



T.C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOKULU ÜZÜMÜN (*Vitis labrusca* L.) TEK BOĞUMLU
MİKRO ÇELİK KÜLTÜRÜ İLE *IN VITRO* ÇOĞALTIMI**

GÜL YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ORDU 2018

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**KOKULU ÜZÜMÜN (*Vitis labrusca* L.) TEK BOĞUMLU
MİKRO ÇELİK KÜLTÜRÜ İLE *IN VITRO* ÇOĞALTIMI**

GÜL YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2018

TEZ ONAY

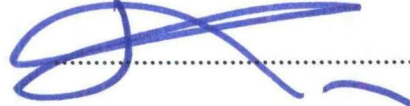
Gül YILMAZ tarafından hazırlanan “KOKULU ÜZÜMÜN (*Vitis labrusca* L.) TEK BOĞUMLU MİKRO ÇELİK KÜLTÜRÜ İLE *IN VITRO* ÇOĞALTIMI” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 25.06.2018 tarihinde yapılmış ve jüri tarafından oy birliği ile Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Hatice BİLİR EKBİÇ
Bahçe Bitkileri, Ordu Üniversitesi



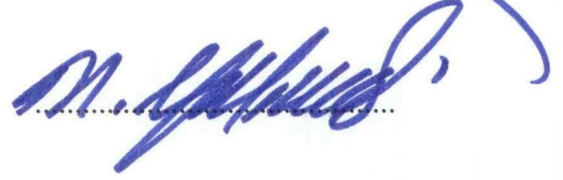
Üye

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİK
Bahçe Bitkileri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi



Üye

Dr. Öğr. Üyesi Muharrem YILMAZ
Bahçe Bitkileri, Ordu Üniversitesi



04 / 07 / 2018 tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 05 / 07 / 2018 tarih ve 2018/07/04 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Enstitü Müdürü
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER

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.


Gül YILMAZ

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün TF-1607 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

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.) TEK BOĞUMLU MİKRO ÇELİK KÜLTÜRÜ İLE *IN VITRO* ÇOĞALTIMI

GÜL YILMAZ

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 43 S

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ HATİCE BİLİR EKBIÇ)

Bu çalışma 2015-2016 vejetasyon döneminde Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yer alan doku kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bitkisel materyal olarak, Balıkçı Siyahı üzüm tipinin (*Vitis labrusca* L.) aktif büyüme dönemindeki sürgünlerinden alınan ve tek boğum içeren 2-3 cm uzunluğundaki mikro çelikleri kullanılmıştır. Eksplantlar yüzey sterilizasyonları yapıldıktan sonra sürgün oluşturma amacıyla Benzil Adenin' in (BA) 0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l dozları ve 30 mg/l sukroz bulunduran Murashige and Skoog (MS) besin ortamı içinde kültüre alınmıştır. Değişik dozlarda BA içeren ortamda kültüre alınan eksplantlardan süren sürgünler köklendirme aşamasında beş farklı Indol Bütirik Asit (IBA) dozu (0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l) içeren MS besin ortamına transfer edilmiştir. Deneme kapsamında uygulamaların karşılaştırılması amacıyla sürgün oluşturma aşamasında eksplant canlılık oranı (%), uyanma ve sürme süresi (gün); kök oluşturma safhasında ise boğum ve yaprak sayısı (n), sürgün uzunluğu (cm) ile sürgün yaş ve sürgün kuru ağırlığı, kök yaş ve kök kuru ağırlığı (g) köklenme süresi (gün), köklenme oranı (%), kök sayısı (n) ve kök uzunluğu (cm) incelenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre Balıkçı Siyahı tipinin tek boğumlu mikro çeliklerinin sürgün gelişimi açısından en uygun BA dozunun 1 mg/l olduğu ve 4 mg/l BA dozunda hiperhidrasyonun meydana geldiği belirlenmiştir. Sürgünlerin köklenmesi açısından ise en uygun IBA dozunun ise 2 mg/l olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Balıkçı Siyahı, Boğum Kültürü, *V. labrusca* L.

ABSTRACT

MICROPROPAGATION OF FOX GRAPE (*Vitis labrusca* L.) BY SINGLE NODE MICROCUTTING CULTURE

GÜL YILMAZ

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF HORTICULTURE

M.SC THESIS, 43 P

(SUPERVISOR: ASSIST. PROF. DR. HATİCE BİLİR EKBIÇ)

This study was carried out in tissue culture laboratory of Ordu University Faculty of Agriculture Department of Horticulture in 2015-2016's vegetation period. As a material, 2-3 cm long micro-cutting containing with a single node from shoots of taken during active growth period. Balikci Siyahi foxy grape type in *V. labrusca* L. were used. Explants were cultured after surface sterilization was performed in Murashige and Skoog (MS) nutrient medium with 0, 0.5, 1, 2 and 4 mg/l Benzil Adenin (BA) and 30 mg/l sucrose to form shoots. Cultured explants at medium containing different doses BA, were transferred to MS medium with Indole butyric acid (IBA) (0, 0.5, 1, 2 and 4 mg/l) at the rooting stage. In order to compare the applications, in the shooting stage; explant survival rate (%), duration of bud burst (days), duration of shooting (days) and in the rooting stage; duration of rooting (days), rooting explant ratio (%), root number/plantlets (n), root length (cm), number of node and leaf (n), shoot length (cm), shoot fresh weight (g), shoot dry weight (g), root fresh weight (g) and root dry weight (g) were determined.

According to the results it was determined that the most suitable BA dose was 1 mg/l and hyperhydration was occurred in 4 mg/l BA treatment in single-stranded microcuttings of Balikci Siyahi type. It was determined that the most appropriate IBA dose was 2 mg/l for rooting of shoots.

Keywords: Balikci Siyahi, Node Culture, *V. labrusca* L.

TEŞEKKÜR

Lisans öğrenimim ve Yüksek Lisansım süresince bilgi ve desteğini esirgemeyerek beni yönlendiren ve engin fikirleriyle yetiştirme ve gelişmeme katkıda bulunan sevgili danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice BİLİR EKBİÇ'e en derin saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, hayatım boyunca her zaman yaptıklarımın arkasında duran hayatımın en özel iki insanı annem ve babama, aynı zamanda her zaman yanımda olan abim Furkan YILMAZ'a ve kardeşim CebraİL YILMAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Herkese nasip olmaz böyle dost dediğim ve Yüksek Lisans çalışmalarımın ağırlığını ve sıkıntılarını benimle birlikte omuzlayan ve bitirmemdeki en büyük destekçim olan Sayın Ziraat Yüksek Mühendisi Seda CİĞERLİ' ye sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Gıda Mühendisi Duygu YILDIZ'a ve Sayın Öğr. Gör. Dr. Kaan KALTALIOĞLU' na teşekkür ederim.

Yüksek Lisans öğrenimim sürecinde göstermiş oldukları iyi niyet ve sabır için Keşap Fındık Üreticileri Birliği Başkanı Sayın Mustafa ŞAHİN'e ve desteklerinden dolayı canım arkadaşım Sayın Fatma TOZOĞLU' na teşekkür eder, sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmayı TF-1607 numaralı proje ile maddi olarak destekleyen Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
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	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	14
3.1 Materyal.....	14
3.1.1 Balıkcı Siyahı (<i>Vitis labrusca</i> L.).....	14
3.2 Yöntem.....	15
3.2.1 Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu.....	15
3.2.2 Besin Ortamının Hazırlanması.....	15
3.2.3 Bitki Materyalinin Hazırlığı ve Kültüre Alınması.....	18
3.2.4 Kültür Koşulları.....	20
3.3 İncelenen Özellikler.....	20
3.3.1 Eksplantlardan Sürgün Oluşumu Safhasında İncelenen Özellikler.....	21
3.3.1.1 Eksplant Canlılığı (%).....	21
3.3.1.2 Gözlerin Uyanma Süresi (Gün).....	21
3.3.1.3 Gözlerin Sürme Süresi (Gün).....	21
3.3.2 Eksplantlardan Oluşan Sürgünlerin Köklendirme Safhası Kapsamında İncelenen Özellikler.....	21
3.3.2.1 Boğum Sayısı (n).....	21
3.3.2.2 Yaprak Sayısı (n).....	21
3.3.2.3 Sürgün Uzunluğu (cm).....	21
3.3.2.4 Sürgün Yaş Ağırlığı (g).....	21
3.3.2.5 Sürgün Kuru Ağırlığı (g).....	22
3.3.2.6 Köklenen Eksplant Oranı (%).....	22
3.3.2.7 İlk Köklenme Süresi (Gün).....	22
3.3.2.8 Kök Sayısı (n).....	22
3.3.2.9 Kök Uzunluğu (cm).....	22
3.3.2.10 Kök Yaş Ağırlığı (g).....	22
3.3.2.11 Kök Kuru Ağırlığı (g).....	22
3.4 İstatiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	24
4.1 Eksplantlardan Sürgün Oluşturma Denemesi Bulguları.....	24
4.1.1 Gözlerin Uyanma Süresi (Gün).....	24
4.1.2 Gözlerin Sürme Süresi (Gün).....	24
4.1.3 Eksplant Canlılık Oranı (%).....	24
4.2 Eksplantlardan Oluşan Sürgünlerin Köklendirme Safhası Bulguları.....	26
4.2.1 Farklı IBA Dozlarının Sürgün Gelişimi Üzerine Etkileri.....	26
4.2.1.1 Boğum Sayısı (Adet).....	26

4.2.1.2 Yaprak sayısı (Adet)	26
4.2.1.3 Sürgün Uzunluğu (cm).....	26
4.2.1.4 Sürgün Yaş Ağırlığı (g) ve Sürgün Kuru Ağırlığı (g).....	27
4.2.2 Farklı IBA Dozlarının Kök Gelişimi Üzerine Etkileri.....	28
4.2.2.1 Köklenen Eksplant Oranı (%)	28
4.2.2.2 Köklenme Süresi (Gün)	29
4.2.2.3 Kök Sayısı (Adet).....	29
4.2.2.4 Kök uzunluğu (cm)	30
4.2.2.5 Kök Yaş Ağırlığı (g) ve Kök Kuru Ağırlığı (g)	31
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	34
6. KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	43

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 Denemede kullanılan Balıkcı Siyahı üzüm tipinin asma ve mikro çelik görünümü.....	15
Şekil 3.2 Ortamların hazırlanmasından görünüm.....	16
Şekil 3.3 Hazırlanan ortamların otoklavda sterilizasyon görünümü.....	18
Şekil 3.4 Mikro çeliklerin yüzey sterilizasyonuna ait görünüm.....	19
Şekil 3.5 Eksplantların kültüre alınmasından görünüm.....	20
Şekil 3.6 Eksplantlardan oluşan sürgünlerin köklendirme ortamlarına transferleri.....	20
Şekil 4.1 Eksplantların farklı dozdaki BA içeren MS ortamındaki gelişimleri.....	25
Şekil 4.2 Farklı dozdaki IBA'lı köklendirme ortamlarında bulunan bitkiciklerin görünümü.....	33

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 MS temel besin ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962).....	17
Çizelge 4.1 Farklı BA (Benzil Adenin) Dozlarının Gözlerin Uyanma Süresi, Gözlerin Sürme Süresi ve Bitki Canlılığı Üzerine Etkisi	25
Çizelge 4.2 Farklı IBA Dozlarının Bitkilerin Sürgün Gelişim Parametreleri Üzerine Etkisi	28
Çizelge 4.3 Farklı IBA Dozlarının Bitkiciklerin Kök Gelişim Parametreleri Üzerine Etkisi	32

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
µM	: Mikromolar
atm	: Atmosfer Basıncı
BA	: Benzil Adenin
BAP	: Benzylamino Purine
Ca	: Kalsiyum
cm	: Santimetre
FeSO₄7H₂O	: Demir Sülfat Heptahidrat; Sülfürik Asit Demir(II) tuzu
g	: Gram
g/l	: Gram/Litre
GA₃	: Gibberelik Asit
HCl	: Hidroklorik Asit
IAA	: Indol Asetik Asit
IBA	: Indol Bütirik Asit
L	: Litre
mg	: Miligram
mg/l	: Miligram/Litre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
MS	: Murashige and Skoog
NAA	: Naftelen Asetik Asit
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NaOH	: Sodyum hidroksit
NN	: Nitsch ve Nitsch
TDZ	: Thidiazuron
WPM	: Woody Plant Medium

1. GİRİŞ

Asma, dünyada tarım alanlarının büyük bir kısmını oluşturan ve çok fazla ülkede yetiştirilen bir türdür. Dünya’da toplam 7 096 741 hektar alanda 77 438 929 ton yaş üzüm üretilmektedir (Anonim, 2017a). Ülkemiz hem bağcılık kültürünün başlangıç yeri olması hem de coğrafik açıdan elverişli iklim kuşağı üzerinde yer almasından dolayı bağcılık açısından önemi biryere sahiptir. Ülkemizde 2017 yılı verilerine göre 435 227 ha bağ alanından 4 000 000 ton üzüm üretilmiştir. (Anonim, 2017a). Türkiye’de bağcılık kültürü oldukça eskiye dayandığı için asmanın kültür ve yabani formlarının çeşit ve tip zenginliği bakımından da önemli bir konuma sahiptir. Sahip olduğumuz bu genetik potansiyel üzüm ıslahı çalışmaları için çok değerli birer kaynaktır.

Ülkemizde 2016 verilerine göre hem üzüm üretimi (1 801 816 ton) hem de alan açısından (1 518 976 da) Ege bölgesi ilk sırada yer almaktadır. Karadeniz bölgesi ise 3 923 ton üzüm üretimi ve 8 417 da bağ alanı ile en son sırada yer almaktadır (Anonim, 2017b). Karadeniz bölgesi toprakları, aşırı ve düzensiz yağış nedeniyle kimyasal çözünmeden kaynaklanan asidik özelliindedir. Bölgenin iklim ve toprak koşullarındaki bu tür olumsuzluklara rağmen eski zamanlarda bağcılığın yoğun olarak yapıldığı Canik Sancağı olarak bilinen ve Samsun ilinin Bafra ilçesini de içine alan kısmında tütün yetiştiriciliğinin artışıyla beraber bağ alanlarının gündün güne azaldığı bildirilmiştir (Yılmaz ve Çelik, 2005; Yolalıcı, 1998). Karadeniz bölgesinde, bölgenin iklim ve toprak koşullarına çok daha iyi uyum sağlamış olan *Vitis labrusca* L. türü içinde yer alan çeşit ve tipler yoğun olarak yetiştirilmektedir. Isabella; çilek üzümü, kokulu kara üzüm, siyah üzüm veya Amerikan üzümü olarak da bilinen bu üzüm çeşit ve tipleri özellikle mantari hastalıklara dayanımı yüksek olduğundan bölge koşullarına iyi adapte olmuştur (Atak, 2017; Atak ve ark., 2017).

Asma, generatif (tohumla) ve vejetatif (çelik, daldırma, aşı ve doku kültürü yöntemleri) olmak üzere iki yolla çoğaltılabilmektedir (Chanana ve Gill, 2008). Tohumla çoğaltmada ebeveyne benzeyen bitkiler üretilmediği için pek tercih edilmemekte ve genellikle ıslah amaçlı kullanılmaktadır. Vejetatif çoğaltma yöntemlerinden çelikle çoğaltma yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemde de çoğaltmanın yavaş ve sınırlı sayıda bitki üretimini sağlaması,

hastalıkların ve sistematik kusurların taşınması gibi bazı olumsuz yanları bulunmaktadır (Skiada ve ark., 2009). Çelikle çoğaltılan bir asmanın dikimden itibaren çelik alınabilir duruma gelmesi için yaklaşık beş yıla ihtiyacının olması da bir problem olarak görülmektedir (Winkler, 1974). Doku kültürü ile kısa sürede ve kitlesel olarak fazla sayıda bitki üretilebilmesi bağcılıkta özellikle yeni çeşit ve tiplerin üretilmesinde önemlidir.

In vitro bitki çoğaltımı, dünyada yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu nedenle asma ve birçok bitki türünün daha hızlı çoğaltılması amacıyla *in vitro* tekniklerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Mozafari ve ark., 2016). Doku kültürü, bitkinin değişik kısımlarından alınan küçük bir doku parçası olarak isimlendirilen eksplantın sterilize edildikten sonra çeşitli organik ve inorganik maddeleri içeren steril besi ortamı ve optimum çevre koşullarında kültüre alınması ve bu ortam içinde doku parçalarının bitkiciklere dönüştürme işlemidir. Bu yüzden mikro çoğaltma veya aseptik kültür olarak da isimlendirilmektedir (Babaoğlu ve ark., 2001; Çelik, 2011).

Bağcılıkta doku kültürü, genetik varyabilite sağlamak ve yeni çeşit geliştirmek, çevre koşullarından etkilenen bitkileri daha hızlı ve kolay bir şekilde çoğaltmak, üstün özellikli bitki çeşitleri elde etmek (Bajaj, 1988), yılın her döneminde üretim yapılmasını ve karmaşık molekül yapıları nedeniyle sentetik veya yarı sentetik olarak elde edilemeyen seconder metabolitlerin daha ekonomik üretimlerini sağlamak, kaybolan türlerin korunmasını sağlamak, soğuğa, kuraklığa, hastalıklara, tuzluluğa ve herbisitlere dayanıklı bireylerin seçilmesi amaçlarıyla kullanılmaktadır.

Asmada doku kültürü yöntemleri içerisinde yer alan mikroçoğaltma yoğun olarak kullanılmaktadır (Gray ve Klein, 1987; Gray ve Benton, 1991). Mikro çoğaltma asmalarda ilk olarak mikro çeliklerden elde edilen bitkicikler kullanılarak yapılmıştır (Jean ve ark., 1998; Kinfe, 2010). Seçilen genotiplerde mikroçoğaltma, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları = eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımları kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Barlass ve Skene, 1980; Gray ve Fischer, 1985; Monette, 1988; Heloir ve ark., 1997).

Son yıllarda tek boğum içeren mikro çeliklerin kültüre alınması ile gelişmiş sürgünün daha kısa sürede elde edilmesi avantajından dolayı bu yöntemi içeren çalışma

sayılarındaki artış dikkat çekmektedir. Ayrıca tek boğumlu mikro çelik kullanılarak *in vitro* seleksiyonun gerçekleştirilmesiyle de ıslah süresinin ya da abiyotik ve biyotik strese dayanıklılıkta çalışma süresinin kısaltılması sağlanabilmektedir (Lima da Silva ve Doazan, 1995; Kuksova ve ark., 1997; Kunter Marasalı ve Değirmenci, 2007; Bilir Ekbiç ve Tangolar, 2016; Bilir Ekbiç ve ark., 2017).

Karadeniz bölgesinde yer alan *Vitis labrusca* L. türüne ait genotiplerin belirlenmesi ve özelliklerinin saptanmasına yönelik olarak birçok çalışma yürütülmüştür (Melek ve Çelik, 2005; Şanlı ve Odabaş, 2005; Cangı ve ark., 2006a; Cangı ve ark., 2006b; Çelik ve ark., 2008; Hızarcı, 2010). Yapılan bu çalışmayla Kokulu Kara üzüm tiplerinden biri olan Balıkçı Siyahı'nın tek boğumlu mikro çelikleri kullanılarak *in vitro* klonal çoğaltımının sağlanması amaçlanmıştır. Bu araştırmada sürgün sürmesini teşvik eden optimum BA dozu veya dozları ile boğumun sürmesiyle oluşan sürgünlerin köklenmesi ve bitkicik halini almasını sağlayan IBA dozu veya dozlarının belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Batur, (1989), 41 B Amerikan asma anacı ile Kalecik Karası üzüm çeşidinin meristemleri kullanılarak çoğaltılmasında köklendirme ve sürgün oluşturma ortamları için optimum "oksin x sitokinin" kombinasyonlarının belirlenmesini amaçlamıştır. Araştırmacı, sürgün aşamasında BAP, köklendirme aşamasında ise IBA hormonunun daha baskın olacak şekilde 15 farklı "IBA x BAP" kombinasyonlarının etkilerine bakmıştır. Araştırmada, her iki aşamada da bitki başına düşen sürgün, kök ve özellikle bitki oluşumunun yanısıra, eksplant sayısı, kallus oluşumu ve taze doku ağırlığı ile ilgili parametreler incelenmiştir. Kalecik Karası üzüm çeşidinde sürgün ortamı için; IBA'nın 0 mg/l ile BAP'in 1 mg/l kombinasyonu ve IBA'nın 0.5mg/l ile BAP'in 1 mg/l kombinasyonu, köklendirme ortamı için; IBA'nın 1 mg/l ile BAP'in 0 mg/l kombinasyonu ve IBA'nın 1 mg/l ile BAP'in 0.5 mg/l kombinasyonları en üstün sonuçları göstermiştir. Araştırmacı, 41 B anacının sürgün ortamı için ise "IBA: 0 mg/l x BAP: 1 mg/l" köklendirme aşaması için "IBA: 5 mg/l x BAP: 0 mg/l" kombinasyonlarında en iyi sonuçları elde etmiştir.

Karoglan ve ark., (1990), *in vitro* çoğaltım amacıyla *Vitis vinifera* L. türü içinde yer alan Chardonnay, Pinot white, Sultanina, Plavac mali ve Plavac mali siv çeşitlerinin 1-2 mm uzunluğundaki sürgünleri eksplant olarak kullanmıştır. Araştırmacılar, eksplantları farklı tip ve konsantrasyonlarda büyüme düzenleyicileri, makro besin elementler ve karbonhidratları içeren tam ve yarım güçteki MS, Lloyd ile WPM ortamında yetiştirmişlerdir. Eksplantların sterilizasyonunda en üstün sonuçları % 1.5 dozunda Izosan (Klorin, Pliva Zagreb) ve % 0.01 dozunda Tween 20 içeren çözeltide eksplantların bekletilmesi ve sonrasında 3 defa steril saf su ile çalkalanmasından elde etmişlerdir. Çalışmada MS, LLOYD ve McCOWN (WPM) ortamlarına % 2 sukroz, % 0.8 agar, 1 mg/l tiamin-HCl, 0.5 mg/l pridoksin-HCl, 2 mg/l glisin, 100 mg/l myo-inositol içeren IAA ve NAA'nın farklı konsantrasyonları ile kombinasyonları denenmiştir. Araştırmada, farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda BA, IAA ve NAA'nın etkileri incelenmiştir. Sürgün çoğaltımı amacıyla en uygun ortam 1 mg/l BA ve 0.3 mg/l IAA ilave edilen tam MS ortamı bulunmuştur.

Lee ve Wetzstein, (1990), *in vitro* koşullarda *Vitis rotundifolia* türü içinde yer alan Summit çeşidinin yan tomurcuğundan bitkicik oluşumunu araştırmışlardır. Bu amaca

yönelik olarak belirtilen çeşidin 0.5-1.0 cm uzunluğundaki boğum eksplantlarını 5, 10, 20 ya da 40 µM miktarda BA ilave edilmiş MS ortamında kültüre almışlardır. Araştırmacılar toplam sürgün oluşturma açısından en üstün sonuçları 10 µM BA dozundan elde ederlerken; daha yüksek BA dozlarında sürgünlerin büyümediği ve öldüğü belirlenmiştir. MS ortamına IBA ilavesiyle ise köklenme oranı ve bitkicik başına düşen kök sayısının artışına bağlı olarak kök gelişiminin de teşvik edildiği belirlenmiştir. Bu araştırmada, MS ortamına 5 µM BA ilavesi sonucu oluşan sürgünlerin, 10 µM BA ilavesiyle oluşanlara göre kök oluşumlarının daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır. Bunu da sürgünlerin gücüyle açıklamışlardır. Araştırmada ayrıca sürgün ve kök gelişiminin, sıvı ya da katı ortam olmasından etkilenmediğini de saptamışlardır.

Hartl ve ark., (1990), asma genotiplerine ait sürgün uçları, 0.5 mg/l IAA, 0.1 mg/l BA ve % 3 sukroz katkılı MS ortamında kültüre almışlardır. Güçlü bitkicikler, BA (0.02-2.2 mg/l) ve IAA (0.1-0.5 mg/l) ilave edilen ortama aktarılarak alt kültüre alınmıştır. Araştırmacılar, bu protokolle virüsle bulaşık olan bitkilerde virüs eliminasyonunu sağlamışlardır.

Lewandowski, (1991), tek boğumlu sürgün parçalarını 100 mg/l myo-inositol 0.4 mg/l tiamin-HCl, 1 mg/l BAP, 0.45 mg/l GA₃, 20.9 mg/l FeSO₄7H₂O, 28.0 mg/l Na₂ EDTA 2H₂O içeren MS ortamına (pH:5.7) dikmiştir. Köklendirme aşaması için de 1-2 cm boyundaki mikro çelikler myo-inositol, sukroz ve tiamin-HCl'i daha önce kullanmış olduğu dozun yarısına indirerek 1/2 MS ortamında ve 13.9 mg/l FeSO₄7H₂O ve 18.7 mg/l Na₂EDTA 2H₂O olacak şekilde ayarladığı 0, 0.005, 0.01 ve 0.05 mg/l IBA ve 0, 0.001, 0.005 ve 0.01 mg/l NAA katkılı ortamları (pH: 5.7) kullanmıştır. En iyi köklenmeyi 0.001 mg/l NAA ve 0.005 mg/l IBA ilaveli ortamdan sağlamıştır. Ancak, en fazla kök sayısı 0.01 mg/l+NAA 0.05 mg/l IBA içeren ortamdan elde edilmiştir.

Gray ve Benton, (1991), Muscadinia alt cinsine giren *Vitis rotundifolia* türünde yer alan dokuz farklı çeşidin meristemlerinin *in vitro* çoğaltılmasına yönelik olarak protokol geliştirmeye çalışmışlardır. Araştırmada meristemler 10 cm uzunluğundaki sürgünlerden çıkarılarak hem kontaminasyon oranı % 3'lere kadar düşürülmüş hem de canlılık oranı % 94'lere kadar çıkarılmıştır. Çalışmada denemeye alınan

ortamların (MS, ½ MS ve C₂D) hemen hemen hepsi birbirine yakın sürgün çoğalma oranlarının elde edilmesini sağlarken, WPM ortamı bodur sürgünlerin oluşumuna neden olmuştur. WPM ortamından elde edilen sürgünlerde köklenme gerçekleşmediği de belirlenmiştir. Araştırmacılar denemeye alınan çeşitlerin *in vitro* koşullarda köklenmesi amacıyla en üstün sonuçlar ise 1 µM NAA eklenmiş ortamdan elde etmişlerdir.

Roubelakis- Angelakis ve Zivanovite, (1991), bazı Amerikan asma anaçlarının (1613 C, 99 R, 110 R, SO4, Rupestris du Lot ve Salt Creek) *in vitro* köklenmelerinin sağlanması amacıyla yeni bir kültür ortamı oluşturmaya çalışmışlardır. Araştırmacılar eksplant olarak tek boğumlu, 1-2 cm uzunluğundaki sürgünleri araziden temin etmiş ve bunları hormonsuz Roubelakis ortamında kültüre almışlardır. Sürgünlerin köklenmesi amacıyla ise IBA'nın 0, 1, 2, 3, 5 ve 8 µM dozlarını ortama ilave etmişlerdir. Çalışmada ayrıca antioksidant sitrik asit (1 µM) ve aktif kömüründe (% 3) etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda oksin içermeyen ortamda da köklenmenin teşvik edilebileceği ancak daha fazla kök oluşumu için 3 ya da 5 µM IBA'nın kullanılmasının uygun olduğunu belirtmişlerdir.

Kara, (1992), Çavuş'un 21 nolu, Müşküle'nin 62 nolu, Hafızali'nin 7 nolu, Razaki'nin 14 ve 88 nolu, Sultani Çekirdeksizin 7 ve 23 nolu ve Çal Karası'nın 36 nolu klonlarının virüs ve virüs benzeri hastalıklardan meristem kültürü yoluyla arındırılmasını hedeflemiştir. Meristem kültüründe 0.5 mg/1 BAP ilaveli, yeşil çelik ve sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla 0.03 mg/1 BAP ve 0.01 mg/1 NAA katkılı Linsmaier ve Skoog'e göre değiştirilmiş MS besin ortamını (pH 6.0) kullanmıştır. Sonuç olarak, 6.333 ile 0.833 cm arasında kök uzunluğu, 5.958 ve 1.417 arasında boğum sayısı ve 3.783 ile 0.858 cm arasında sürgün uzunluğu elde edilmiştir.

Heloir ve ark., (1997), Pinot noir (*Vitis vinifera*) üzüm çeşidinin *in vitro* kaynaklı bitkilerinden elde edilen mikro çeliklerin *in vitro*'da hızlı çoğaltımı için bir yöntem geliştirmiştir. Mikroçoğaltımın farklı evreleri için gerekli bitki büyüme düzenleyicileri belirlenmiştir. Başlangıçta kültür oluşumu için MS besi ortamına 8.9 mM BA ilavesinin yapılması ve takip eden alt kültürlerde ise hiperhidrasyonu önlemek amacıyla BA dozunun 4.4 mM'a düşürülmesinin daha uygun olduğunu saptamışlardır. En üstün köklenme için test edilen iki büyüme hormonu (NAA ve

IBA) arasında sürgünlerin % 100'ünde köklenmenin 2.5 mM IBA içeren ortamdan elde edildiği saptanmıştır.

Mhatre ve ark., (2000), Thompson Seedless, Sonaka ve Tas-e Ganesh çeşitlerinde tek boğumlu mikro çeliklerin *in vitro* çoğaltılması üzerine yaptıkları çalışmada Adenin sülfat, sodyum fosfat, BA ve NAA içeren G16 ortamını kullanmışlardır. Boğumlardan süren sürgünler adenin sülfat, sodyum fosfat, BA ve NAA içeren ortama konulduğunda çok sayıda kardeş sürgün oluşturmuşlardır. Araştırmacılar, elde edilen sürgünlerin uzamasının teşviki amacıyla sürgün uzama ortamına aktarmışlardır. Elde edilen sürgünlerin köklenmesi ise IAA içeren sıvı ortamda gerçekleştirilmiştir.

Norton ve Skirvin, (2001), Norton şaraplık üzüm çeşidinin mikro çoğaltılması amacıyla aktif vejetasyon döneminde sürgün uçları % 25 ticari hipo (% 1.3 NaOCl) ve Tritonda 35 dakika süreyle tutup yüzey sterilizasyonlarını yapmışlardır. Sterilizasyonu yapılan eksplantları iki defa steril saf su ile durulamışlardır. Eksplantları içinde Staba vitaminleri, 100 mg/l myo-inositol, 30 g/l sukroz, 4 µmol/l (0.90 mg/l) BA ve 6 g/l agar bulunduran C₂D ortamının bulunduğu 25 mm' lik kültür tüplerinde kültüre almışlardır. Norton çeşidinin tek boğumlu mikro çeliklerinin *in vitro* çoğaltılması için en uygun BA ve NAA konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla denemelerini tesadüfî bloklar deneme desenine göre düzenlemişlerdir. Araştırmacılar BA'in 0, 2, 4 ya da 8 µmol/l (0, 0.45, 0.90 ya da 1.80 mg/l) dozları ile NAA'nın 0, 0.5 ya da 1 µmol/l (0, 0.09 ya da 0.19 mg/l) dozlarını denemede kullanmışlardır. Araştırmacılar kullanılan çeşidin *in vitro* çoğaltılmasında NAA'in hiçbir etkisinin olmadığını buna karşın BA'in özellikle 4 µmol/l dozunun en uzun sürgün oluşumunu sağladığını saptamışlardır. Oluşan sürgünlerin köklendirilmesi safhasında da NAA hormonunun kullanımının gereksiz olduğunu sadece ½ MS ortamında köklenmenin sağlanabildiğini belirlemişlerdir.

Dzazio ve ark., (2002), 420 A Amerikan asma anacının mikroçoğaltımı için bir protokol oluşturmuşlardır. Eksplant olarak boğum kullanılmış olup BAP ve kinetinin 0, 1, 5 ve 10 µM konsantrasyonları farklı besi ortamlarında denenmiştir. Başlangıç ortamı olarak MS, ½ MS, ¼ MS, 1/8 MS, NN ve WPM besi ortamları, çoğaltma aşamasında MS, ½ MS, NN ve WPM besi ortamları ve köklendirmede ise aktif

kömürsüz ve 1 g/l aktif kömür ilave edilmiş ½ MS besi ortamı kullanılmıştır. Araştırmada BAP'ın eksplant başına sürgün sayısını arttırdığı belirlenmiştir. Artan BAP konsantrasyonunda ise eksplanttan oluşan yaprak sayısı azalmıştır. Vitrifikasyon semptomları artmış ve en iyi sonuç 1 µM BA uygulamasından elde edilmiştir. Başlangıç ortamı için araştırmada tam MS besi ortamında en iyi sürgün gelişimi sağlanmıştır. MS ortamının seyreltilmesi anacın gelişiminin yavaşlamış olmasına rağmen, çoğaltma aşaması boyunca, ½ MS ortamının en etkili olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar 420 A anacının başlangıç aşaması için 1 µM BAP içeren tam MS besi ortamının ve çoğaltma aşaması için ise ½ MS besi ortamının uygun olduğunu tavsiye etmişlerdir.

Han ve ark., (2003), Zuoshan (*Vitis amurensis*) üzüm çeşidi için etkin bir mikroçoğaltım prosedürünü oluşturmuşlardır. Araştırmacılar NAA ve BA kombinasyonunda sürgün oluşumunun engellendiği ve ortamda kallus oluşumuna neden olduğu; 0.3 µM IAA ve 4 µM BA kombinasyonunda ise en yüksek sürgün büyümesi ve çoğalmasının sağlandığını belirlemişlerdir. 2.8 ve 5.7 µM IAA sürgünlerde en yüksek kök oluşumunu sağlamıştır. 0-20 g l⁻¹ sukroz ile en yüksek köklenme sağlanırken 30 g l⁻¹ sukroz ile en yüksek sürgün gelişimi sağlanmıştır. Sürgünlerin köklenmesinin yüksek seviyede olması için sağlam yaprakların gerekli olduğu vurgulanmıştır.

Verghese ve Smita, (2004), altı farklı üzüm çeşidinin (Black Champa, Arka Neelamani, Anab-e Shahi, Shweta Seedless ve Arka Krishna, Thompson Seedless) *in vitro* köklenmesi üzerine IBA ve NAA'nin etkisini araştırmışlardır. Araştırmada ortama IBA ilavesinin NAA ilavesine göre daha etkili köklenmeyi sağlandığı belirlenmiştir. Black Champa, Arka Neelamani, Anab-e Shahi, Shweta Seedless ve Thompson Seedless çeşitlerinde yüksek IBA konsantrasyonlarında (3 mM) düşük konsantrasyonlara göre daha fazla kök sayısı ve kök uzunluğu tespit edilmiştir. Black Champa çeşidinde diğer çeşitlere göre daha fazla kök sayısı, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, kök ağırlığı, boğum sayısı ve yaprak sayısı belirlemişlerdir. Araştırmacılar en iyi sürgün ve kök oluşumu için Shweta Seedless çeşidinin tek boğum içeren çeliklerinde ortama 2 mM BA ve 2 mM IBA ilavesinin daha uygun olabileceğini tavsiye etmişlerdir.

Banilas ve Korkas, (2007), *Vitis vinifera* L. türünde yer alan asmaların *in vitro*' da yaygın olarak sürgün ucu ya da yan tomurcuğun sürmesinin teşviki yoluyla çoğaltılmakta olduğunu ve bu yöntemlerin yüksek oranda bitki çoğalma oranına sahip olduğunda ana bitkiden genetik olarak farklı bitkilerin oluşuma neden olduğunu belirtmişlerdir. Buna dayalı olarak araştırmacılar bu sorunun giderilmesi amacıyla tek bir boğumun sürmesini teşvik amacıyla bir metot geliştirmeye çalışmışlardır. Çalışmalarında Agiorgitiko üzüm çeşidi asmalarından alınan tek boğumları kültüre almışlardır. Araştırmacılar ayrıca sitokin fazlalığının sürgünün gelişimini hızlandırıp hiperhidrasyona neden olduğunu vurgulayarak nispeten daha düşük seviyelerde BA konsantrasyonunu (2.5 µM ve üstü) MS ortamına ilave etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca daha düşük IBA dozlarının, hem sürgünlerin kök oluşumunu teşvik ettiğini hem de sürgünlerdeki kök sayısını artırdığını belirlemişlerdir.

Gök Tangolar ve ark., (2008), Fercal, 1103 P, 1613 C Amerikan asma anaçlarının ve Perlette üzüm çeşidinin *in vitro* koşullarda demir stresine olan tepkisini inceledikleri çalışmalarında eksplant olarak tek boğum içeren mikro çelikleri farklı demir konsantrasyonlarında (9, 18, 36 mg/l FeNaEDTA) yalnız ya da 840 mg/l NaHCO₃ ile kombinasyon oluşturacak şekilde, 4.4 µM BA içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Araştırmada demir klorozunun göstergesi olabilecek birçok morfolojik özellikte inceleme gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan 9 mg/l FeNaEDTA ve 840 mg/l NaHCO₃ kombinasyonunun genotipik farklılığın belirlenmesinde en uygun olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Araştırmacılar, kireçli topraklarda demir noksanlığına olan genotipik tepkinin belirlenmesinde *in vitro* yöntemin kısa zaman alması ve pratik olması açısından tavsiye edilebilir bulmuşlardır.

Jaskanı ve ark., (2008), *Vitis*'in yetiştirilmesi için *in vitro* çoğaltımın bitki materyalini arttırmada fırsatlar sunduğunu vurgulamışlardır. Çalışmada kültürler, kallus oluşturması için NAA (0, 0.5, 1.0 µM) ve sürgün oluşturması için de BA (0, 5.0 ve 10.0 µM) hormonlarını MS ortamına ilave ederek *in vitro* koşullarında dikimi yapılarak muhafaza edilmiştir. En iyi eksplant sterilizasyonu % 10 kloraks'ta 10 veya 15 dakika boyunca muamele edilerek yapılmıştır. Oksidatif esmerleşme, eksplantları üç alt kültürde taze ortama alınarak etkili bir şekilde kontrol edilmiştir. 5 µM BA içeren MS ortamında daha iyi sürgün oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Araştırmada, sürgünlerin (% 80) çoğaltılması, oluşan sürgünlerin aynı ortamlarda mikro kesimlerle alt kültüre alınmasıyla sağlanmıştır. Maksimum köklenme (% 80) 10 µM IBA içeren ortamda meydana gelmiştir. En iyi kallus oluşumu (% 80) yaprak diski eksplantları 1.0 µM NAA içinde oluşurken 5 µM BA içeren ortamda kök segmentleri meydana gelmiştir. Bütün kalluslar köklenmeye başlamıştır. Yaprak disk eksplantları 2 mg/l NAA ile MS ortamında alt kültüre alınarak % 60 embriyolar gelişmiştir.

Wong, (2009), hastalıklara dayanımı yüksek olan Dogridge anacının *in vitro* mikro çoğaltımı amacıyla sürgün ucu ve boğum kültürünü denemişlerdir. Bu iki materyali değişik BA konsantrasyonları (0, 4.4 µM (1 mg/l), 8.8 µM (2 mg/l)) içeren MS ve WPM ortamlarında 12 hafta süreyle kültüre almışlardır. Boğum kültürü sürgün ucuna göre MS ortamında daha üstün sonuçlar verdiği belirlenmiştir. BA konsantrasyonları açısından ise 1 mg/l ve 2 mg/l BA dozları boğum kültüründe sürgün ucu kültürüne göre daha üstün sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Bilir Ekbiç, (2010), Trakya İlkeren ve Flame Seedless üzüm çeşitlerinde Co⁶⁰ ve kolhisin kullanılarak mutasyon ve poliploidi oluşturmayı hedefledikleri çalışmasında *in vitro* kısmında tek boğum içeren mikro çelikleri kullanmış ve bu eksplantların sürgün oluşumunu teşvik etmek amacıyla 1 mg/l BA bulunan MS ortamında kültüre almışlardır. Araştırmacı, mikro çeliklerin sürgün oluşturma oranının oldukça yüksek olduğunu ancak sürgün oluşumunun belli aşamasından sonra hiperhidrasyon olayının gerçekleştiğini saptamıştır.

Kinfe, (2010), Ugni blanc, Chenin blanc ve Canonannon çeşitlerinde sürgün uçları ve boğum kültürü yoluyla *in vitro* mikro çoğaltılmasına yönelik bir yöntem geliştirmeye çalışmıştır. Araştırmacı belirtilen çeşitlerin sürgün uçlarının optimum sterilizasyon süresini belirlemek için % 1'lik NaOH içinde değişik sürelerde (5 dakika, 7 dakika ve 9 dakika) bekletmişlerdir. Sterilizasyonu yapılan sürgün uçlarını ise 0.5 mg/l BA bulunduran MS besi ortamına dikmiştir. Araştırmacı % 1 NaOCl içeren çözeltide optimum sterilizasyon süresini 7 dakika olarak belirlemiştir. Araştırmada sürgün gelişiminin teşviki amacıyla sürgün uçları ve boğumlar beş farklı BA konsantrasyonu (0, 0.5, 1, 2, 3 ve 4 mg/l) içeren MS ortamına dikilmişlerdir. Ayrıca sürgün çoğaltılması amacıyla çalışmada farklı dozlardaki BA ve IBA kombinasyonları da

denenmiştir. Araştırmacı, optimum sürgün çoğaltılması amacıyla ise farklı dozlarda BA (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 3 ve 4 mg/l) içeren MS ortamlarını kullanmıştır. Çalışmada kök gelişiminin teşviki amacıyla ise farklı konsantrasyonda IAA (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) içeren MS ortamını kullanmıştır. Araştırmada 0.5 mg/l BA içeren ortamda en yüksek canlılık oranını Chenin Blanc çeşidinde (% 96) belirlerken bu çeşidi Ugniblanc ve Canonannon (% 88) çeşitleri takip etmiştir. Farklı konsantrasyondaki BA ve IBA kombinasyonları arasında ortalama sürgün sayısı en yüksek 7.2 (Chenin blanc), 6.7 (Canonannon) ve 6.1 (Ugni blanc)'lik değer ile 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA kombinasyonundan elde edilmiştir. Çalışmada Canonannon çeşidi dışındaki çeşitlerde BA konsantrasyonlarının artışı sürgün uzunluğu ve boğum sayısının azalmasına neden olmuştur. Araştırmacı denemede yer alan çeşitler için sürgünlerden kök oluşumu için en uygun ortamın 2 ve 4 mg/l IAA bulduran MS ortamı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada elde edilen bitkicikler seraya şaşırtılmış ve canlılık oranları Chenin blanc çeşidi için % 92; Ugni blanc için % 78.6 ve Canonannon çeşidi için ise % 73.9 olarak belirlenmiştir.

Mukherjee ve ark., (2010), kuraklığa ve tuzluluğa dayanımı yüksek olarak bilinen Grasset asma anacının *in vitro* koşullarda çoğaltılması amacıyla metot geliştirmeye çalışmışlardır. Araştırmacılar, sürgün gelişimin teşviki amacıyla MS, ½ MS, B5 ve WPM ortamlarını denemeye almışlardır. Çalışmada denenen ortamlar arasında en yüksek sürgün oluşturma oranı ½ MS ortamından sağlanmıştır. ½ MS ortamına 2 mg/l BA ilavesi ise en üstün sonuçların elde edilmesini sağladığını gözlemişlerdir. Araştırmada, aynı doz BA ilave edilmesi ile alt kültüre alınan bitkiciklerde hiperhidrasyon oluşumu gözlemlendiğinden bir sonraki alt kültüre alınma sırasında BA dozu 1 mg/l'ye düşürülmüş bu sayede tam bir bitkicik elde edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca sürgün çoğaltma üzerine değişik bitki büyümeyi düzenleyicilerini de (BA, ZEA ve TDZ) denemişlerdir. En yüksek sürgün oluşumunu 1 mg/l BA ilave edilen ½ MS ortamından elde etmişlerdir (6 haftada: 4.75 yeni bitki/eksplant). Sürgünlerden kök oluşumu üzerine ise en üstün sonuçları 0.2 mg/l IAA uygulamasından elde etmişlerdir. NAA ve IBA ise bu çalışmada yüksek oranda kallus oluşumuna neden olmuştur. Araştırmacılar dışarı şaşırtılan bitkiciklerin % 87'sinin canlı olarak kaldığını tespit etmişlerdir.

Abido ve ark., (2013), *Vitis vinifera* L. türü içinde yer alan Muscat of Alexandria üzüm çeşidinin sürgün ucu ve boğum eksplantlarını kullanmışlardır. Araştırmada eksplantların sterilizasyonu amacıyla sırasıyla eksplantlar % 0.52 ve % 0.78 (NaOCl) sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 ve 20 dakika süreyle bekletmişlerdir. Daha sonra eksplantlar 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l BAP ve 0.1 mg/l NAA katkılı MS ortamında kültüre alınmıştır. Sürgünlerin çoğaltılması için 1.0, 2.0, 3.0 ve 4.0 mg/l BAP ve 0.1, 0.2 ve 0.3 mg/l NAA dozları ve bunların kombinasyonları denenmiştir. En fazla kardeş oluşturan sürgün sayısı 3.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Köklendirme aşaması için 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/l IBA ve 0.0, 0.5 ve 1.0 mg/l NAA kombinasyonları denenmiştir. 1.0 mg/l IBA ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamdan en yüksek köklenme oranı (% 87), en fazla kök sayısı (3.4 adet) ve en uzun kök (4.5 cm) elde edilmiştir.

Bilir Ekbiç ve ark., (2015), Isabella üzüm çeşidinden alınan sürgün uçlarını eksplant olarak kullanılarak *in vitro* çoğaltımını gerçekleştirmişlerdir. Sürgün uçları, sürgün oluşturma aşamasında 0, 1, 2, 3 ve 4 mg/l dozlarında BA katkılı MS ortamında kültüre alınmıştır. Bitkiciklerin üç haftada bir ortamları değiştirilerek yeni ortamlara aktarımı yapılmıştır. Araştırmacılar bu işlemi 5 defa tekrarlamışlardır. Daha sonra 0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l IBA dozlarını içeren ortamlara alınarak bitkiciklerin kök oluşumları incelenmiştir. Sonuç olarak BA dozları arasından 1 mg/l BA içeren ortamdan 5. alt kültürde en yüksek sürgün sayısı elde edilmiştir. En yüksek köklenme oranı ve gelişimi açısından ise 2 mg/l IBA dozu içeren ortam en uygun köklendirme ortamı olarak belirlenmiştir.

Dessoky ve Attia, (2016), Arabistan'da yetiştirilen Al-Bayadi (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidinin *in vitro* çoğaltımı üzerine bir protokol geliştirmek için yaptıkları çalışmada sürgün ucu ve mikro çelik eksplantlarını kullanmışlardır. Eksplantlar, 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/l BAP katkılı MS besi ortamında kültüre alınarak eksplantların sürgün oluşturma ve uzaması incelenmiştir. Kök oluşturma aşamasında ise, farklı konsantrasyonlarda (0.0, 0.1, 1.0 ve 2.0 mg/l) IBA ve 0.1 mg/l NAA'nın etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda, en fazla sürgün oluşumu (% 90), en fazla kardeş sayısı (3.7 cm) ve eksplant başına en fazla uzayan sürgün sayısı (3.6 adet), 2.0 mg/l BAP katkılı MS ortamından elde edilmiştir. Köklendirme aşamasında

ise, 2.0 mg/l IBA+0.1 mg/l NAA katkılı MS ortamında % 100 köklenme olduğu tespit edilmiştir.

Mozafari ve ark., (2016), üç farklı üzüm çeşidinin (Bidaneh Sefid, Farkhi ve Khoshnav) çoğaltımı üzerine 0.0, 2.2, 4.4, 6.6 ve 8.8 μ M BA dozlarının MS ve WPM ortamlarının etkisini araştırmışlardır. Çoğaltma sırasında sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve yaprak sayısı özellikleri incelenmiştir. Köklendirme aşamasında ise, 0.0, 0.5 and 1.0 μ M IBA dozlarının köklenme başlangıcı, kök sayısı, köklenen eksplant sayısı ve kök uzunluğu üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, en uzun sürgün 2.2 μ M BA içeren MS ortamından elde edilirken en fazla sürgün 4.4 μ M BA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Köklendirme aşamasında en üstün sonuç 0.5 μ M IBA katkılı ortamdan elde edilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma, 2016 vejetasyon döneminde Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1 Materyal

Denemede materyal olarak Karadeniz Bölgesinde yoğun olarak yetiştirilen Kokulu üzüm grubunda yer alan Balıkçı Siyahı üzüm tipinin (*Vitis labrusca* L.) aktif büyüme dönemindeki sürgünlerinden alınan tek boğum içeren 2-3 cm uzunluğundaki mikro çelikleri kullanılmıştır. Tek boğumlu yeşil çelikler Ordu Üniversitesine bağlı araştırma ve uygulama bağında ki 2 yaşlı omcalardan Mayıs ayı ortasında temin edilmiştir. Denemede eksplant olarak kullanılan çeşidin genel özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1 Balıkçı Siyahı (*Vitis labrusca* L.)

Vitis labrusca L. türüne giren üzüm tip ve çeşitleri yabancı tozlanma ve döllenmeye açık olduğundan Balıkçı Siyahı üzüm tipi doğal melezlemer sonucunda ortaya çıkmıştır (Çelik, 2004b). Balıkçı Siyahı üzüm tipi, *Rhamnales* takımı, *Vitaceae* familyası, *Vitoideae* alt familyası içinde yer alıp *Vitis* cinsine girmekte ve Amerikan kökenli türler arasında yer almaktadır (Çelik, 2007). Kokulu üzümler ülkemizde Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak yetişmektedir (Çelik, 2002).

Kokulu üzümlerin tiplerinden Balıkçı Siyahı üzüm tipinin taneleri yuvarlak şekilli, parlak-siyah renkte ve yoğun bir pus tabakası ile örtülüdür, taneleri küçük veya orta büyüklükte, dış kabuğu oldukça kalın olup içerisinde ortalama 1-5 adet çekirdek bulundurmaktadır. Dallı silindirik formdaki salkımları ise küçük ve oldukça dolgun yapılıdır. Bu üzüm çeşidinin tadı ise çilek aromalıdır (Çelik, 2006). Hastalık ve zararlılara karşı dayanımı oldukça yüksektir (Rubezhnyak ve ark., 1996; Çelik, 2004a; Çelik 2004b; Kulakiotu ve ark., 2004; Cangı ve ark., 2006a; Cangı, 2006b; Atak, 2017; Atak ve ark., 2017) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Denemede kullanılan Balıkcı Siyahı üzüm tipinin asma ve mikro çelik görünümü

3.2 Yöntem

Çalışma Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Uygulama ve Araştırma bağında yer alan açıkta yetişen *Vitis labrusca* türüne ait Kokulu üzüm tiplerinden Balıkcı Siyahı üzüm tipinin aktif büyüme dönemindeki sürgünlerinden alınan tek boğum içeren 2-3 cm uzunluğundaki mikro çelikleri kullanılmış ve aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanmıştır.

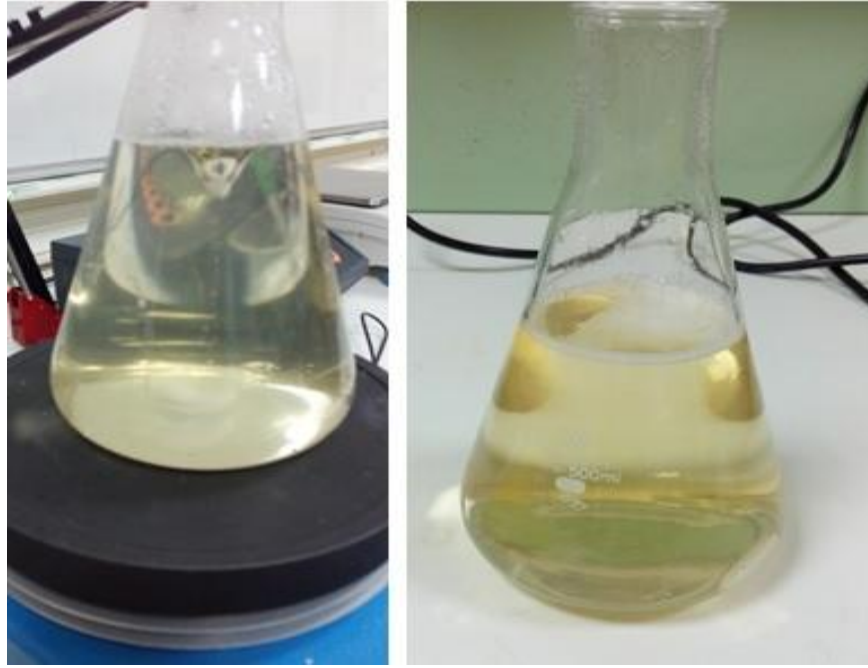
3.2.1 Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

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

3.2.2 Besin Ortamının Hazırlanması

Çalışmada tek boğumlu mikro çeliklerin sürmesini teşvik etmek amacıyla MS besin ortamına (Murashige ve Skoog, 1962) ait makro ve mikro besin elementleri, vitaminleri ve büyüme düzenleyici olarak da farklı dozlarda BA (0, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l ile 4 mg/l) kullanılmıştır. Oluşan sürgünlerin köklendirme aşaması için ise aynı miktarda makro ve mikro elementler ile vitaminleri içeren aynı besin ortamı içine büyüme düzenleyici olarak farklı dozlarda IBA (0, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l ile 4 mg/l) ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1’de içeriği belirtilmiş MS besin ortamı hazırlanırken tüm kimyasallar alınıp saf su ile hacim tamamlama işlemi yapılmış ve pH düzeyi 1 N HCl asit ve 1 N KOH kullanılarak 5.8’ e ayarlanmıştır. Son olarak da katılaştırıcı olarak ortama agar ilave edilmiş ve kaynatılmıştır (Şekil 3.2). Ortamın kaynamasının sağlanıp şeffaflaşması sonrasında deney tüplerine yaklaşık 10 ml olacak şekilde eşit miktarda dağıtılmış ve tüplerin kapakları kapatılmıştır. Hazırlanan ortamların sterilizasyonları 1.05 atm basınç altında ve 121 °C’de ki otoklavda 15 dakika tutularak sağlanmıştır (Şekil 3.3). Sterilizasyonları gerçekleştirilen ortamlar sonrasında steril kabin içine transfer edilmiştir.



Şekil 3.2 Ortamların hazırlanmasından 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 ₂ O	440
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
KH ₂ PO ₄	170
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Mikro Elementler (x 100)	
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
H ₃ BO ₃	6.2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
KI	0.83
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Vitaminler (x 100)	
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Büyüme Düzenleyiciler	
IBA (İndol butirik asit)	0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l ile 4 mg/l
BA (Benzil adenin)	0 mg/l, 0.5 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l ile 4 mg/l
Organik Maddeler	
Myo-Inositol	100
Sukroz (g/l)	30
Agar (g/l)	8
pH	5.8



Şekil 3.3 Hazırlanan ortamların otoklavda sterilizasyon görünümü

3.2.3 Bitki Materyalinin Hazırlığı ve Kültüre Alınması

Balıkçı Siyahı üzüm tipinden *in vitro* koşullarda sürgün elde edilmesi amacıyla aktif vejetasyon döneminde (yaklaşık Mayıs Ayı ortasında) genç sürgünlerin uç kısımlarındaki boğumlar kullanılmıştır. Bu amaca yönelik olarak alınan sürgün parçaları doku kültürü laboratuvarına getirilmiş ve sterilizasyonun daha etkin olması amacıyla yaprak kısımları çıkartıldıktan sonra tek boğumlu mikro çelikler olarak hazırlanmıştır.

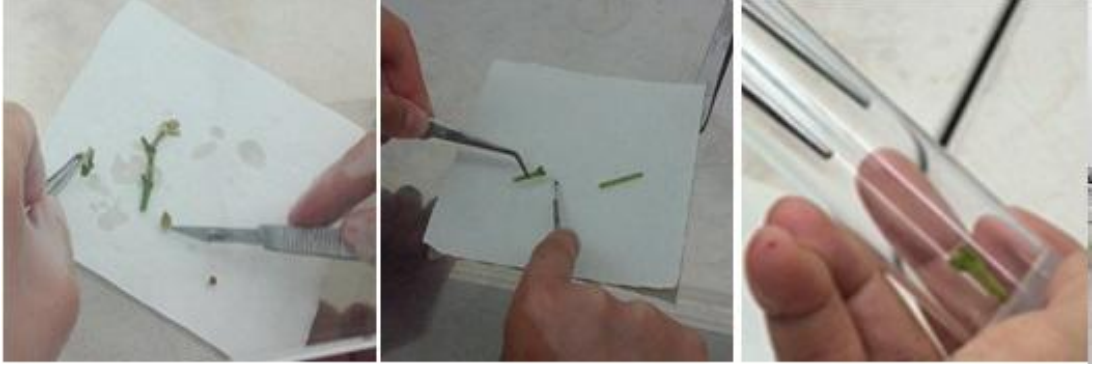
Bitki kaynaklı enfeksiyonların azaltılması amacıyla yüzey sterilizasyonu için farklı doz ve sürelerde ön deneme gerçekleştirilmiştir. Bunun için tek boğumlu mikroçelikler 1) % 20 sodyum hipoklorid içinde 10 dakika, 2.) % 20 sodyum hipoklorid içinde 15 dakika, 3.) % 20 sodyum hipoklorid içinde 20 dakika, 4.) % 15 sodyum hipoklorid içinde 10 dakika, 5.) % 15 sodyum hipoklorid içinde 15 dakika, 6.) % 15 sodyum hipoklorid içinde 20 dakika tutulmuştur.

Ön deneme sonucunda, % 15 sodyum hipoklorid dozunun tüm süreleri ile % 20 sodyum hipoklorid içinde 10 dakika tutulan bitkilerde yüksek miktarda enfeksiyon saptanmıştır. Ayrıca, % 20 sodyum hipoklorid dozunda 20 dakika süre ile bekletilen mikro çeliklerde kararma gözlenmiştir. Bu yüzden mikro çelikler, en uygun uygulama olan % 20 sodyum hipoklorid ve 1-2 damla Tween 20 bulunduran çözelti içinde 15 dakika tutularak yüzey sterilizasyonları sağlanmış ve ardından steril kabin içinde steril saf su ile 3 defa çalkalanmıştır (Şekil 3.4).



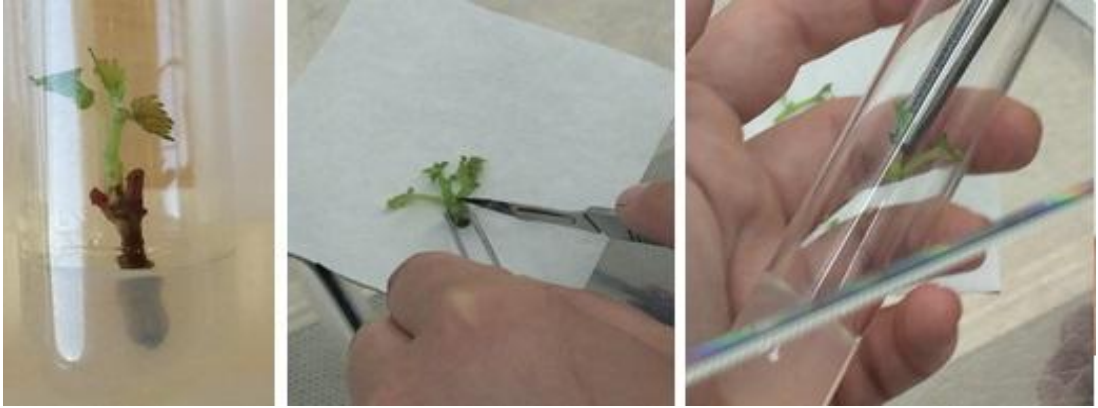
Şekil 3.4 Mikro çeliklerin yüzey sterilizasyonuna ait görünüm

Sterilizasyonu yapılan mikro çelikler, boğumun hemen üstünden ve altta yaklaşık 1.5 cm kalacak şekilde kesilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan eksplantlar steril kabin içinde farklı dozlarda BA ilave edilmiş MS besin ortamlarına dikilmiştir (Şekil 3.5). Sterilizasyonu tamamlanan eksplantlar (başlangıç eksplantları) 2-3 cm uzunluğunda kesilerek (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) BA içeren MS ortamlarına dik olarak yerleştirilmiştir. Daha sonra tüplerin kapakları kapatılarak ağızları streç film ile sarılmıştır.



Şekil 3.5 Eksplantların kültüre alınmasından görünüm

Yaklaşık 2 hafta sonrasında eksplantlarda yer alan boğumun sürmesiyle oluşan sürgünlerin köklendirilmesi için sürgünler eksplantlardan kesilip çıkartılmıştır. Sürgünler sonrasında aynı MS ortamından BA çıkarılarak, IBA'nın 0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l konsantrasyonlarını içeren besin ortamına transfer edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Eksplantlardan oluşan sürgünlerin köklendirme ortamlarına transferleri

3.2.4 Kültür Koşulları

Dikim işlemi tamamlanan bitkiler, sıcaklığı 25 ± 2 °C, fotoperiyodu 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde ve ışıklanması 3000-4000 lüks şiddetinde olan beyaz floresan lambaların yer aldığı büyütme odalarında tutulmuştur.

3.3 İncelenen Özellikler

Eksplantlardan sürgün oluşumu ve sonrasında oluşan sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla oluşturulan deneme kapsamında iki farklı grup altında bazı özellikler incelenmiştir.

3.3.1 Eksplantlardan Sürgün Oluşumu Safhasında İncelenen Özellikler

3.3.1.1 Eksplant Canlılığı (%)

Farklı dozlarda BA ilaveli MS ortamına dikimi yapılan eksplantlardan canlı kalan sürgünlerin sayısı toplam sürgün sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuş ve ‘%’ ile gösterilmiştir. % değerler açı transformasyon değerine çevrilmiştir.

3.3.1.2 Gözlerin Uyanma Süresi (Gün)

Farklı konsantrasyonlardaki BA katkılı MS ortamına dikilen eksplantların dikimi ile boğumda yer alan gözden yeşil organın görüldüğü zamana kadar geçen süre uyanma süresi olarak belirlenmiştir (Anonim, 1997).

3.3.1.3 Gözlerin Sürme Süresi (Gün)

Eksplantın farklı dozlarda BA ilave edilen MS besi ortamına dikimi ile boğumda bulunan gözün uyandıktan sonra 1-2 boğumlu sürgün oluşturmasına kadar geçen süre olarak tespit edilmiştir (Bilir Ekbiç, 2010).

3.3.2 Eksplantlardan Oluşan Sürgünlerin Köklendirme Safhası Kapsamında İncelenen Özellikler

3.3.2.1 Boğum Sayısı (n)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin taşıdığı boğumun sayılmasıyla belirlenmiştir.

3.3.2.2 Yaprak Sayısı (n)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin taşıdığı yaprağın sayılmasıyla belirlenmiştir.

3.3.2.3 Sürgün Uzunluğu (cm)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin oluşturduğu sürgünün uzunluğunun cetvel yardımıyla ölçülmesiyle belirlenmiştir.

3.3.2.4 Sürgün Yaş Ağırlığı (g)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin oluşturduğu sürgünlerin yaş ağırlıklarının ± 0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla gram cinsinden belirlenmiştir.

3.3.2.5 Sürgün Kuru Ağırlığı (g)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin oluşturduğu sürgünler, 65 °C'lik etüvde 72 saat tutulup kuruması sonrası ± 0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla tartılmış ve sürgün kuru ağırlıkları gram cinsinden belirlenmiştir.

3.3.2.6 Köklenen Eksplant Oranı (%)

Bu oran farklı IBA konsantrasyonlarını içeren MS besi ortamında kök oluşturan eksplant sayısının toplam dikilen eksplant sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuştur. % değerler açı transformasyon değerine çevrilmiştir.

3.3.2.7 İlk Köklenme Süresi (gün)

Farklı IBA konsantrasyonları ilave edilen MS besi ortamına köklenmeleri amacıyla dikilen sürgünlerin dikimini takiben ilk köklenmenin görüldüğü zamana kadar geçen süre olarak kaydedilmiştir (Tangolar ve ark., 1995).

3.3.2.8 Kök Sayısı (n)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin oluşturduğu köklerin sayılmasıyla belirlenmiştir.

3.3.2.9 Kök Uzunluğu (cm)

Bu özellik köklü bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında her bir bitkiciğin oluşturduğu köklerin uzunluklarının cetvel yardımıyla ölçülmesiyle belirlenmiştir.

3.3.2.10 Kök Yaş Ağırlığı (g)

Bu özellik bitkiciklerin ortamdan çıkarılması esnasında kök oluşturanlarında köklerin sürgünden ayrılması ve sonrasında yaş ağırlıklarının ± 0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla gram cinsinden belirlenmesiyle elde edilmiştir.

3.3.2.11 Kök Kuru Ağırlığı (g)

Yaş ağırlıkları ölçülen köklerin 65 °C'ye ayarlanmış etüvde 72 saat tutulup kurutulması sonrasında ± 0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımıyla gram cinsinden kök kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

3.4 İstatiksel Analiz

Çalışma 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 15'er eksplant olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme desenine göre düzenlenmiştir. Farklı grupların tespiti, % 5 önem seviyesinde LSD testinden yararlanılarak JMP 10.0 istatistiki paket programında gerçekleştirilmiştir. Yüzde (%) olarak ifade edilen değerlerin istatistiki analizinde ise % değerleri açı transformasyon ($\arcsin\sqrt{x}$) değerine çevrilmiş ve sonrasında istatistiki açıdan değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Eksplantlardan Sürgün Oluşturma Denemesi Bulguları

4.1.1 Gözlerin Uyanma Süresi (Gün)

Balıkçı siyahı üzüm tipinin tek boğumlu eksplantlarına farklı dozlarda uygulanan BA dozlarının gözlerin uyanma süresi üzerine etkisi Çizelge 4.1’de verilmiştir. Farklı BA dozlarının gözlerin uyanma süresine olan etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Eksplantlarda en erken uyanma, dikimden 10 gün sonrasında 1 mg/l BA uygulamasından elde edilmiştir. En geç uyanma ise 2 mg/l BA (15 gün) uygulamasında gözlenmiştir (Şekil 4.1).

4.1.2 Gözlerin Sürme Süresi (Gün)

Boğumların sürme süresi üzerine farklı dozlarda uygulanan BA’in etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Balıkçı siyahı üzüm tipinde en erken sürme, 0.5 mg/l BA (24 gün) uygulamasında; en geç sürme ise 4 mg/l BA (28 gün) uygulaması yapılan eksplantlarda tespit edilmiştir.

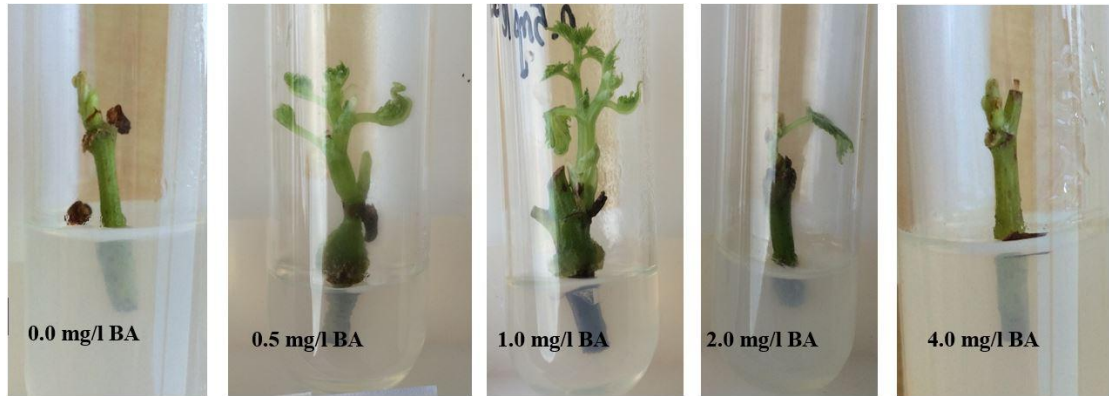
4.1.3 Eksplant Canlılık Oranı (%)

Farklı dozlarda BA uygulamasının denemede kullanılan tipin bitki canlılığı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Çizelge 4.1 incelendiğinde en yüksek canlılık oranı % 77’ lik oranla 1 mg/l BA ve % 66.1’lik oranla 0.5 mg/l BA uygulamasında belirlenirken en düşük eksplant canlılığı ise % 30’luk oranla 4 mg/l BA uygulamasında tespit edilmiştir. Kinfe, (2010), Ugni blanc, Chenin blanc ve Canonannon çeşitlerinde yaptıkları araştırmada, 0.5 mg/l BA içeren MS ortamında en yüksek canlılık oranını (% 96) belirlemiştir. Chee ve ark., (1984)’da çalışmalarında en yüksek canlılık oranını 0.5 mg/l BA uygulamasından elde etmişlerdir. Bu çalışmanın eksplant canlılık oranı sonuçları 0.5 mg/l BA uygulamasıyla da yüksek oranda eksplant canlılığı elde edilmesi bakımından belirtilen araştırma sonuçlarıyla desteklenmektedir. Bu çalışmada ayrıca 2 ve 4 mg/l BA ilave edilen ortamlarda belirlenen daha düşük orandaki canlılık, eksplantlardaki boğumdan sürgün oluşmaması ve sonrasında eksplantların belli bir süre sonrasında kuruması veya 4 mg/l BA dozunun bazı bitkilerde hiperhidrasyona yol açmasından kaynaklanmıştır.

Çalışmamızda 4 mg/l BA kullanımıyla yani yüksek BA dozlarındaki yüksek orandaki bitki ölümleri Harris ve Stevenson, (1982)'in *Vitis vinifera* türü içinde yer alan Sylvaner Riesling ve Concord üzüm çeşitlerinde ve Lee ve Wetzstein, (1990)'in Summit (*Vitis rotundifolia*) üzüm çeşidinde yapmış oldukları çalışma sonuçlarında da belirtilmiştir. Norton ve Skirvin, (2001)'in Norton şaraplık üzüm çeşidinde yaptıkları çalışmada ise sürgün gelişimi açısından 1.8 mg/l BA dozunun daha etkili olduğunu saptamışlardır. Çalışmamız bu açıdan bu araştırmacıların sonuçlarıyla desteklenmemekte ve çeşit farklılığının da BA dozunun belirlenmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

Çizelge 4.1 Farklı BA (Benzil Adenin) Dozlarının Gözlerin Uyanma Süresi, Gözlerin Sürme Süresi ve Eksplant Canlılığı Üzerine Etkisi

BA Dozları	Patlama Süresi (Gün)	Sürme Süresi (Gün)	Eksplant Canlılık Oranı (%)
0	14 bc	26 abc	54.8 c
0.5 mg/l	13 b	24 a	66.1 b
1 mg/l	10 a	25 ab	77.7 a
2 mg/l	15 c	27 bc	54.8 c
4 mg/l	14 bc	28 c	30.0 d
LSD % 5	1	2	10.2



Şekil 4.1 Eksplantların farklı dozdaki BA içeren MS ortamındaki gelişimleri

4.2 Eksplantlardan Oluşan Sürgünlerin Köklendirme Safhası Bulguları

4.2.1 Farklı IBA Dozlarının Sürgün Gelişimi Üzerine Etkileri

4.2.1.1 Boğum Sayısı (Adet)

Farklı dozlarda IBA uygulamasının Balıkcı Siyahı üzüm tipinin boğum sayısı üzerine etkisi incelendiğinde uygulamaların boğum sayısı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). En çok boğumun 2 mg/l IBA dozunda (7 adet) olduğu tespit edilmiştir. 1 mg/l IBA (6 adet) ve 0.5 mg/l IBA (5 adet) dozları da aynı istatistiki grupta yer alarak bu uygulamayı takip etmiştir. En az boğum sayısı ise 4 mg/l IBA (3 adet) uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Bilir Ekbiç ve ark. (2015)'nin Isabella (*V. Labrusca*) üzüm çeşidinde, Verghese ve Smita, (2004)'nin 6 farklı üzüm çeşitlerinde (Black Champa, Arka Neelamani, Anab-e Shahi, Shweta Seedless ve Arka Krishna) farklı dozlardaki IBA uygulamalarının bitkiciklerin sürgün gelişimi üzerine etkisini belirledikleri araştırmalarda 2 mg/l IBA dozunun bulunduğu ortamdaki bitkiciklerde en üstün sürgün gelişimi ve dolayısıyla yüksek sayıda boğum oluştuğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar bu araştırmalarla desteklenmektedir.

4.2.1.2 Yaprak sayısı (Adet)

Çalışmamızda farklı dozlarda uygulanan IBA'in yaprak sayısı üzerine olan etkisi açısından en iyi sonuç 2 mg/l IBA (7 adet) uygulamasından elde edilmiştir. Uygulamalar arasında 0.5 ve 1 mg/l IBA doz uygulamaları 6 adet yaprakla aynı istatistiki grup içinde yer almıştır. En az yaprak sayısı ise aynı grup içinde yer alan kontrol (4 adet) ve 4 mg/l IBA (3 adet) uygulamalarında belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Verghese ve Smita, (2004) ve Bilir Ekbiç ve ark., (2015), farklı dozlarda IBA uygulamalarının sürgün gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri çalışma sonuçlarında 2 mg/l IBA dozundan en iyi sürgün gelişimi ve en fazla yaprak sayısı elde etmişlerdir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar bu araştırcıların sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir.

4.2.1.3 Sürgün Uzunluğu (cm)

Farklı dozlardaki IBA uygulamalarının sürgün uzunluğu üzerine etkisi Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde farklı IBA dozlarının sürgün gelişiminde istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır. En yüksek sürgün uzunluğu

2 mg/l IBA (3.29 cm); en düşük sürgün uzunluğu ise 4 mg/l IBA (1.44 cm) uygulamalarından elde edilmiştir. Bu uygulamaları aynı istatistiki grup içinde yer alan 2.54 cm sürgün uzunluğu ile 1 mg/l IBA ve 2.32 cm sürgün uzunluğu ile 0.5 mg/l IBA uygulamaları izlemiştir. 4 mg/l IBA (1.44 cm) ve kontrol grubundan (1.30 cm) en düşük sürgün uzunluğu değerleri saptanmıştır.

Verghese ve Smita, (2004)'nın 6 farklı üzüm çeşidinde yaptığı çalışmada en üstün sürgün gelişimini 2 mg/l IBA uygulanmış bitkiciklerde elde etmişlerdir. Bilir Ekbiç ve ark., (2015)'da Isabella üzüm çeşidi için farklı dozlarda IBA uygulamalarının sürgün gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri araştırmalarında, 3.17 cm ile en uzun sürgünü 2 mg/l IBA içeren MS ortamından elde etmişlerdir. Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında çalışmamızdan elde edilen sürgün uzunluğu sonuçları bu çalışma sonuçlarıyla örtüşmektedir.

4.2.1.4 Sürgün Yaş Ağırlığı (g) ve Sürgün Kuru Ağırlığı (g)

Farklı dozlardaki IBA uygulamaları sürgün yaş ve sürgün kuru ağırlığı bakımından istatistiki açıdan önemli etki göstermiştir (Çizelge 4.2). Artan doz uygulamalarıyla birlikte 0.5, 1 ve 2 mg/l IBA' uygulamalarına kadar sürgün yaş ve kuru ağırlığında artış olduğu gözlemlenmiş ve en yüksek sürgün yaş ve sürgün kuru ağırlığı 2 mg/l IBA uygulamasında (0.233 g, 0.022 g, sırasıyla) olduğu tespit edilmiştir. Artan doz uygulamalarıyla birlikte sürgün yaş ve kuru ağırlıklarındaki artış 4 mg/l IBA uygulaması ve kontrol uygulamalarıyla gerileyerek en düşük değerlerin elde edilmesini sağlamıştır.

Çizelge 4.2 Farklı IBA Dozlarının Bitkilerin Sürgün Gelişim Parametreleri Üzerine Etkisi

IBA Dozları	Boğum Sayısı (Adet)	Yaprak Sayısı (Adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Sürgün Yaş Ağırlığı (g)	Sürgün Kuru Ağırlığı (g)
0	4 bc	4 b	1.30 c	0.064 e	0.005 c
0.5 mg/l	5 abc	6 a	2.32 b	0.140 c	0.010 b
1 mg/l	6 ab	6 a	2.54 b	0.166 b	0.012 b
2 mg/l	7 a	7 a	3.29 a	0.233 a	0.022 a
4 mg/l	3 c	3 b	1.44 c	0.104 d	0.006 c
LSD % 5	2	1	0.54	0.023	0.002

Vergheze ve Smita, (2004) ve Bilir Ekbiç ve ark., (2015)'in çalışmalarında da en iyi sürgün gelişimi 2 mg/l IBA katkılı MS besi ortamından elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu araştırmacıların sonuçlarıyla da desteklenmektedir.

4.2.2 Farklı IBA Dozlarının Kök Gelişimi Üzerine Etkileri

4.2.2.1 Köklenen Eksplant Oranı (%)

Denemede kullanılan Balıkçı Siyahı üzüm tipinde köklenme oranı üzerine farklı IBA dozlarının etkisi incelendiğinde en yüksek köklenme oranının % 77.8 ile 1 mg/l IBA uygulamasında elde edildiği görülmüştür. Bunu takiben 0.5 mg/l ve 4 mg/l IBA uygulamasında % 71.6 ve 2 mg/l IBA uygulamasında ise % 61.2 oranında köklenme olmuştur. Uygulamalar arasında 0.5 mg/l BA, 1 mg/l BA ve 4 mg/l BA dozlarının aynı istatistikî grup içinde yer aldığı da belirlenmiştir. Ayrıca Kontrol grubunda hiç köklenme olmadığının görülmesiyle IBA'nın köklenme üzerine belirgin etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Çelik ve ark., (1988), Kalecik Karası üzüm çeşidi ve 41B Amerikan asma anacının meristem kültürü ile çoğaltımı üzerine yaptıkları araştırmada, en iyi köklenmeyi 1.0 mg/l IBA içerikli MS ortamından elde etmişlerdir. Batur, (1989), Kalecik Karası üzüm çeşidi ile 41 B MG anacının meristem kültürü ile çoğaltılmasında en uygun OksinxSitokin kombinasyonlarının belirlenmesine yönelik yaptığı araştırmasında, 5.0 mg/l IBA x 0.0 mg/l BAP kombinasyonundan en iyi köklenme sonucunu elde etmiştir. Lewandowski, (1991), farklı dozlarda IBA ve NAA kombinasyonları ile yapmış olduğu çalışmasında en iyi köklenmeyi 0.001 mg/l NAA ve 0.005 mg/l IBA katkılı ortamdan sağlamıştır. Heloir ve ark. (1997), Pinot noir üzüm çeşidinin meristem kültürü yoluyla çoğaltılması

üzerine yaptığı araştırmasında, 2.5 µM'lık IBA katkılı ortamın köklendirme için etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Bilir Ekbiç ve ark., (2015), farklı dozlarda IBA konsantrasyonunu kullandığı çalışmasında, en yüksek köklenmenin % 71.4' lük değerle 2 mg/l IBA ilaveli ortamdan elde etmişlerdir. Elde edilen bu çalışma sonucu, araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalarla değil ancak, Çelik ve ark., (1988) tarafından desteklenmektedir.

4.2.2.2 Köklenme Süresi (Gün)

Yapılan bu çalışmada farklı dozlardaki IBA' nın köklenme süresine etkisi incelendiğinde en kısa sürede köklenme 15 gün ile 0.5 mg/l IBA uygulamasından en geç köklenme ise 4 mg/l BA uygulamasından sağlanmıştır. 1 mg/l IBA (18 gün), 2 mg/l IBA (20 gün) uygulamaları ise aynı istatistiki grup içinde yer alarak erken köklenme açısından 0.5 mg/l uygulamasını takip etmiştir. Kontrol uygulaması olan bitkilerde ise hiç köklenme meydana gelmediği için de süreye bakılamamıştır. Mozafari ve ark., (2016), asmanın rejenerasyonu üzerine yapmış oldukları çalışmada, farklı IBA dozlarının köklenme üzerine etkisi incelendiğinde 0.5 µM IBA katkılı MS ortamında kültüre alınan bitkiciklerin dikimden 12 gün sonra köklenmeye başladığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise bitkiciklerin dikimden 15 gün sonra köklenmeye başladığı gözlemlenmiş olup, araştırmacının çalışmasıyla hemen hemen paralellik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

4.2.2.3 Kök Sayısı (Adet)

Çizelge 4.3 incelendiğinde farklı dozlardaki IBA'nın kök sayısı üzerine istatistiki olarak belirgin bir etkisinin olduğu görülmektedir. Uygulama sonucu en fazla kök 2 mg/l IBA uygulamasının bitkiciklerinde 11 adet olarak belirlenmiştir. 1 mg/l IBA, 2 mg/l IBA ve 4 mg/l IBA uygulamaları arasında kök sayısı bakımından önemli farklılık görülmemişken Kontrol uygulamasında köklenme olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 2). Lewandowski, (1991), farklı IBA ve NAA dozlarının köklenme üzerine etkisinin incelendiği çalışmasında, 0.01 mg/l NAA 0.05 mg/l IBA kombinasyonunun olduğu ortamdan en fazla kök sayısı elde etmişlerdir. Singh ve ark., (1992),' nın farklı konsantrasyonlarda IBA dozlarının Perlette üzüm çeşidinin köklenme üzerine etkilerinin inceledikleri çalışmasında, 10 µM IBA ilave edilmiş MS ortamından en fazla kök elde edildiğini belirtmişlerdir. Banilas ve Korkas, (2007), *Vitis vinifera* L. türünde yer alan asmalarının çoğaltılması üzerine yaptığı çalışmasında, düşük IBA

dozlarının kök sayısını arttırdığı belirlemişlerdir. Bilir Ekbiç ve ark., (2015), farklı IBA dozlarının kök sayısı üzerine etkilerini incelediği çalışmada, en fazla kök olan bitkiciklerin 2 mg/l IBA katkılı ortamda gözlemişlerdir. Dessoky ve Attia, (2016), Al-Bayadi (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidinde yapmış oldukları araştırmasında 2 mg/l IBA + 0.1 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamında olan bitkiciklerden en fazla kök oluştuğunu belirlemişlerdir. Arifuzzaman ve ark., (2016), *Vitis Vinifera* L.'de bulunan üzüm tipinin mikroçoğaltımı üzerine yaptıkları çalışmada, 0.5 mg/l NAA + 1.0 mg/l IBA kombinasyonunun bulunduğu MS ortamından en fazla kök elde etmişlerdir. Mozafari ve ark., (2016), *Vitis vinifera* L. türünde yer alan üç farklı üzüm çeşidinin *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine yaptığı çalışmada, 1 µM IBA katkılı ortamdaki bitkiciklerden en fazla kök oluştuğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılarından Bilir Ekbiç ve ark., (2015)' nin sürgün ucu kültürü amacıyla yapmış oldukları çalışması bizim çalışmamızla benzerlik gösterdiğinden çalışmamızı destekler nitelikte bulunmuştur.

4.2.2.4 Kök uzunluğu (cm)

Farklı IBA dozlarının bitkiciklerin kök uzunluğuna olan etkisi Çizelge 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde en uzun kök 2 mg/l IBA uygulamasında ve 1.25 cm olarak ölçülmüştür. 4 mg/l IBA uygulamasında 0.90 cm kök uzunluğu tespit edilirken 0.5 mg/l ve 1 mg/l IBA uygulamasında kök uzunluğu aynı istatitiki grup içinde yer almıştır. Kontrol uygulamasında köklenme olmadığından dolayı ölçüm yapılamamıştır (Şekil 4). Kara, (1992), Çavuş'un 21. Müşküle'nin 62. Hafızali'nin 7. Razaki'nin 14 ve 88. Sultani çekirdeksizin 7 ve 23 ve Çal Karası'nın 36 no'lu klonlarını materyal olarak kullandığı çalışmada, köklenme aşamasında 0.03 mg/l BAP ve 0.01 mg/l NAA katkılı Linsmaier ve Skoog (1965)'e göre değiştirilmiş MS ortamında 6.333 cm kök uzunluğu elde etmiştir. Singh ve ark., (1992), Perlette üzüm çeşidinden alınan eksplantlarla yapmış oldukları çalışmada, köklenme aşaması için farklı konsantrasyonlarda IBA uyguladığı bitkiciklerden en uzun kök 10 µM IBA katkılı MS ortamından elde edilmiştir. Abido ve ark., (2013), Muscat of Alexandria (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidinin *in vitro*'da çoğaltılması üzerine yaptıkları çalışmada, sürgünlerin köklenmesi için farklı kombinasyonda IBA ve NAA kullanmış olup, kök uzunluğunda en yüksek değeri 1.0 mg/l IBA + 0.5 mg/l NAA uygulamasından elde etmişlerdir. Bilir Ekbiç ve ark., (2015), Isabella (*Vitis labrusca*

L.) üzüm çeşidinin *in vitro* sürgün ucu yöntemiyle çoğaltılması üzerine yaptıkları çalışmada, köklendirme aşamasında en uzun kökü 1.76 cm ile 2 mg/l IBA katkılı MS ortamından elde etmişlerdir. Mozafari ve ark., (2016), 'Bidaneh Sefid', 'Farkhi' ve 'Khoshnav' üzüm çeşitlerini kullandığı çalışmasında, köklenme için farklı konsantrasyonlarda kullandıkları IBA dozlarından en uzun kökü 0.5 µM IBA katkılı ortamdan elde etmişlerdir. Arifuzzaman ve ark., (2016), yapmış oldukları çalışmada, köklendirme için farklı oksin hormonlarını farklı kombinasyonlarda denemişlerdir. Deneme sonucuna göre 0.5 mg/l NAA + 1.0 mg/l IBA ilaveli MS ortamında bulunan bitkiciklerden en uzun kök elde etmişlerdir. Bu açıdan çalışmadan elde edilen sonuçlar Bilir Ekbiç ve ark., (2015)' nin çalışma sonuçlarıyla desteklenmektedir.

4.2.2.5 Kök Yaş Ağırlığı (g) ve Kök Kuru Ağırlığı (g)

Farklı dozlarda IBA uygulamasının bitkiciklerin kök yaş ve kök kuru ağırlığı üzerine etkisinin belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3).

Kök yaş ağırlığı bakımından en yüksek değer 2 mg/l IBA uygulamasında 0.073 g olarak belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında köklenme olmadığı göz önüne alınarak en düşük ise 0.5 mg/l IBA uygulamasında 0.021 g olarak ölçülmüştür. Buna göre Çizelge 4.3 incelendiğinde 1 mg/l IBA ve 4 mg/l IBA uygulamalarının aynı istatistiki grupta yer aldığı görülmektedir.

Kök kuru ağırlığı üzerine etkisi incelendiğinde en yüksek değer 2 mg/l IBA uygulamasında 0.004 g olarak ölçülmüştür. Buna eşdeğer olarak 1 mg/l IBA ve 4 mg/l IBA uygulamaları istatistiki açıdan aynı grupta yer alırken 0.5 mg/l IBA uygulamasında da önemli farklılık görülmemiştir. Kontrol uygulamasında kök oluşumu meydana gelmediğinden bir sonuç alınamamıştır.

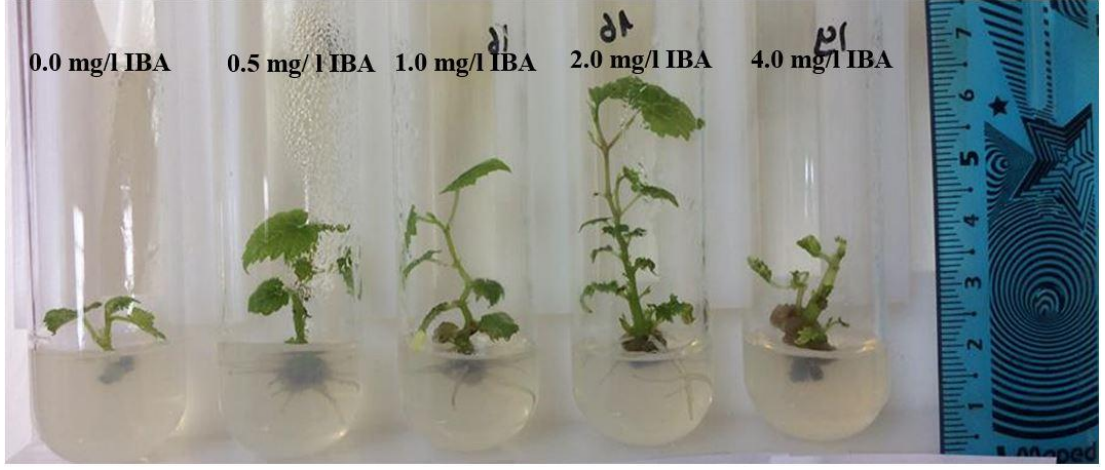
Asma'da kök ağırlıkları üzerine bir çalışma olmamasından dolayı kök yaş ve kök kuru ağırlıkları sonuçları, diğer kök gelişim parametreleri baz alınarak değerlendirilmiştir. Gray ve Benton, (1991), yapmış oldukları çalışmasında, köklenme aşamasında 1 µM NAA katkılı ortamdaki bitkiciklerden en uzun kök elde etmişlerdir. Singh ve ark., (1992), farklı konsantrasyonlarda IBA dozlarının Perlette üzüm çeşidinin köklenme üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, 10 µM IBA ilave edilmiş MS ortamından en fazla kök ve en uzun kök elde edildiğini belirtmişlerdir. Banilas ve Korkas, (2007), *Vitis vinifera* L. türünde yer alan asmalarının çoğaltılması

üzerine yaptığı çalışmasında, düşük IBA dozlarının kök sayısını arttırdığı belirlenmiştir. Abido ve ark., (2013), sürgünlerin köklenmesi için farklı kombinasyonda IBA ve NAA kullanmış olup, kök uzunluğunda en yüksek değeri 1.0 mg/l IBA + 0.5 mg/l NAA uygulamasından elde etmişlerdir. Bilir Ekbiç ve ark., (2015), farklı IBA dozlarının kök sayısı üzerine etkilerini incelediği çalışmasında, en fazla ve en uzun kök sayısına sahip olan bitkicikleri 2 mg/l IBA katkılı ortamdan elde edildiğini belirtmişlerdir. Dessoky ve Attia, (2016), Al-Bayadi (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidinde yapmış oldukları araştırmasında 2 mg/l IBA + 0.1 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamında olan bitkiciklerden en fazla kök oluştuğunu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı IBA Dozlarının Bitkiciklerin Kök Gelişim Parametreleri Üzerine Etkisi

IBA Dozları	Köklenme Oranı (%)	Köklenme Süresi (Gün)	Kök Sayısı (cm)	Kök Uzunluğu (cm)	Kök Yaş Ağırlığı (g)	Kök Kuru Ağırlığı (g)
0 mg/l	0.0 c	-	0 c	0.00 c	0.000 d	0.000 c
0.5 mg/l	71.6 a	15 a	6 b	0.73 b	0.021 c	0.001 bc
1 mg/l	77.8 a	18 b	6 b	0.75 b	0.048 b	0.002 b
2 mg/l	61.2 b	20 b	11 a	1.25 a	0.073 a	0.004 a
4 mg/l	71.6 a	23 c	7 b	0.90 b	0.039 b	0.002 b
LSD %5	9.2	2	2	0.21	0.014	0.001

Arifuzzaman ve ark., (2016), *Vitis vinifera* L. çeşidinde yer alan üzüm tipinin mikroçoğaltımı üzerine yaptıkları çalışmada, 0.5 mg/l NAA + 1.0 mg/l IBA kombinasyonunun bulunduğu MS ortamından en fazla kök ve en uzun kök elde etmişlerdir. Mozafarı ve ark., (2016), *Vitis vinifera* L. türünde yer alan üç farklı üzüm çeşidinin *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine yaptığı çalışmasında, 1 µM IBA katkılı ortamdaki bitkiciklerde en fazla kök oluşurken, en fazla kök sayısı 0.5 µM IBA katkılı ortamdan elde edildiğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalara göre, Bilir Ekbiç ve ark., (2015)' nin araştırma sonucu bizim çalışmamızla doğrudan benzerlik göstermekte olup 2 mg/l IBA katkılı ortamdan en iyi sonucu elde etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada kök yaş ağırlığı sonuçları da kök sayısı ve kök uzunluğu sonucuyla paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.2 Farklı dozdaki IBA'lı köklendirme ortamlarında bulunan bitkiciklerin görünümü

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Vitis labrusca* türü içinde yer alan kokulu üzüm tiplerinden olan Balıkcı Siyahı üzüm tipinin tek boğumlu mikro çelikleri kullanılarak *in vitro* şartlarda sürgün oluşumu ve köklendirme bakımından en uygun BA ve IBA dozunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla araştırmada eksplantları sürgün oluşturması aşamasında farklı BA dozları denenmiş ve bitkilerin uyanma, sürme ve eksplant canlılık oranları incelemiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ise oluşan sürgünlerden öncelikle kök gelişimi ve sonrasında sürgün gelişiminin de sağlanması amacıyla farklı IBA dozları denenmiştir. Bu kapsamda ise sürgün gelişim parametrelerinden boğum sayısı, yaprak sayısı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı ile kök gelişim parametrelerinden olan köklenme oranı, köklenme süresi, kök sayısı, kök uzunluğu, kök yaş ve kök kuru ağırlığı özellikleri incelenmiştir.

Çalışmanın sürgün gelişimi aşamasında, en iyi sürgün gelişimini sağlamak için, tek boğumlu mikro çelikler farklı konsantrasyonlarda BA ihtiva eden MS ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, denenilen BA dozları içinde uyanma süresi ve eksplant canlılığı parametreleri bakımından en üstün sonuçlar 1 mg/l BA dozundan, sürme süresi parametresinde ise en iyi sonuç 0.5 mg/l BA dozundan elde edilmiştir.

Bu çalışmada, 2 ve 4 mg/l BA ilave edilen ortamlarda belirlenen daha düşük orandaki canlılık, mikro çeliklerdeki boğumdan sürgün oluşmaması ve sonrasında bitkilerin belli bir süre sonrasında kuruması veya 4 mg/l BA dozunun bazı bitkilerde hiperhidrasyona yol açmasından kaynaklanmıştır.

Çalışmada boğumların kısa sürede sürmüş olması ise kullanılan yöntemin ıslah çalışmalarında kullanımının uygun olduğunu göstermiştir.

Çalışmanın köklendirme ve kök gelişimi aşamasında, BA içeren ortamdan elde edilen bitkicikler farklı konsantrasyonlardaki IBA içeren MS ortamına transfer edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, boğum sayısı, yaprak sayısı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığı açısından en üstün sonuçlar 2 mg/l IBA içeren MS ortamından elde edildiği kaydedilmiştir. Köklenen eksplant oranına bakıldığında ise en iyi sonuç 0.5 mg/l IBA ve 4 mg/l IBA içeren ortamdan sağlanmıştır. Köklenme süresi parametresinde en üstün sonuç 0.5 mg/l IBA içeren

ortamdan alınırken, dozların artmasıyla birlikte bitkiciklerin köklenme süresinin geciktiği gözlemlenmiştir. Çalışmada, IBA dozlarının kök sayısı, kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı parametrelerindeki etkisinde ise en üstün sonuçlar 2 mg/l IBA dozundan elde edildiği görülmüştür.

Bu sonuçlar kapsamında, *in vitro* çoğaltım amacıyla tek boğumlu mikro çeliklerin hızlı ve verimli olarak çoğaltılabileceği görülmüştür.

Yapılan bu çalışmanın, *Vitis labrusca* türünde yer alan Balıkçı Siyahı üzüm tipini içermesi açısından ayrı bir önem arz etmektedir. Bunun yanısıra, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ileride bu türün başka çeşit veya tiplerinde yapılacak olan diğer çalışmalara da öncülük etmesi açısından anahtar rolü oynayacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abido, A.I.A., Aly, M.A.M., Hassanen, S.A., & Rayan, G.A. (2013). *In vitro* propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) Muscat of alexandria cv. for conservation of endangerment. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 13(3), 328-337.
- Anonim, (2017a). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim tarihi: 21.05.2018).
- Anonim, (2017b). Türkiye İstatistik Kurumu konulara göre istatistikler bitkisel üretim istatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. (Erişim tarihi: 21.05.2018).
- Arifuzzaman, M., Sultana, S., Saddam Hossain, M., Saifullah, Al-Naser, R., Alim, A., & Jakir Hasan, M. (2016). Paraphernalia of growth regulators during *in vitro* micro propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) from shoot tips and nodal segments. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 3(4), 332-337.
- Atak, A. (2017). Determination of downy mildew and powdery mildew resistance of some grape cultivars. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 38(1), 11-17.
- Atak, A., Göksel, Z., & Çelik, H. (2017). Relations between downy/powdery mildew diseases and some phenolic compounds in *Vitis spp.* *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(2): 69-81.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., & Akbudak, M.A. (2001). Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri. (Editörler M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan), Bitki Biyoteknolojisi Cilt I Doku Kültürü ve Uygulamaları, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, 1-35s.
- Bajaj, Y.P.S. (1988). Regeneration of plants from frozen (-196°C) protoplasts of *Atropa belladonna* L. *Datura innoxia* Mill. and *Nicotiana tabacum* L. *Indian Journal of Experimental Biology*, 26, 289-292.

- Banilas, G., & Korkas, E. (2007). Rapid micropropagation of grapevine cv. Agiortiko through lateral bud development. *E-Journal of Science & Technology*, 31-38.
- Barlass, M., & Skene, K.G.M. (1980). Studies on the fragmented shoot apex of grapevine. I. Factors affecting growth and differentiation *in vitro*. *Journal of Experimental Botany*. 31(121), 489-95.
- Batur, M. (1989). Kalecik Karası üzüm çeşidi ve 14 BMG anacının meristem kültürü ile çoğaltılmasında değişik oksin-sitokinin kombinasyonlarının sürgün oluşumu ve köklenme üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- Bilir Ekbiç H., Tangolar, S., & Ekbiç, E. (2017). Mutation induction using Co⁶⁰'in Pembe Çekirdeksiz (*Vitis vinifera* L.) grape cultivar. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6(2), 101-106.
- Bilir Ekbiç, H. (2010). Trakya İlkeren ve Flame Seedless üzüm çeşitlerinde Co⁶⁰ ve kolhisin kullanılarak mutasyon ve poliploidi oluşturma olanakları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi. 131s. Adana.
- Bilir Ekbiç, H., & Tangolar, S. (2016). Trakya İlkeren ve Flame Seedless üzüm çeşitlerinde farklı kolhisin dozları kullanılarak poliploidi oluşturma olanakları. *Akademik Ziraat Dergisi*, 5(2), 69-76.
- Bilir Ekbiç, H., Yılmaz, G.Ş. & Ciğerli, S. (2015). Isabella (*Vitis labrusca*) üzüm çeşidinin *in vitro* sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. *Akademik Ziraat Dergisi* 4(2), 65-70.
- Cangi R., Çelik H. & Köse B. (2006b). Determination of ampelographic characters of some natural foxy grape (*Vitis labrusca* L.) types grown in Northern Turkey (Ordu and Giresun Province). *International Journal of Botany*, 2, 171-176.
- Cangi, R., Çelik, H., Odabas, F., & İslam, A. (2006a). Determination of ampelographic characters of some natural foxy grape (*Vitis labrusca* L.) types

- grown in northern Turkey (in Trabzon Province). *Asian Journal of Plant Science*, 5(2), 373-377.
- Chanana, Y. R., & Gill, M. I. (2008). Propagation and nursery management. Punjab Agricultural University. Ludhiana.
- Chee, R., Pool, R.M., & Bucher, O.A. (1984). Methods for large scale *in vitro* propagation of *Vitis*. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, 109, 1-9.
- Çelik, H. (2004a). Karadeniz bölgesindeki kokulu Kara üzüm. *Ekoloji Magazin*, Temmuz- Ağustos-Eylül 2004.
- Çelik, H. (2004b). Üzüm yetistirciliği. *Pazar Ziraat Odası eğitim Yayınları*, 2.
- Çelik, H. (2006). Üzüm çeşit kataloğu. Sunfidan Anonim Şirketi Mesleki Kitaplar Serisi: 3. Ankara, 67s.
- Çelik, H., Abak, K., Batur, M., & Sakin, Ş. (1988). Asmaların meristem kültürü ile çoğaltılması üzerine araştırmalar. Türkiye III. Bağcılık Sempozyumu, 31 Mayıs–3 Haziran, Bursa, 12s.
- Çelik, H., Köse, B., & Cangı, R. (2008). Determination of fox grape genotypes (*Vitis labrusca* L.) grown in northeastern Anatolia. *Horticultural Science*, 35(4), 162–170.
- Çelik, S. (2007). Bağcılık (Ampeloloji), Cilt I, Düzeltmiş 2. Baskı, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 432s.
- Çelik, S. (2011). Bağcılık (Ampeloloji) (Üçüncü baskı). Avcı Ofset, 428, İstanbul.
- Dessoky, S., & Attia, O. (2016). Microclonal propagation of grapevine (*Vitis Vinifera* L.) cv. Al-Bayadi. Grown in Taif, KSA. *International Research Journal of Biological Sciences*, 5(12), 24-27.
- Dzazio, P.M., Biasi, LA., & Zanette, F. (2002). Micropropagation of 420-A grapevine rootstock. *Revista Brasileira-de-Fruticultura*, 24(3), 759-764p.
- Gök Tangolar, S., Ünlü, G., Tangolar, S., Daşgan, Y., & Yılmaz, N. (2008). Use of *in vitro* method to evaluate some grapevine varieties for tolerance and susceptibility to sodium bicarbonate-induced chlorosis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 44, 233–237.


- Gray, D.J., & Benton C.M. (1991). *In vitro* micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 27, 7-14.
- Gray, D.J., & Fisher, L.C. (1985). *In vitro* shoot propagation of grape species, hybrids and cultivars. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 98, 172-74.
- Gray, D.J., & Klein, C.M. (1987). *In vitro* shoot micropropagation and plant establishment of “Orlando seedless” grape and Tampa rootstock. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 102, 221-23.
- Han, D.S., Niimi, Y., & Wu, J.Y. (2003). Micropropagation of *Vitis amurensis*. *Vitis*, 42(3), 163–164.
- Harris, R.E. & Stevenson, J.H. (1982). *In vitro* propagation of *Vitis*. *Vitis*, 21, 22-32.
- Hartl, D., Males, P., & Jeleska, S. (1990). Vegetative multiplication of five dalmatian autochthonous grape cultivars *in vitro*. *Proceedings of the 5 th International Symposium on Grape Breeding, 12-16 September 1989, Vitis Special Issue*, 464p, St. Martin/Pfalz, FR of Germany.
- Heloir, M.C., Fournioux, J.C., Oziol, L., & Bessis, R. (1997). An Improved procedure for the propagation *in vitro* of grapevine (*Vitis vinifera* ev. Pinot noir) using axillary-bud microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 49, 223- 225p.
- Hızarcı, Y. (2010). Yusufeli ilçesinde yetiştiriciliği yapılan üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin tanımlanması ve çeşitler arasındaki genetik ilişkilerin SSR markörlerle tespiti. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, s: 243. Erzurum.
- Jaskani, J.M., Abbas, H., Sultana, R., Khan, M.M., Qasim, M., & Khan, I.A. (2008). Effect of growth hormones on micropropagation of *Vitis Vinifera* L. cv. perlette. *Pakistan Journal of Botany*, 40(1), 105-109.
- Jean, P. P., Torregrosa, L., & Gilles, B. (1998). Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *Journal of Experimental Botany*, 49(319), 171–179.

- Kara, S. (1992). Asmaların meristem kültürü yoluyla çoğaltılması üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, s: 89. Bornova-İzmir.
- Karoglan, J., Mirosevic, N., & Jelaska, S. (1990). Grapevine shoot formation *in vitro* proceedings of the 5 th international symposium on grape breeding. 12-16 September 1989. *Vitis Special Issue*, 466p, St. Martin / Pfalz. FR of Germany.
- Kinfe, B. (2010). Multiple shoot regeneration study on three varieties of grapevine (*Vitis vinifera L.*) from shoot tip and nodal culture. Addis Ababa Üniversitesi School of Graduate Studies. 44s. Ethiopia.
- Kuksova, V.B., Piven, N.M., & Gleba, Y.Y. (1997). Somaclonal variation and *in vitro* induced mutagenesis in grapevine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 49, 17-27.
- Kulakiotu, E.K., Thanassouloupoulos, C.C., & Sfakiotakis, E.M. (2004). Biological control of ‘Botrytis cinerea’ by volatiles of Isabella grapes. Aristotle Univ. of Thessaloniki, Fac. of Agriculture, Lab. of Plant Pathology, 54006 Thessaloniki, Greece. *Phytopathology*, 94(9), 924-931.
- Kunter Marasalı, B., & Değirmenci, D. (2007). Sultani Çekirdeksiz ve Kalecik Karası üzüm çeşitlerinde uyarılmış mutasyon etkilerinin sitogenetik tanımlanması. Tübitak Togtag 3091, 114s.
- Lee, N., & Wetzstein, H.Y. (1990). *In Vitro* Propagation of muscadine grape by axillary shoot proliferation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(2), 324-329.
- Lewandowski, V.T. (1991). Rooting and acclimatization of micropropagated *Vitis labrusca* “Delaware”. *Hortscience*. 26 (5), 586-589.
- Lima da Silva, A., & Doazan, J.P. (1995). Gamma-ray mutagenesis on grapevine rootstocks cultivated *in vitro*. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, Vol:29, No:1.
- Linsmaier, E. M., & Skoog, F. (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 18(1), 100-127..

- Melek, N., & Çelik, H. (2005). Sinop ili ve bazı ilçelerinde yetişmekte olan İzabella (*Vitis labrusca* L.) üzüm tiplerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi. Türkiye VI. Bağcılık Sempozyumu, Bildiriler, Cilt: 2, 510-519, 19-23 Eylül, Tekirdağ.
- Mhatre M., Salunkhe C.K., & Rao, P.S. (2000). Mikropropagation of *Vitis vinifera* L.: towards an improved protocol. *Science. Horticultural*, 84, 357-363.
- Monette, P.L. (1988). Grapevine (*Vitis vinifera* L.) biotechnology in agriculture and forestry. Vol.6, Crops II. Bajaj Y.P.S. (ed.). 6: 3–37. Springer Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Mozafari, A., Ghorashi, O., Ghaderi, N., & Javadi, T. (2016). Mikropropagation of grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) on different basal media supplemented with Benzyl Adenine. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 81(3), 123-129.
- Mukherjee, P., Husain, N., Misra, S.C., & Rao, V.S. (2010). *In vitro* propagation of a Grape Rootstock, de Grasset (*Vitis Champinii* Planch.): Effects of medium compositions and plant growth regulators. *Scientia Horticulturae*, 126 (2010), 13-19.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Norton, M.A., & Skirvin, R.M. (2001). Mikropropagation of Norton' wine grape. *HortTechnology*, 11(2), 206-208.
- Roubelakis- Angelakis, K.A., & Zivanovic S.B. (1991). A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (*Vitis spp.*) genotypes. *Hortscience*, 26(12), 1551-1553.
- Rubezhnyak, I.G, & Zaikhenco, A.M. (1996). Phytotoxic metabolites from *Botrytis cinerea* Pers. Ukrainian National Acad. of Sciences, Inst. of Microbiology and Virology, 252143 Kiev, *Journal of Wine Research*, 7(2), 111-116.
- Şanlı, Z., & Odabaş, F. (2005). Trabzon İlinin bazı ilçelerinde yetiştirilmekte olan İzabella (*Vitis labrusca* L.) tiplerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Yüksek lisans tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 124, Samsun.

- Singh, A.K., Sharma, B.B., Pandey, R.M., & Subhadrabandhu, S. (1992). Rapid *in vitro* multiplication of *Vitis vinifera* L. through shoot tips and nodal segments. International Symposium on Tropical Fruit: Frontier in Tropical Fruit Research, Pattaya City, Thailand, 20-24 May 1991. Acta-Horticulturae. No. 321, 601-605p.
- Skiada, F. G., Grigoriadou, K., Maliogka, V. I., Katis, N. I., & Eleftheriou, E. P. (2009). Elimination of Grapevine leafroll-associated virus 1 and Grapevine rupestris stem pitting-associated virus from grapevine cv. Agiorgitiko, and a micropropagation protocol for mass production of virus-free plantlets. Journal of Plant Pathology, 177-184.
- Tangolar, S., Gök, S., & Çetiner, S. (1995). Bazı Amerikan asma anaçlarının *in vitro* sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. 3-6 Ekim 1995. Adana, 544-548.
- Veghese, R., & Smita. (2004). Comparison of micropropagation efficacy among different grape hybrids with special reference to Shweta Seedless. IIHR Abstracts PG Education Pages 37-38.
- Winkler, A. J. (1974). Development and composition of grapes. General viticulture, 138-196.
- Wong, K.Y.I. (2009). *In vitro* culture of 'Dog Ridge' grapevine. Submitted to the Office of Undergraduate Research Texas A&M University, (Doctoral dissertation).
- Yılmaz, F., & Çelik, H., (2005). Farklı anaçlar üzerine aşılana İzabella (*Vitis labrusca* L.) üzüm tipinde aşı başarısının saptanması. *Bahçe*. 34(2), 21-29
- Yolalcı, M.E. (1998). XIX. Yüzyılda Canik (Samsun) sancağının sosyal ve ekonomik yapısı. Atatürk Kültür Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Yayını: XIV. Dizi, Sayı: 20.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	GÜL YILMAZ
Doğum Yeri	ZARA
Doğum Tarihi	22.10.1991
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0 507 212 47 19
E-Posta Adresi	gul.ylmzzz@hotmail.com
	
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Bahçe Bitkileri
Mezuniyet Yılı	15.06.2014
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Yayımlar	
Bilir Ekbiç, H., Yılmaz, G.Ş. & Ciğerli, S., (2015). Isabella (<i>Vitis labrusca</i> L.) üzüm çeşidinin <i>in vitro</i> sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. <i>Akademik Ziraat Dergisi</i> , 4(2), 65-70.	