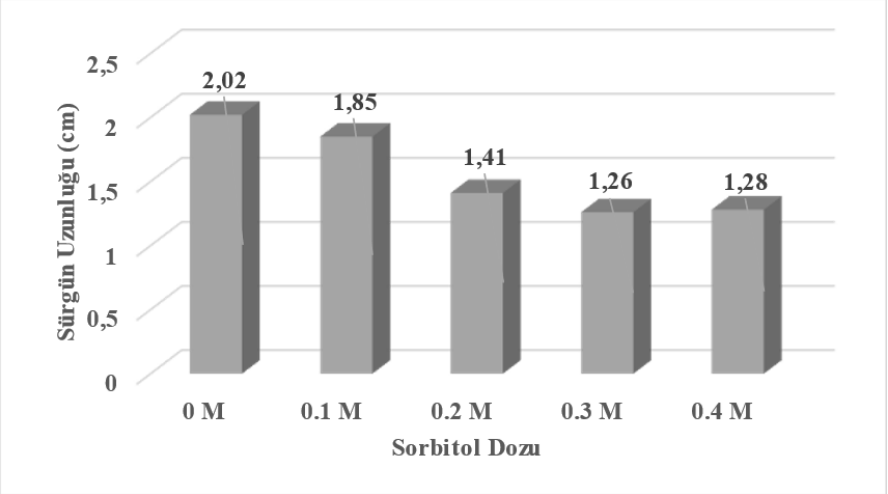


Şekil 4.1 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Bitki Canlılığı Üzerine Etkisi

4.1.2 Sürgün Uzunluğu (cm)

Farklı dozlardaki sorbitol uygulamasının *in vitro* şartlarda Balıkçı Siyahı üzüm tipinde sürgün uzunluğuna olan etkisi Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde farklı sorbitol konsantrasyonlarının sürgün uzamasında istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır. En yüksek sürgün uzunluğu 3 cm değeri ile %0 sorbitol uygulamasında, en düşük sürgün uzunluğu ise 1 cm değeri %0.4 sorbitol uygulamasında belirlenmiştir.

Albiski ve ark., (2012) on sekiz patates çeşidinde (*Solanum tuberosum* L.) sorbitol ilavesiyle oluşturulan kuraklık stresinin artmasıyla birlikte sürgün uzunluğunda azalma olduğunu saptamışlardır. Gopal ve Iwama (2007) 3 farklı patates genotiplerinin kuraklığa dayanımını saptamak için yaptıkları çalışmada, tüm genotiplerde sorbitol konsantrasyonundaki artışla birlikte bitki boyu azaldığını belirlemişlerdir. Danial ve ark., (2014) MM 106 elma anacında PEG 6000 (%0, %2, %4, %6) ilavesiyle oluşturdukları kuraklık stresinde %4 ve %6 dozunda daha şiddetli olmakla birlikte sürgün sayısında ve sürgün uzunluğunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Gelmesa ve ark., (2017) patates genotiplerini değerlendirmek ve kuraklığa toleranslı genotipleri tanımlamak için yaptıkları çalışmada kontrole kıyasla, 0.1 ve 0.2 M sorbitol dozlarında sürgün uzunluğunun daha düşük olduğunu saptamışlardır. Meşe ve Tangolar (2019) Kober 5 BB (kuraklığa hassas), 110 R (kuraklığa dayanıklı) ve 1103 P (kuraklığa orta dayanıklı) anaclarıyla *in vitro* koşullarda %0, %2.5, %5.0, %7.5 ve %10.0 oranında PEG ilavesiyle yapay kuraklık stresi oluşturmuşlardır. İncelenen parametreler arasında yer alan bitki boyunun artan PEG dozlarıyla birlikte azaldığı tespit edilmiştir. Bitki boyunun, kontrol uygulamasında 6.5 cm iken %7.5 ve %10 PEG' de 1.7 cm olarak tespit edilmiştir. Artan PEG dozlarıyla birlikte sürgün uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen artan Sorbitol dozuna bağlı sürgün uzunluğu değerlerindeki azalma yukarıda belirtilen araştırıcıların sonuçlarıyla da desteklenmektedir.



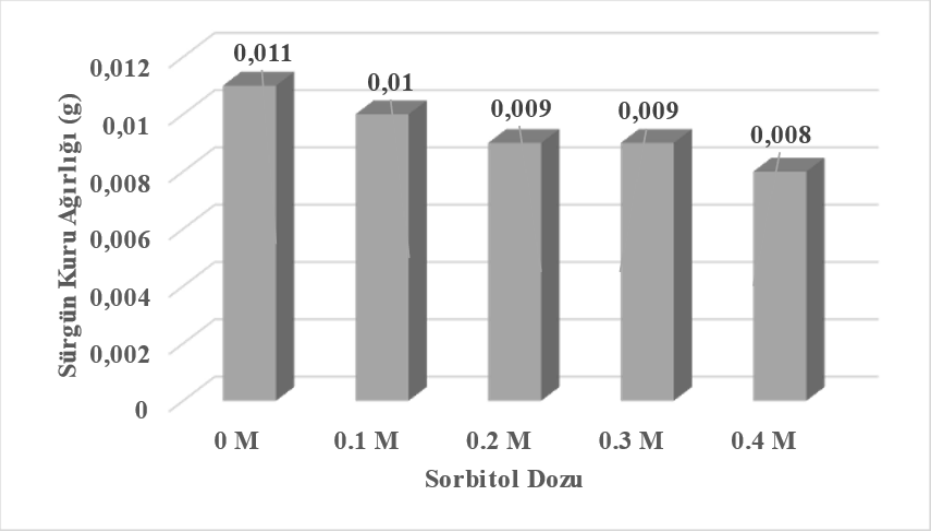
Şekil. 4.2 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Uzunluğu Üzerine Etkisi

4.1.3 Sürgün Yaş ve Kuru Ağırlığı (g)

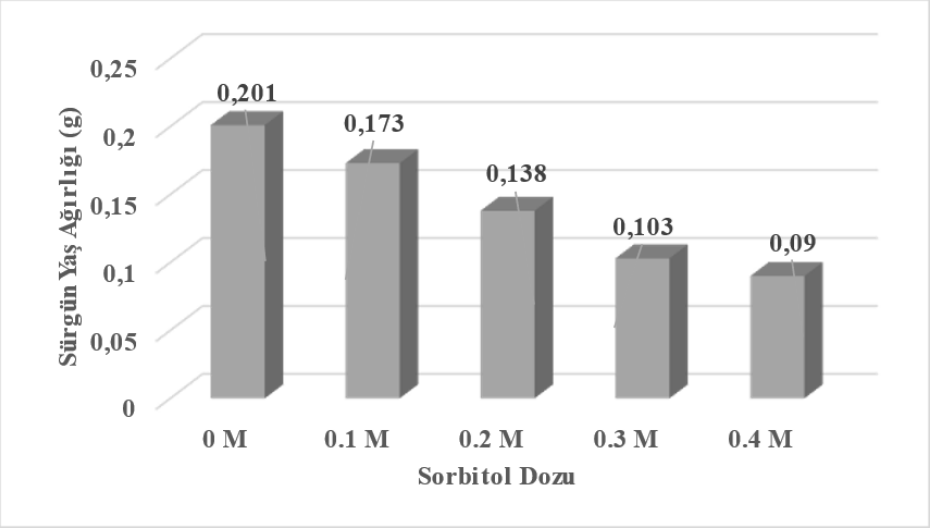
Farklı dozlardaki sorbitol uygulamalarının sürgün yaş ve sürgün kuru ağırlığı özelliklerine olan etkisi istatistiki anlamda önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Artan doz uygulamalarıyla birlikte sürgün yaş ve kuru ağırlığında azalma olduğu gözlenmiştir. En yüksek sürgün yaş ve kuru ağırlığı %0 Sorbitol uygulamasında (0.201 g, 0.011 g sırasıyla) olduğu tespit edilmiştir. En düşük sürgün yaş ağırlığı 0.3 M ve 0.4 M sorbitol uygulamalarında (0.103 g, 0.090 g sırasıyla) saptanmıştır. Sürgün kuru ağırlığında ise en düşük değer 0.4 M (0.008 g) sorbitol içeren ortamda tespit edilmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Albiski ve ark., (2012) on sekiz patates çeşidinin (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* koşullarda %2, 4, 6, 8 ve % 10 sorbitol ekleyerek yapay kuraklık stresi oluşturmuş ve artan sorbitol dozuyla birlikte bitki yaş ve kuru ağırlığının azaldığını saptamışlardır. Abu-Romman (2010) hıyar (*Cucumis sativus* L.) tohumlarına *in vitro* koşullarda MS ortamına (0, 25, 50, 75 ve 100 mM) sorbitol ilavesiyle ozmotik stres oluşturmuştur. Bitki yaş ve kuru ağırlıkları yüksek sorbitol seviyelerinde önemli ölçüde azalmıştır. Taze ağırlıkta ve nispi büyümede 75 mM'ye kadar her artış için önemli düşüşler gözlemlemiştir. M. Harun-Or-Rashid ve ark., (2021) yerli ve yabancı olmak üzere 16 patates genotipinin MS ortamına 6 farklı sorbitol konsantrasyonu (0, 2, 4, 6, 8, 10%) ilave ederek kuraklık stresi oluşturmuş ve bitki yaş ve kuru ağırlığının artan sorbitol dozlarıyla birlikte azaldığını saptamışlardır.

Belirtilen tüm bu araştırma sonuçları bu çalışmanın sürgün yaş ve kuru ağırlık sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.



Şekil 4.3 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi

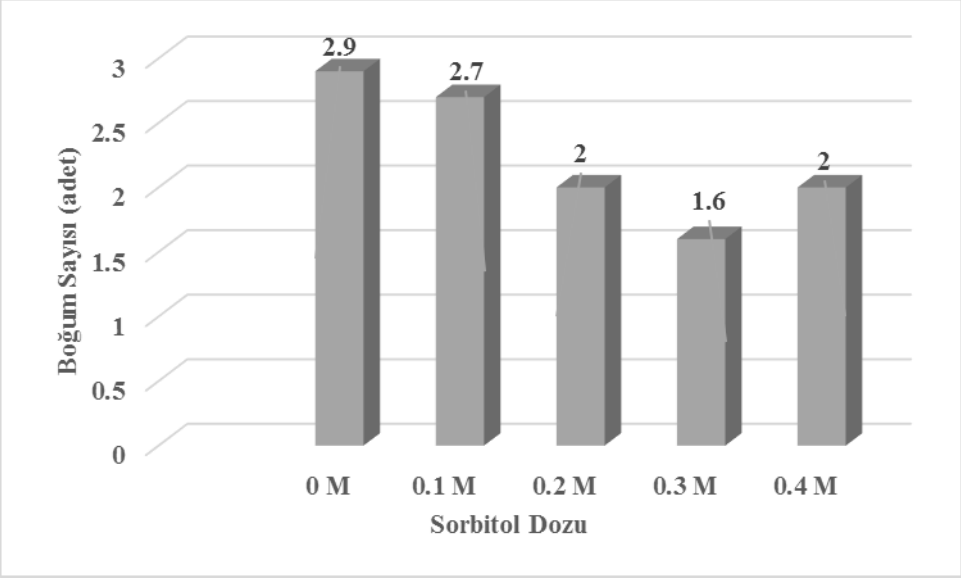


Şekil 4.4 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Yaş Ağırlığı Üzerine Etkisi

4.1.4 Sürgündeki Boğum Sayısı (adet)

Farklı dozlarda sorbitol uygulamasının *in vitro* koşullarda yetiştirilen Balıkçı Siyahı üzüm tipinin boğum sayısı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Sürgündeki boğum sayısının en yüksek çıktığı uygulama %0 sorbitol dozu (2.9 adet) olduğu tespit edilmiştir. %0.1 Sorbitol dozu (2.7 adet) aynı istatistiki grupta bulunarak bu uygulamayı takip etmiştir. En az boğum sayısı ise %0.3 (1.6

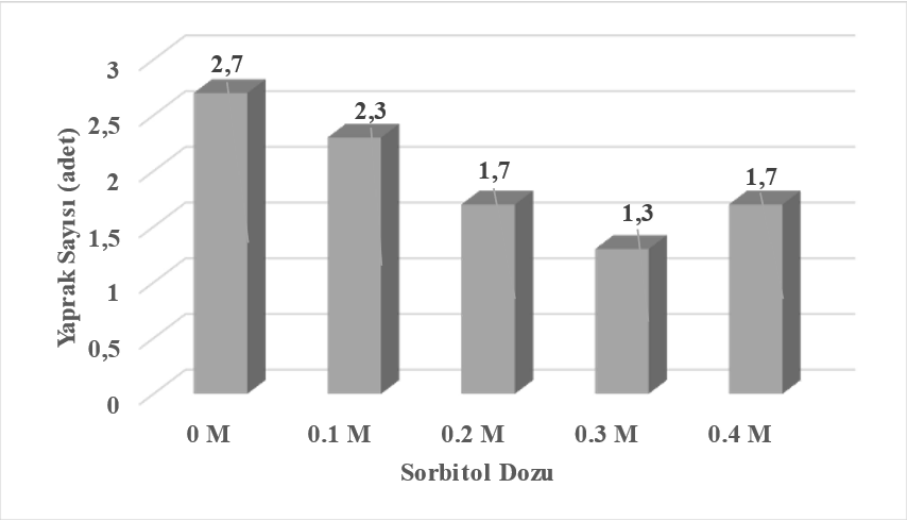
adet) uygulamasında olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1). Danial ve ark., (2014), MM 106 elma anacı (*Malus domestica* Borkh.) ve armut (*Pyrus calleryana*)'dan alınan explantları MS ortamına farklı dozlarda PEG6000 (%0, %2, %4 ve %6) ilave ederek kuraklık stresi oluşturmuşlardır. %4 ve %6 dozunda daha şiddetli olmakla birlikte sürgün sayısında ve sürgün uzunluğunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Meşe ve Tangolar (2019) ve Geçene (2020)'nin PEG kullanrak gerçekleştirdikleri *in vitro* kuraklık stresi oluşturma çalışmalarında da kuraklığa bağlı olarak boğum sayısının artan PEG dozlarıyla birlikte azaldığı tespit edilmiştir. Denememizden kuraklığa bağlı olarak elde edilen düşük boğum sayısı verileri de belirtilen çalışmalarla desteklenmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgündeki Boğum Sayısı Üzerine Etkisi

4.1.5 Sürgündeki Yaprak Sayısı (adet)

Farklı dozlarda sorbitol uygulamasının *in vitro* koşullarda yetiştirilen Balıkçı Siyahı üzüm tipinin yaprak sayısı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Denemede farklı dozlarda uygulanan sorbitolün yaprak sayısı üzerine olan etkisi bakımından en iyi sonuç 0 M sorbitol uygulamasından (2.7 adet) elde edilmiştir. 0.1 M sorbitol (2.3 adet) uygulamasında aynı istatistiki grupta yer alarak bu uygulamayı takip etmiştir. En az yaprak sayısı ise yine aynı istatistiki grup içerisinde yeralan 0.3 M (1.3 adet) ve 0.4 M (1.7 adet) sorbitol uygulamalarından elde edilmiştir (Şekil 4.6). Yaprak sayısı üzerine elde edilen bulgular Albiski ve ark., (2012), Geçene (2020) ve M. Harun-Or-Rashid ve ark., (2021)' nın sonuçlarıyla desteklenmektedir.



Şekil 4.6 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgündeki Yaprak Sayısı Üzerine Etkisi

Çizelge 4.1 Sorbitol'ün sürgün büyüme ve gelişimi üzerine etkisi.

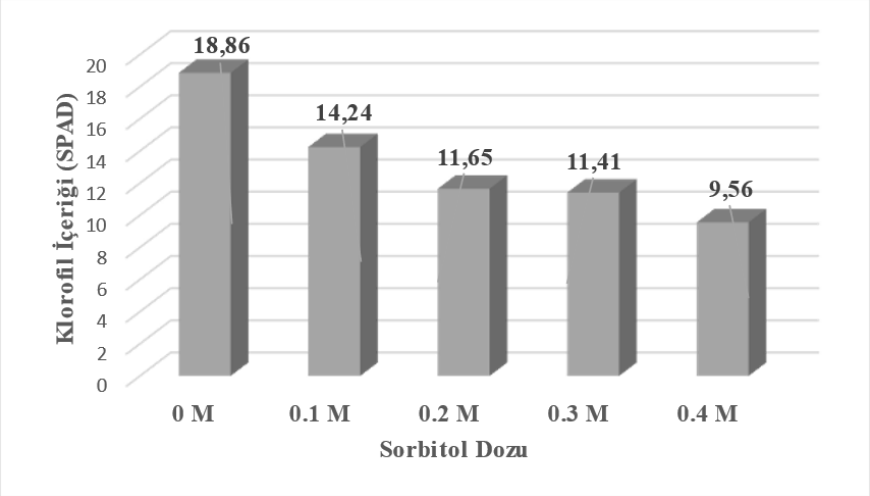
Sorbitol Dozu (M)	Bitki Canlılığı (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Boğum Sayısı (adet)	Yaprak Sayısı (adet)	Klorofil İçeriği (SPAD)	Sürgün Yaş Ağırlığı (g)	Sürgün Kuru Ağırlığı (g)
0 M	90.0 a	2.02 a	2.9 a	2.7 a	18.86 a	0.201 a	0.011 a
0.1 M	90.0 a	1.85 a	2.7 ab	2.3 ab	14.24 b	0.173 ab	0.010 ab
0.2 M	90.0 a	1.41 b	2.0 bc	1.7 bc	11.65 c	0.138 bc	0.009 ab
0.3 M	83.2 a	1.26 b	1.6 c	1.3 c	11.41 cd	0.103 c	0.009 ab
0.4 M	65.5 b	1.28 b	2.0 bc	1.7 bc	9.56 d	0.090 c	0.008 b
LSD % 5	10.1	0.35	0.7	0.8	2.07	0.050	0.002

4.1.6 Yaprak Yaş ve Kuru Ağırlığı (g)

Farklı dozlardaki sorbitol uygulamasının yaprak yaş ve kuru ağırlığına olan etkisi Çizelge 4.2' de incelenmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde farklı dozlardaki sorbitol uygulamalarının yaprak yaş ve kuru ağırlığı üzerine istatistiki olarak belirgin bir etkisinin olmadığı görülmektedir. En yüksek yaprak yaş ağırlığı 0.1 M (0.033 g) sorbitol uygulamasında, en yüksek yaprak kuru ağırlığı ise 0.2 M (0.004) sorbitol uygulamasında görülmüştür. En düşük yaprak kuru ağırlığına bakıldığında (0.002) 0 M, 0.1 M ve 0.3 M sorbitol uygulamalarında bulunurken, en yüksek yaprak kuru ağırlığı ise 0.2 M (0.004)' da bulunmuştur.

4.1.7 Klorofil İçeriği (SPAD)

Yapılan bu çalışmada farklı dozlardaki sorbitol uygulamasının klorofil içeriği üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Denemede sorbitol dozunun artmasıyla birlikte klorofil miktarında azalma olduğu tespit edilmiştir. En yüksek SPAD değerinin 0 M sorbitol uygulamasında 18.86 olduğu bulunurken, en düşük değer ise 0.4 M sorbitol uygulamasında 9.56 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Karimi ve ark., (2012), 5 badem çeşidi ve bir hibrit anacın (GF 677) *in vitro* koşullarda 3 farklı dozda PEG 6000 ilavesiyle kuraklığa dayanımını inceleyen araştırıcılar toplam klorofilin kuraklık şiddetinin artmasıyla birlikte kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Geçene (2020), *in vitro* koşullarda kuraklık stresi bakımından 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinin (*Vitis labrusca* L.) değerlendirilmesini amaçlayan araştırmacı, Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine beş farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave ederek yapay kuraklık stresi oluşturmuştur. Araştırmada, artan PEG dozuyla birlikte klorofil miktarında azalma olduğu saptanmıştır. En yüksek değerinin 19.49 ile PEG ilavesiz (kontrol) ortamda olduğu belirlenmiştir. Meşe ve Tangolar (2019) Kober 5 BB (kuraklığa hassas), 110 R (kuraklığa dayanıklı) ve 1103 P (kuraklığa orta dayanıklı) anaclarıyla *in vitro* koşullarda %0.0, %2.5, %5.0, %7.5 ve %10.0 oranında PEG ilavesiyle yapay kuraklık stresi oluşturmuşlardır. Belirtilen araştırma sonuçlarında da belirtildiği gibi bu çalışmada da klorofil içeriği artan kuraklığa bağlı olarak azaldığı saptanmıştır.

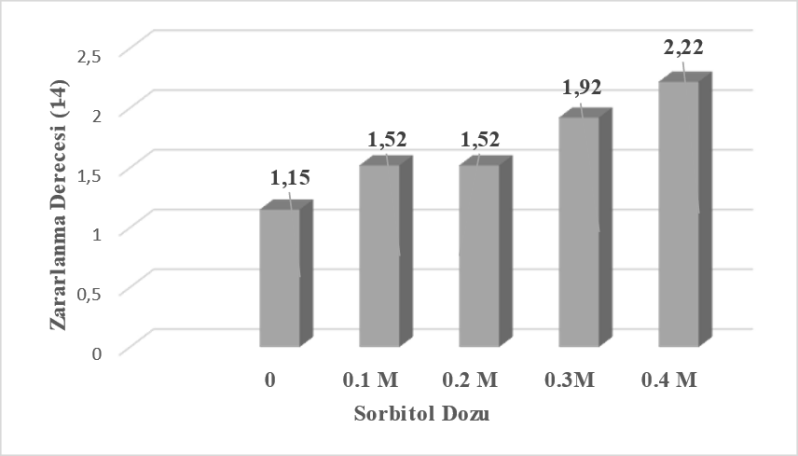


Şekil 4.7 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Klorofil İçeriği Üzerine Etkisi

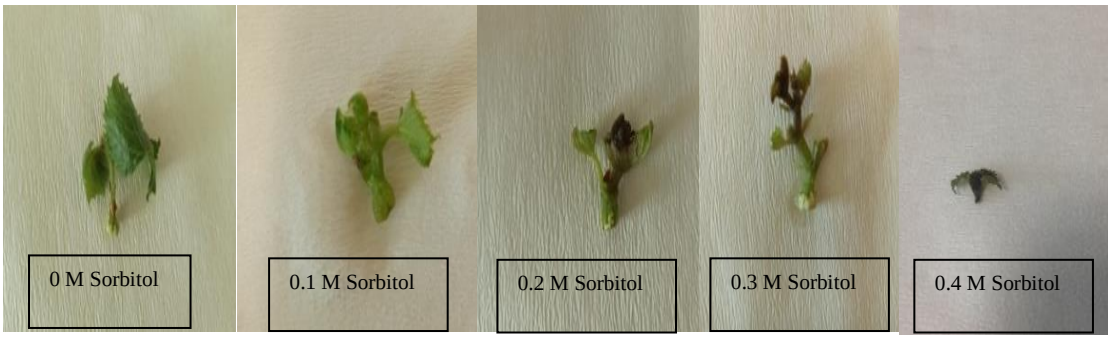
4.2 Fizyolojik Parametre Bulguları

4.2.1 Zararlanma Derecesi (1-4)

Artan dozlarda uygulanan sorbitolün *in vitro* koşullarda yetiştirilen Balıkçı Siyahı üzüm tipinin bitkilerindeki zararlanma derecesi üzerine etkisi Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde zararlanma derecesi üzerine sorbitol uygulamalarının etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Sorbitol dozlarının artmasıyla birlikte zararlanma derecesi de artmıştır. 0 M (1.15 derece) uygulamasına kıyasla 0.1 M ve 0.2 M sorbitol uygulamalarında (1.52 derece) daha çok zararlanma tespit edilmiştir. 0.3 M ve 0.4 M sorbitol dozlarında ise sırasıyla 1.92 ve 2.22'lik derecelerde zararlanma gözlenmiştir (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Meşe ve Tangolar (2019) Kober 5 BB (kuraklığa hassas), 110 R (kuraklığa dayanıklı) ve 1103 P (kuraklığa orta dayanıklı) anaçlarıyla in vitro koşullarda %0, %2.5, %5.0, %7.5 ve %10.0 oranında PEG ilavesiyle yapay kuraklık stresi oluşturmuşlardır. İncelenen parametreler arasında yer alan zaralanma derecesinin artan PEG dozlarıyla kuraklık artışıyla birlikte arttığı tespit edilmiştir. Geçene (2020), *in vitro* koşullarda kuraklık stresi bakımından 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinin (*Vitis labrusca L.*) değerlendirilmesini amaçlayan araştırmacı, Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine beş farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave ederek yapay kuraklık stresi oluşturmuştur. PEG dozlarının zararlanma derecesi üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuş olup, PEG dozlarının artmasıyla kuraklıkla birlikte zararlanma derecesinin de arttığı belirlenmiştir.



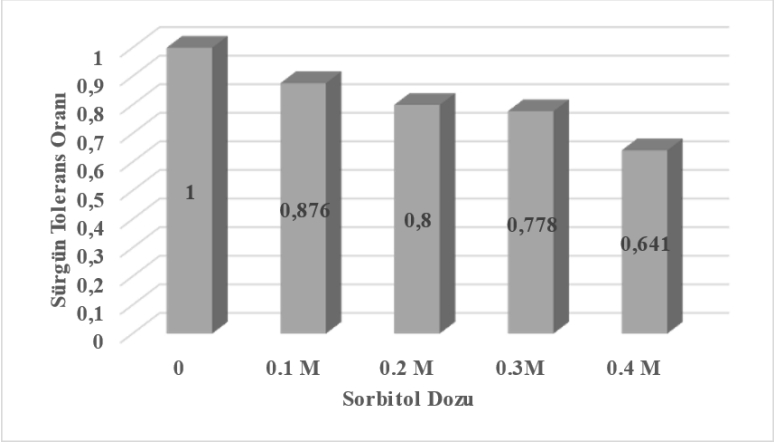
Şekil 4.8 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Zararlanma Derecesi Üzerine Etkisi



Şekil 4.9 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Zararlanma Derecesi Görünümü

4.2.2 Sürgün Tolerans oranı (TO)

Farklı dozlardaki sorbitol uygulamalarının sürgün tolerans oranına etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Doz uygulamalarının artmasıyla birlikte sürgün tolerans oranında azalma olduğu saptanmıştır. En yüksek sürgün tolerans oranı kontrol uygulamasında (1.000) saptanmıştır. Bunu 0.1 M ve 0.2 M sorbitol dozları (0.876 ve 0.800, sırasıyla) takip etmiştir. En düşük tolerans oranı ise 0.4 M sorbitol dozunda (0.641) belirlenmiştir (Şekil 4.10). Geçene (2020), *in vitro* koşullarda kuraklık stresi bakımından 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinin (*Vitis labrusca* L.) değerlendirilmesini amaçlayan araştırmacı, Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine beş farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave ederek yapay kuraklık stresi oluşturmuştur. Denemede %0 PEG dozunda sürgün tolerans oranı 1.00 olarak tespit edilmiştir. PEG dozlarının artmasına bağlı olarak tolerans oranlarında da düşüş tespit edilmiştir.



Şekil 4.10 Farklı Sorbitol Dozlarının Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinin Sürgün Tolerans Oranı Üzerine Etkisi

4.2.3 Yaprak Turgor Ağırlığı (g)

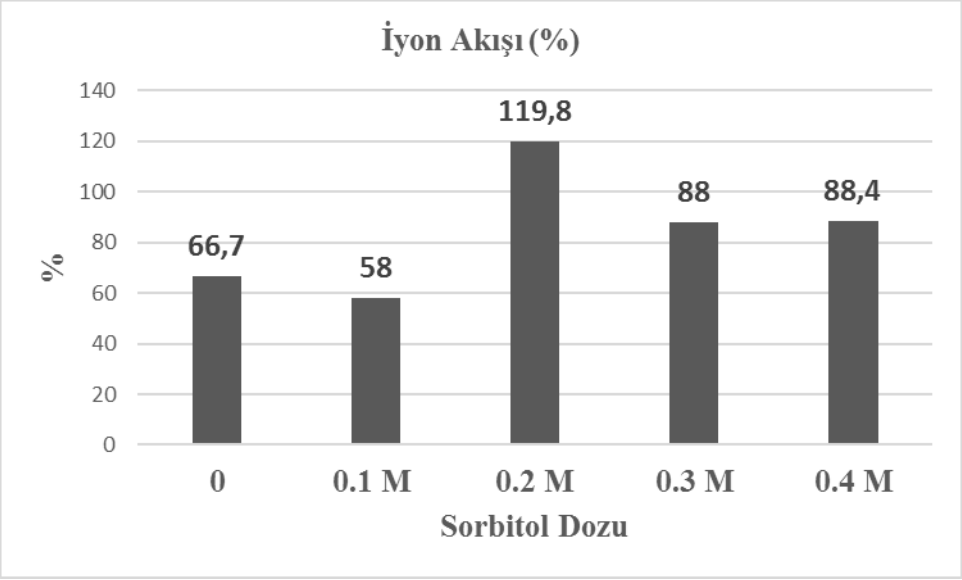
Denemedeki Balıkçı Siyahı üzüm tipine *in vitro* koşullarda farklı dozlardaki sorbitol uygulamalarının yaprak turgor ağırlığı üzerine etkisi istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Diğer fizyolojik paremetrelerde saptanan doz miktarının artışına bağlı değerlerdeki düşüş turgor ağırlığı için çok net belirlenmemiştir. En yüksek yaprak turgor ağırlığı 0.1 M sorbitol (0.042 g) uygulamasında, en düşük yaprak turgor ağırlığı ise 0.3 M sorbitol (0.020) uygulamasında tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Yaprak turgor ağırlığı üzerine elde edilen bulgular Geçene (2020)'in sonuçlarıyla desteklenmektir.

Çizelge 4.2 Sorbitol'ün Bazı Gelişim ve Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkisi.

Sorbitol Dozu	Yaprak Yaş Ağırlığı(g)	Yaprak Kuru Ağırlığı (g)	Zararlanma Derecesi (1-4)	Sürgün Tolerans Oranı	Yaprak Turgor Ağırlığı (g)	Eksplant oransal su kapsamı (%)
0 (Kontrol)	0.023	0.002	1.15 c	1.000 a	0.027	144.73 a
0.1 M	0.033	0.002	1.52 bc	0.876 ab	0.042	77.58 b
0.2 M	0.027	0.004	1.52 bc	0.800 b	0.038	65.58 b
0.3M	0.026	0.002	1.92 ab	0.778 b	0.020	58.10 b
0.4 M	0.029	0.003	2.22 a	0.641 c	0.039	57.41 b
LSD % 5	Ö.D.	Ö.D.	0.57	0.134	Ö.D.	20.42

4.2.4 İyon akışı (%)

Farklı dozlardaki sorbitol uygulamalarının iyon akışı üzerine etkisi Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Diğer incelenen özelliklerde saptanan doz miktarının artışına bağlı değerlerdeki düşüş iyon akışı için çok net belirlenememiştir. En yüksek iyon akış değeri 0.2 M sorbitol dozunda %119.8 olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 0.4 M ve 0.3 M uygulamaları %88.4 ve %88 değerleri ile takip etmiştir. En düşük iyon akışı ise 0.1 M uygulamasında %58 olarak tespit edilmiştir. Geçene (2020), *in vitro* koşullarda kuraklık stresi bakımından 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinin (*Vitis labrusca L.*) değerlendirilmesini amaçlayan araştırmacı, Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine beş farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave ederek yapay kuraklık stresi oluşturmuştur. Denemesinde PEG dozunun artmasıyla kuraklığa bağlı bitkilerde iyon akışı değerinde artış meydana gelmiştir. En yüksek değerin ise %6.0 PEG uygulamasında %69.42 olarak tespit edilmiştir.

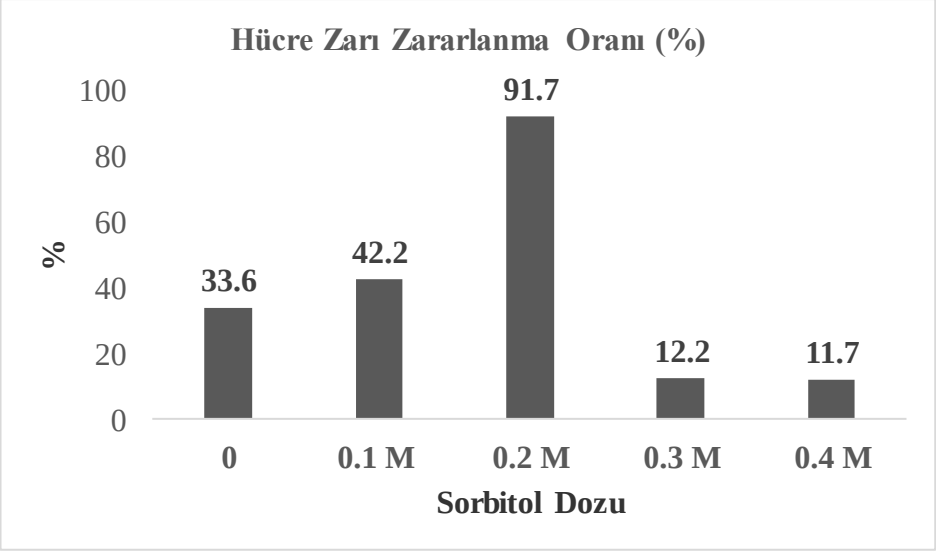


Şekil 4.11 *İn vitro*' da Balıkçı Siyahı Üzüm Tipinde Farklı Dozdaki Sorbitol Uygulamalarının İyon Akışı Üzerine Etkisi

4.2.5 Hücre zarı zararlanma oranı (HZZO, %)

Çalışmadaki Balıkçı Siyahı üzüm tipinin hücre zarı zararlanma oranı üzerine etkisi Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Daha önceki fizyolojik parametrelerde gözlenen doz artışına bağlı değerlerdeki düşüş hücre zarı zararlanma oranı için çok net belirlenememiştir. Bu bağlamda en yüksek hücre zarı zararlanma oranı iyon akışı özelliğinin bulgularında da gözlendiği gibi %91.7'lik oranla 0.2 M sorbitol uygulamasından elde edilmiştir. Bunu sırasıyla 0.1 M ve 0 M sorbitol uygulamaları %42.2 ve %33.6'lık oranlarla takip etmiştir. En düşük hücre zarı zararlanma oranı ise %11.7'lik oranla 0.4 M sorbitol dozundan elde edilmiştir.

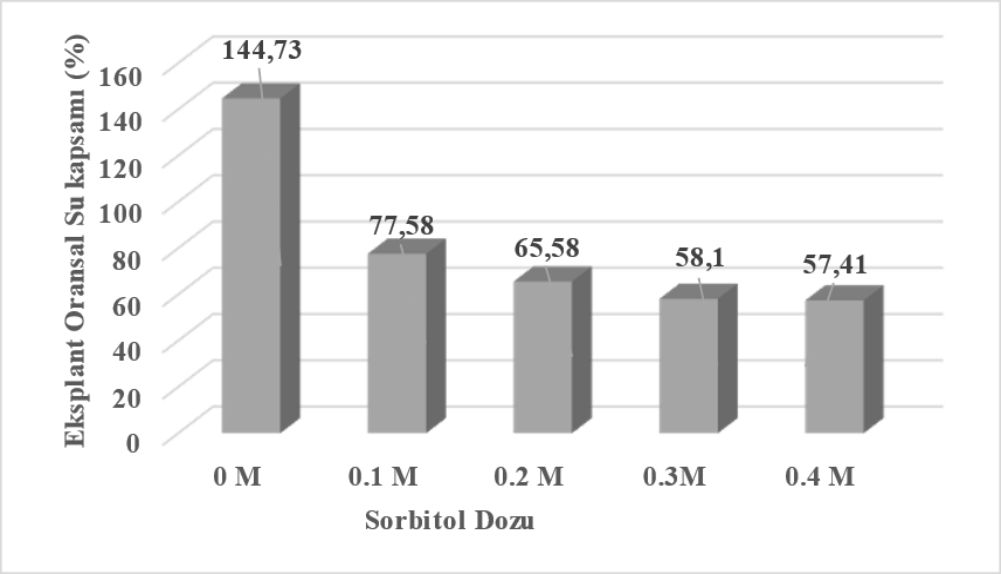
Geçene (2020), *in vitro* koşullarda kuraklık stresi bakımından 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinin (*Vitis labrusca L.*) değerlendirilmesini amaçlayan araştırmacı, Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine beş farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave ederek yapay kuraklık stresi oluşturmuştur. Kontrol uygulamasında hücre zarı zararlanması görülmemiş olup, en yüksek değer %6.0 PEG uygulamasında %67.6 olarak saptanmıştır.



Şekil 4.12 Farklı Sorbitol Dozlarının Hücre Zarı Zararlanma Oranı Üzerine Etkisi

4.2.6 Eksplant oransal su kapsamı (%)

İn vitro koşullarda artan dozlarda sorbitol uygulamasının eksplant oransal su kapsamı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Denemede Sorbitol ile oluşturulan yapay kuraklık stresinin artmasıyla eksplant oransal su kapsamı içeriğinin azalma gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek eksplant su içeriği 0 M (kontrol) uygulamasında %144.73 olarak belirlenmiştir. Diğer 0.1 M, 0.2 M, 0.3 M, 0.4 M sorbitol içeren besin ortamları (%77.58, 65.58, 58.10, 57.41) aynı istatistiki grup içerisinde yer alarak en düşük eksplant su içeriğine neden olmuşlardır (Şekil 4.13). Albiski ve ark., (2012), on sekiz patates çeşidinin (*Solanum tuberosum L.*) *in vitro* koşullarda %2, 4, 6, 8 ve % 10 sorbitol ilavesiyle yapay kuraklık stresinde ve oluşturmuş ve artan sorbitol dozuyla birlikte bitki su içeriğinin azaldığını saptamışlardır. M. Harun-Or-Rashid ve ark., (2021) ise yerli ve yabancı olmak üzere 16 patates genotipinin kuraklığa olan toleranslarını belirlemek amacıyla, MS ortamına 6 farklı sorbitol konsantrasyonu (0, 2, 4, 6, 8, 10%) ilave ederek kuraklık stresi oluşturmuş ve bitki su içeriğinin artan sorbitol dozlarıyla birlikte azaldığını tespit etmişlerdir. Geçene (2020), *in vitro* koşullarda kuraklık stresi bakımından 'Balıkçı Siyahı' üzüm tipinin (*Vitis labrusca L.*) değerlendirilmesini amaçlayan araştırmacı, Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içerisine beş farklı Polietilen Glikol (PEG) dozu (%0, 1.5, 3.0, 4.5, 6.0) ilave ederek yapay kuraklık stresi oluşturmuştur. PEG dozlarının artmasıyla eksplant oransal su içeriğinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Karimi ve ark., (2013), 5 adet badem çeşidi ve bir hibrit anacın (GF 677) in vitro koşullarda kuraklığa dayanımını incelemek amacıyla ortama 3 farklı dozda PEG 6000 ile kuraklık stresi oluşturmuş ve yaprak su içeriğinin artan konsantrasyonlarda azaldığını tespit etmişlerdir. Kılıçarslan ve ark., (2020), kuraklık stresinin fasulye üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada su noksanlığında doku oransal su içeriğinin azaldığını belirtmişlerdir.



Şekil 4.13 Farklı Sorbitol Dozlarının Eksplant Oransal Su Kapsamına Etkisi

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Denemede, Balıkçı Siyahı üzüm tipinden (*Vitis labrusca* L.) elde edilen 2-3 cm uzunluğundaki mikro çelikler kullanılarak *in vitro* koşullarda yapay bir kuraklık stresi oluşturma olanağı sunan sorbitolün hem en etkin dozunun hem de kokulu üzümün kuraklık stresine olan toleransının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu bağlamda çalışmada Balıkçı Siyahı üzüm tipinden alınan mikro çelikler 1 mg/l BA MS besin ortamında (Murashige Skoog, 1962) kültüre alınmıştır. BA içeren ortamda kültüre alınan eksplantlardan süren sürgünler köklendirme aşamasında kuraklık stresi oluşturmak amacıyla farklı sorbitol dozları ilave edilmiştir.

Bu araştırmada büyüme, gelişme ve bazı fizyolojik parametrelerden bitki canlılığı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ve kuru ağırlığı, sürgündeki boğum sayısı ve yaprak sayısı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı, klorofil içeriği, zararlanma derecesi, tolerans oranı, iyon akışı, hücre zarı zararlanma oranı, yaprak turgor oranı, eksplantın oransal su kapsamı parametreleri incelenmiştir.

Artan sorbitol dozuyla birlikte yapraklarda zararlanma ve kuruma, sürgün ve gövdede nekrozlar görülmüştür. Araştırmada bitki canlılığı, bitki boyu, sürgündeki boğum sayısı ve yaprak sayısı, sürgün yaş ve kuru ağırlığı, zararlanma derecesinin kontrol uygulamasına kıyasla sorbitol dozunun artmasına bağlı olarak özellikle 0.3 M ve 0.4 M sorbitol uygulamalarında kuraklık stresinden etkilendiği saptanmıştır.

Yaprak turgor ağırlığında ise en yüksek zararlanma 0.1 M sorbitol uygulamasından elde edilmiştir. Sürgün tolerans oranı ise kontrol uygulamasına kıyasla 0.4 M sorbitol uygulamasında 0.641 olarak bulunmuştur. Eksplant oransal su kapsamı ise sorbitol dozlarının artmasıyla birlikte azalmış ve 0.1 M, 0.2 M, 0.3 M ve 0.4 M sorbitol uygulamalarının aynı istatistiki grup içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir.

İyon akışı ve hücre zarı zararlanma oranına bakıldığında, her iki parametrede de diğer parametrelerde gözlenen artan doz miktarıyla birlikte değerlerdeki düşüş çok net gözlemlenmemiştir. İyon akışı ve hücre zarı zararlanma oranında en yüksek sonuçlar 0.2 M Sorbitol uygulamasından elde edilmiştir.

Bitkilerdeki klorofil miktarı ise, sorbitol dozunun artmasıyla birlikte kontrole kıyasla (18.86), 0.4 M sorbitol uygulamasında (9.56) yaklaşık yarı yarıya düştüğü tespit edilmiştir.

Deneme bulgularından ve daha önceki yapılan çalışmalardan da anlaşıldığı üzere kuraklık stresi, bitkilerde pek çok fizyolojik ve metabolik olayı olumsuz yönde etkileyen ve ürün verimi ve kalitesini azaltan önemli unsurlar arasında bulunmaktadır.

Araştırma neticesinde, Balıkçı Siyahı üzüm tipinin kurağa dayanımının *in vitro* şartlarda önceden belirlenmesi amacıyla sorbitolün ve bu denemede incelenen yaprak, sürgün ve fizyolojik bulguların kullanılabileceği kanısına varılmıştır. Bilhassa 0.3 M ve üzeri sorbitol içeren besin ortamlarında bitki büyüme ve gelişmesinin büyük ölçüde azalması sebebiyle, buna benzer araştırmalarda kullanım için 0.3 M ve üzeri sorbitol dozlarının kullanılması önerilmektedir. Bu bağlamda bitkilerde su eksikliği ürün kayıplarına yol açtığından bitki yetiştiriciliği için önemli bir faktördür. Bu nedenle bitkilerin kuraklık toleranslarının artırılması yolunda ciddi adımlar atılmalıdır. Ayrıca sorbitol ilavesiyle oluşturulan yapay kuraklık stresinin, etkin dozlarının belirlenmesi için *in vivo* koşullarda da taranması önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

Abu-Romman, S. (2010). Responses of Cucumber Callus to Sorbitol-Induced Osmotic Stress. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 8(2): 45-50.

Ahmad, MSA., Javed, F. & Ashraf, M. (2007). Iso-osmotic effect of NaCl and PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Plant Growth Regulation, 53*(1), 53.

Ağaoğlu S, Aras ES, Ergül A, & Çalışkan M. (2003). GAP bölgesi bağcılığında kuraklık ve tuz stresine dayanıklılığın moleküler ve biyolojik yöntemlerle tanımlanmasına üzerinde araştırmalar. TUBİTAK: TOGTAG/TARP, Proje, (2059), 1-31.

Albiski, F., Najla, S., Sanoubar, R., Alkabani, N. & Murshed, R. (2012). *In vitro* screening of potato lines for drought tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. *18*(4), 315-321.

Al-Khayri, JM., & Al-Bahrany, AM. **(**2002**).** Callus growth and proline accumulation in response to sorbitol and sucrose-induced osmotic stress in rice. *Biologia plantarum*. *45*(4), 609-611.

Babaoğlu M, Gürel E., & Özcan S. (2001). Bitki Biyoteknolojisi-2 Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. *SÜ Vakfı Yayınları, Konya*.

Bidabadi, SS., Meon S., Wahab, Z., Subramaniam, S. & Mahmood, M. (2012). In vitro selection and characterization of water stress tolerant lines among ethyl methanesulphonate (EMS) induced variants of banana (*Musa* spp., with AAA genome). *Australian Journal of Crop Science*, *6*(3), 567-575.

Blazina, I., Korosec-Koruza, Z., Ravinkar, M. & Gogala, N. (1991). Regeneration and micropropagation of the grapevine (*Vitis vinifera L.*'Zelen') from shoot tip meristem. *ActaHorticulturae*. 300, 123-126.

Bohnert, HJ. & Jensen, RG. (1996). Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnology*., 14, 89–97.

Brito, G., Costa, A., Fonseca, H. M., & Santos, C. V. (2003). Response of Olea europaea ssp. maderensis in vitro shoots exposed to osmotic stress. *Scientia Horticulturae*, *97*(3-4), 411-417.

Bündig, C., Vu, T. H., Meise, P., Seddig, S., Schum, A., & Winkelmann, T. (2017). Variability in osmotic stress tolerance of starch potato genotypes (Solanum tuberosum L.) as revealed by an in vitro screening: role of proline, osmotic adjustment and drought response in pot trials. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *203*(3), 206-218.

Cangi, R. (1999). Ordu'da yetistirilen bazi üzüm cesitlerinin ampelografik özelliklerinin saptanmasi üzerinde bir arastirma. III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 14-17 Eylül, Ankara.

Capell, T., Bassie, L., & Christou, P. (2004). Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(26), 9909-9914.

Chaves, MM., Santos, TP., Souza, CR., Ortuńo, MF., Rodrigues, ML., Lopes, CM., & Pereira, JS. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology, 150*(2), 237-252.

Chaves, MM., Zarrouk, O., Francisco, JM., Costa, T., Santos, AP., Regalado, ML., & Rodrigues, CM. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of botany, 105*(5), 661-676.

Çelik, H. (2006). Üzüm Çeşit Kataloğu, Sun Fidan AŞ Mesleki Kitaplar Serisi: 3, 165s.

Çelik, S. (2007). Bağcılık (Ampeloloji), Cilt I, Düzeltilmiş 2. Baskı, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 432s.

Çelik, H. (2004). Üzüm yetiştiriciliği. Pazar Ziraat Odası Eğitim Yayınları, Pazar Ofset, Rize.

Çelik, H., Ağaoğlu, YS., Fidan, Y., Marasalı, B., & Söylemezoğlu, G. (1998). Genel bağcılık. Sunfidan AŞ Mesleki Kitaplar Serisi, 1(178,190).

Çırak, C. & Esendal, E. (2006). Soyada kuraklık stresi, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(2), 231-237.

Danial, GH., Ibrahim, DA., Khalil, BM. & Musa, V. M. (2014). *In vitro* drought tolerant of rootstock apple (*Malus domestica* Borkh.) and pear (*Pyrus calleryana*). *Journal of Zankoy Sulaimani*, *16*, 109-116.

Deluc, LG., Quilici, DR., Decendit, A., Grimplet, J., Wheatley, MD., Schlauchi, KA., Merillon, JM., Cushman, JC., & Cramer, GR. (2009). Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics, 10*(1), 1-33.

Dodds, JH. & Roberts, LW. (1985). Experiments in plant tissue culture. 2. Edition, Cambridge University Press Cambridge, U.K.

Dlugokecka, E. & Kacperska-Palacz, A. (1978). Re-Examination of electrical conductivity method for estimation of drought injuries. *Biologia Plantarum*, 20(4), 262-267.

Fan, S. & Blake, TJ (1994). Abscisic acid induced electrolyte leakage in woody species with contrasting ecological requirements. *Physiologia Plantarum*. 90(2), 414-419.

França, MGC., Thi, ATP., Pimentel, C., Rossiello, R. OP., Zuily-Fodil, Y., & Laffray, D. (2000). Differences in growth and water relations among Phaseolus vulgaris cultivars in response to induced drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, *43*(3), 227-237.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, SMA. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, 153-188.

Geçene İ. (2020). Kokulu üzümün (*Vitis labrusca L.*) kuraklık stresine toleransının PEG uygulamasıyla *in vitro* koşullarda belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ordu.

Gelmesa, D., Dechassa, N., Mohammed, W., Gebre, E., Monneveux, P., Bündig, C., & Winkelmann, T. (2017). In vitro screening of potato genotypes for osmotic stress tolerance. *Open Agriculture, 2*(1), 308-316.

Göksoy, AT., & Turan, ZM. (1991). Kuraklığın bitki fizyolojisi ve morfolojisi üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 8*, 149-190.

Grimplet, J., Deluc, LG., Cramer, GR., & Cushman, JC. (2007). Integrating functional genomics with salinity and water deficit stress responses in wine grape-*Vitis vinifera:* In Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops, Ed.: Jenks MA., Hasegawa PM. & Mohan Jain. Springer, Dordrecht, Hollanda, 643-668.

Gopal, J. & Iwama, K. (2007). In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. *Plant cell reports*, 26(5), 693-700.

Gangopadhyay, G., Basu, S., & Gupta, S. (1997). In vitro selection and physiological characterization of NaCl-and mannitol-adapted callus lines in Brassica juncea. *Plant cell, tissue and organ culture*, *50*(3), 161-169.

Hassan, NA., & Bekheet, SA. (2008). Mid-term storage and genetic stability of strawberry tissue cultures. *Egyptian Journal of Genetics And Cytology*, *37*(2).

Harun-Or-Rashid, M., Miah, MB., & Islam, SS. (2021). In vitro morphophysiological screening of drought-tolerant potato genotypes. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *57*(3), 519-528.

Hekimoğlu, B. & Altındeğer, M. (2008). Küresel Isınma, Tarımsal Kuraklık ve Samsun Tarımına Etkileri. Küresel Isınma ve İklim Değişikliği. T.C. Samsun Valiliği ve İl Tarım Müdürlüğü. 77s., Samsun.

Kalefetoğlu, T. & Ekmekçi, Y. (2005). The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18 (4), 723-740.

Karimi, S., Yadollahi, A., Nazari-Moghadam, R., Imani, A. & Arzani, K. (2012). *In vitro* screening of almond (*Prunus dulcis* (Mill.)) genotypes for drought tolerance, *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 6(18): 263-270.

Kapluhan, E. (2013). Türkiye'de kuraklık ve kuraklığın tarıma etkisi, *Marmara Coğrafya Dergisi*, (27), 487-510.

Kaynaş, N. & Kaynaş, K. (2003). Klon anaçları üzerine aşılı Angelona erik çeşitinin su stresi koşullarındaki fizyolojik değişimleri. Türkiye 4. Bahçe Bitkileri Kongresi, 08-12 Eylül, Antalya.

Kılıçaslan SC., Yıldırım E., Ekinci M., & Kul R. (2020). Kuraklık stresinin fasulyede bitki gelişimi, bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 36*(2), 264-273.

Kılıç, S. (2008). Küresel iklim değişikliği sürecinde su yönetimi, *İstanbul Üniversitesi Siyasal Bilgiler Fakültesi Dergisi*, 39, 161-186.

Kinfe, B. (2010). Multiple shoot regeneration study on three varieties of grapevine (VitisviniferaL.) from shoot tip and nodal culture. Master of Science, Addis Ababa University. School of Graduate Studies. Department of Biology. Applied Genetics Stream, Ethiopia.

Kielkowska, A., Adamus, A., & Oleksyk, A. (2012). In vitro selection of Allium cepa for water stress. In VI International Symposium on Edible Alliaceae, 21-12 May, Fukuoka (Japan).

Kutlu, İ. (2010). Tahıllarda kuraklık stresi, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(1): 35-41.

Marssaro, AL., Lucymeire, SM., Jailson, LC., Silva Ledo, CA. Santos-Serejo, JA. (2017). Simulation of *in vitro* water deficit for selecting drought-tolerant banana genotypes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52 (12): 1301-1304.

Nuray, M. E. Ş. E., & TANGOLAR, S. Bazı Amerikan Asma Anaçlarının Kurağa Dayanımının in Vitro'da Polietilen Glikol Kullanılarak Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, *29*(3), 466-475.

Murashige T., & Skoog F. (1974). Plant propagation through tissue cultures. *Annual review of plant physiology*, *25*(1), 135-166.

Murasnige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tohaoco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 15(3), 473-497.

Oraman, MN., (1972). Bağcılık Tekniği II. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 470. Ders Kitabı: 162, 402 s. Ankara.

Ozden, M., Demirel, U., & Kahraman, A. (2009). Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (Vitis vinifera L.) exposed to oxidative stress by H2O2. *Scientia Horticulturae*, *119*(2), 163-168.

Öztürk, K. (2002). Küresel İklim Değişikliği ve Türkiyeye Olası Etkileri. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, *22*(1).

Peros, JP., Torregrosa, L., & Berger, G. (1998). Variability among Vitis vinifera cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *Journal of Experimental Botany*, *49*(319), 171-179.

Placide, R., Carpentier, S., & Swennen, R. (2012). Development of in vitro technique to screen for drought tolerant banana varieties by sorbitol induced osmotic stress. *African Journal of Plant Science*, *6*(15), 416-425.

Rai, MK., Kalia RK., Singh, R., Gangola, MP., & Dhawan, AK. (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection - an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, *71*(1), 89-98.

Sircelj, H., Tausz, M., Grill, D. & Batic, F. (2007). Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae*, 113(4), 362–369.

Sivritepe, N., Ertürk, U., Yerlikaya, C., Türkan, İ., Bor, M. & Özdemir, F. (2008). Response of the cherry rootstock to water stress induced *in vitro*. *Biologia Plantarum,* 52 (3), 573-576.

Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambshi, M., Rouhi, V., & Ercisli, S. (2010). *In vitro* assay of native Iranian almond species (*Prunus* L. spp.) for drought tolerance. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 105(3), 395-404.

Şimşek, Ö., Dönmez, D., & Kaçar, Y. (2018). Bazı turunçgil anaçlarının *in vitro* kuraklık stresi koşullarında performanslarının araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(3), 305-310.

Şimşek, O. & Çakmak, B. (2010). Drought analysis for 2007-2008 agricultural year of Turkey. *Tekirdag Ziraat Fakültesi Dergisi*, 7(3), 99-109.

Thompson, MR., Douglas, TJ., Obata-Sasamoto, H., & Thorpe, TA. (1986). Mannitol metabolism in cultured plant cells. *Physiologia Plantarum, 67*(3), 365-369.

Turhan, H., Baser, I. (2004). *In vitro* and *In vivo watrer stress* in sunflower (*Helianthus annuus L.*), *Hellia*, 27(40), 227-236.

Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F. & Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidants in the leaves of drought tolerant *P.acutifolius* Gray and drought sensitive P. vulgaris L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* 168(1), 223-231.

Vanhove, AC., Vermaelen, W., Panis, B., Swennen, R., & Carpentier, SC. (2012). Screening the banana biodiversity for drought tolerance: can an in vitro growth model and proteomics be used as a tool to discover tolerant varieties and understand homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, 3, 176

Verslues, PE., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, JK. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45(4), 523–539.

Wang, W., Vinocur, B. & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.

Wang, WX., Vinocur, B., Shoseyov, O. & Altman, A. (2001). Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. In IV International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding, 24 August, Brisbane, Australia.

Yamasaki, S.& Dillenburg, LR. (1999). Measurement of leaf relative water content in Araucaria angustifolia. *Revista Brasilleira de fisiologia vegetal*, *11*(2), 69-75.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Demet AKIN
Doğum Yeri	BAFRA
Doğum Tarihi	
Uyruğu	× T.C. ❒ Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	ORDU ÜNİVERSİTESİ
Fakülte	ZİRAAT FAKÜLTESİ
Bölümü	BAHÇE BİTKİLERİ
Mezuniyet Yılı	28.06.2018
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Anabilim Dalı