

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ERCİŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNİN *in vitro* REJENERASYON  
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hazırlayan: Kinem ASLAN  
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Adnan DOĞAN

VAN-2018



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ERCİŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNİN *in vitro* REJENERASYON  
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hazırlayan: Kinem ASLAN

Bu çalışma Van YYÜ. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından  
**FYL-2017-5948** nolu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2018



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
VAN-2018  
**KABUL ve ONAY SAYFASI**

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Adnan DOĞAN danışmanlığında, Kinem ASLAN tarafından sunulan “**Erciş Üzüm Çeşidinin *in vitro* Rejenerasyon Potansiyelinin Belirlenmesi**” isimli bu çalışma “Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği” ve “Fen Bilimleri Enstitüsü Yönergesi”nin ilgili hükümleri gereğince 01./08./2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Nalan TÜRKOĞLU

İmza: 



Üye: Dr. Öğr. Üyesi Adnan DOĞAN

İmza: 

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Fethi Ahmet ÖZDEMİR

İmza: 

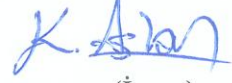
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03 /08/2018 tarih ve 2018 /36-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Enstitü Müdürü  




## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



(İmza)

Kinem ASLAN





## ÖZET

### ERCIŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNİN *in vitro* REJENERASYON POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

ASLAN, Kinem

Yüksel Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Adnan DOĞAN

Ağustos 2018, 34 sayfa

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak ülkemizin zengin asma gen potansiyeli içerisinde Van ilinin ekolojisi ile özdeşleşmiş yerel bir üzüm çeşidi olan Erciş'in *in vitro* rejenerasyon potansiyeli belirlenmiştir. *In vitro* bitkiciklerden elde edilen yaprak ayası eksplantları, 0, 0.05 ve 0.1 mg/l NAA (Naftalen Asetik Asit) ve 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mg/l BAP (6-Benzil Amino Pürin) içeren NN (Nitsch ve Nitsch, 1969) ve MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamlarında 15 gün karanlık 15 gün ise aydınlık koşullarda kültüre alınmıştır. Araştırma sonucunda kültür ortamlarının içerdiği bitki büyüme düzenleyici maddelerin farklı konsantrasyonları ve kombinasyonlarının rejenere eksplant oranı (%), kallus oluşturan eksplant sayısı (adet), kallus kalitesi (%) ve kallus oluşturma oranı (%) üzerine farklı etki yaptığı belirlenmiştir. Rejenere eksplant oranı (%), kallus oluşturan eksplant sayısı (adet) ve kallus oluşturma oranı (%) bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenirken, kallus kalitesi (%) bakımından NN ortamının MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen tüm özellikler bakımından en iyi sonuç her iki ortama da ilave edilen 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Asma, Erciş üzüm çeşidi, *in vitro* rejenerasyon, Kallus



## ABSTRACT

### DETERMINATION OF *in vitro* REGENERATION POTENTIAL OF ERCİŞ GRAPE VARIETY

ASLAN, Kinem

M. Sc. Thesis Horticulture Al Sciences

Supervisor: Assistant Dr. Adnan DOĞAN

August 2017, 34 pages

In this study, Erciş, a local grape variety identified with the ecology of Van, was identified as potentially *in vitro* regeneration potential as a vegetable material in the rich vine gene potential of our country. Foliar explants obtained from *in vitro* plants were tested in NN (Nitsch ve Nitsch, 1969) and MS (Murashige and Skoog, 1962) media with 0, 0.05 and 0.1 mg / l NAA (Naphthalene Acetic Acid) and 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 mg / l BAP (6-Benzyl Amino Purine) Cultivation in 15 days in the dark and 15 days in the bright environment. Obtain a different effect on the ratio of regenerated explants (%), number of explants containing callus (number), callus quality (%) and callus formation rate (%). It was observed that the MS medium had a better result than the NN medium in the case of the number of explants (%), the number of explants containing the callus (%) and the ratio (%) of the callus, whereas the NN medium had a better result than the MS medium in the callus quality (%) machine. Both concentrations have an addition rate of 0.1 mg / l NAA + 1.0 mg / l BAP Internalization was obtained.

**Keywords:** Grapevine, Erciş grape variety, *in vitro* regeneration, Callus



## ÖN SÖZ

Bu çalışmaya beni yönlendiren, çalışmamın gerçekleşmesi için gerekli ortamın hazırlanmasında, sonuca ulaşmasında ve karşılaşılan güçlüklerin aşılmasında yardımlarını esirgemeyen Hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nurhan KESKİN ve Dr. Öğr. Üyesi Adnan DOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu araştırmayı mali yönden destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Müdürlüğüne, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne, ayrıca çalışmalarım sırasında benden desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bugüne kadar maddi ve manevi yönden destek sağlayan ve varlıkları ile hep yanımda olan fedakar aileme sonsuz sevgi ve saygılarımla.

2018

Kinem ASLAN



# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ .....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	11
3.1. Materyal .....	11
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1. Eksplantların elde edilmesi .....	12
3.2.2. <i>In vitro</i> bitkiciklerin eldesi .....	12
3.2.3. Rejenerasyon .....	13
3.2.4. İncelenen özellikler .....	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	31
KAYNAKLAR.....	33
ÖZ GEÇMİŞ.....	37





## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1. MS temel besin ortamının bileşimi .....	13
Çizelge 3.2. NN temel besin ortamının bileşimi .....	14
Çizelge 3.3. Eksplantların dikildiği besin ortamları.....	15
Çizelge 4.1. Erciş üzüm çeşidinin rejenere eksplant oranı.....	18
Çizelge 4.2. Erciş üzüm çeşidinin kallus oluşturan eksplant sayısı .....	20
Çizelge 4.3. Kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	21
Çizelge 4.4. Erciş üzüm çeşidinin kallus kalitesi .....	22
Çizelge 4.5. Kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	23
Çizelge 4.6. Erciş üzüm çeşidinin kallus oluşturma oranı .....	24
Çizelge 4.7. Kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	25



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 3.1. Erciş üzümü.....	10
Şekil 3.2.. Bir yaşlı dalların iklim odasında sürdürülmesi .....	11
Şekil 3.3. In vitro bitkicikler .....	12
Şekil 3.4. In vitro bitkiciklerden elde edilen yaprak parçacıklar.....	13
Şekil 3.5. İnkübasyona alınan kültürler .....	14
Şekil 3.6. Elde edilen kallusların kalite özellikleri a) I tip kallus, b) II. tip kallus .....	16
Şekil 4.1. Herhangi bir gelişme göstermeyen yaprak eksplantları ve Adventif kök oluşumu şeklinde rejenere olan kalluslar .....	17
Şekil 4.2. rejenere ekplant oranlarına ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.....	19
Şekil 4.3. Kallus oluşturan eksplant sayısına ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.....	21
Şekil 4.4. Kallus kalitesi (%) Ortam, NAA ve BAP'ın etkileri .....	23
Şekil 4.5. Kallus oluşturma oranı (%) Ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.....	25
Şekil 4.6. I. Tip kalluslar .....	26



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
°C	Santigrat
cm	Santimetre
da	Dekar
G	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
mg	Milligram
mm	Milimetre
±	Standart Hata

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
BAP	6-Benzil Amino Pürin
NN	Nitsch ve Nitsch, 1969
MS	Murashige ve Skoog, 1962
NAA	Naftalen Asetik Asit



## 1. GİRİŞ

Türkiye, bağ alanı ve üzüm üretimi yönüyle dünyanın bağcılık açısından söz sahibi ülkelerinden biridir. Ülkemiz, Asma (*Vitis vinifera* L.)'nın anavatanı olmasının yanı sıra bağcılık kültürünün de ilk başladığı yer olması nedeniyle oldukça zengin bir asma gen potansiyeline sahiptir. Ne yazık ki ülkemizde dış pazara ihraç edilecek üzüm çeşidi sayısı oldukça sınırlıdır. Bu durum dünya üzüm üretiminde söz sahibi ülkelere göre Türkiye'nin üzüm ihracatından istenilen düzeyde gelir elde edemediğini ortaya koymaktadır. Bağcılıkta daha verimli, kaliteli ve iri taneli pazar değeri yüksek sofralık üzüm çeşitleri ile sıra randımanı yüksek ve iyi kaliteli şaraplık çeşitlerin elde edilmesi ancak yapılacak ıslah çalışmalarıyla mümkündür. Asma ıslahı çalışmaları, dünyada olduğu gibi ülkemizde de bağcılığın öncelikli konuları arasındadır. Son yıllarda asma ıslahı çalışmalarında öncelikli konular ise; tane kalite kriterlerinin artırılması, çekirdeksizlik, abiyotik ve biyotik koşullara dayanıklılığın artırılması, erkenci/geççi çeşitlerin elde edilmesidir. Bitkisel üretimin ve ürünlerdeki kalitenin artırılması açısından, ıslah çalışmaları büyük önem kazanmıştır. Kombinasyon ıslahı, melezleme çalışmaları ile başlayan, çok uzun süreç olup arzu edilen çeşitlerin elde edilmesi için geniş popülasyonlar içerisinden seçim gerektirmekte, fazla işgücü istemekte ve etkinliği düşük olmaktadır. Asma gibi çok yıllık bitkilerdeki heterozigotik yapı ise ıslah çalışmalarında amaca uygun hibritlere ulaşmayı zorlaştıran bir diğer faktördür (Karauz, 2013). Günümüzde biyoteknoloji alanında yaşanan gelişmeler özellikle ıslah süreçlerinin kısaltılmasında ve erken seleksiyona olanak sunması ile ön plana çıkmaktadır.

Bitkilerde uygulanan biyoteknolojik metotlar içinde doku kültürü çalışmaları ise büyük yer tutmaktadır. Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları=eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir (Babaoğlu ve ark., 2001). Hızlı çoğaltma, virüs ve benzeri etmenlerden arındırılmış bitki elde etme, genetik materyal muhafazası, sekonder metabolit üretimi gibi birçok alanda kullanılan doku kültürü, ıslah amaçlı kullanım alanları da son derece fazla olan

bir teknikler bütünüdür. Bitkilerin farklı kısımlarından alınan eksplantların kallus ya da adventif sürgün oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi, hem doğrudan kallus kültürü yoluyla yeni genotiplerin elde edilmesinde, hem de gen transferi çalışmaları için son derece güvenilir birer kaynak oluşturma özelliklerinden dolayı ıslah çalışmalarında büyük önem taşımaktadırlar (Babalık, 2006).

Bitki doku kültürlerinde ve genetik iyileştirmelerde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur (Purnhauser ve ark., 1987). *In vitro* bitki rejenerasyon yöntemlerinin amacı, kallusta meristematik bölgelerin ve meristematik sürgünlerin oluşumu arttırmaktır (Vnuchkova ve ark., 1993). Bitki rejenerasyonu, kültürü yapılan hücrelerin özellikleri itibarıyla üç kısımda incelenmektedir (Ahmet, 2007).

- 1) organize olmuş meristematik hücreleri içeren somatik dokulardan rejenerasyon,
- 2) meristematik olmayan somatik hücrelerden rejenerasyon,
- 3) mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden rejenerasyon.

Birinci tip rejenerasyonda uç ve yan meristemlerden bitkiler çoğaltılır. Buna meristem kültürü yoluyla klonal çoğaltım denilir. Elde edilen hücreler tamamen donör (verici) bitkiye benzer. İkinci tip rejenerasyon; doğrudan bir bitki parçasının (eksplant denilir) kesilmiş yüzeylerindeki belirli somatik hücrelerin bir kısmının genellikle besin ortamına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerinin (özellikle oksin ve sitokinler) etkisiyle bölünerek ve organize olarak, organları ve daha sonra da bitkiyi (direkt organogenesis) veya bir somatik hücrenin sürekli bölünerek embriyo ve daha sonra da tam bir bitkiyi oluşturması (direkt somatik embriyogenesis) şeklinde olabilir. Ayrıca her iki durum, belirli bir kallus, proto-kallus veya hücre süspansiyonu oluşumu devresinden sonra da ortaya çıkabilir (indirekt rejenerasyon). Ortaya çıkan bitkilerde bazı kalıtsal veya geçici varyasyonlar oluşabilir. Son olarak normal kromozom sayısının yarısını ihtiva eden hücrelerden de direkt veya dolaylı yollarla bitki rejenerasyonu olabilir. Bu durumda donör bitkinin kromozom sayısının yarısına sahip, genellikle steril olan haploid bitkiler elde edilebilir. Bu bitkicik, doku veya hücrelerde kromozom katlaması yoluyla fertil (dihaploid veya katlanmış haploid) bitkiler elde edilir.

Asmada *in vitro* rejenerasyon kaynağı olarak değişik eksplantlar kullanılmaktadır. Bunlar anter (Perl ve ark., 1995; Nakajima ve ark., 2000; Martinelli ve ark., 2001; Lopez-Perez ve ark., 2005; Cutanda ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2009), olgunlaşmamış ovül (Xu ve ark., 2005), olgunlaşmamış çiçek (Lopez-Perez ve ark.,



2005; Cutanda ve ark., 2008; Acanda ve ark., 2013), yumurtalık (Lopez-Perez ve ark., 2005), yaprak (Passos ve ark., 1999; Keskin ve Kunter 2007; Keskin ve Kunter 2008), yaprak sapı (Tassoni ve ark., 2005), boğum ve gövde parçaları (Jaskani ve ark., 2008; Chao ve ark., 2015), sülük (Salunkhe ve ark., 1997) şeklindedir. Ancak genotip ve eksplant tipine göre elde edilen başarının çok değişken olması nedeniyle, ıslah çalışmalarına başlamadan önce mutlaka kullanılabilir özellikte bir rejenerasyon sisteminin oluşturulması gerekmektedir.

Asmada ıslah çalışmaları diğer bitki türlerinde olduğu gibi başta klon seleksiyonu ve melezleme ıslahı olmak üzere klasik yöntemlerle yapılmaktadır. Ancak klon seleksiyonu ile istenilen özellikleri kombine eden tek bir bireyin elde edilmesindeki olanaksızlıklar, melezleme ıslahında ise yüksek heterozigot kalıtsal yapı, uzun generasyon süresi, uygun genetik özelliklere sahip melezlerin seçiminin uzun zaman alması, bağlı genler nedeniyle istenmeyen bazı özelliklerin döllere geçmesi ve melezleme depresyonu nedeniyle kendilemenin engellenmesi gibi bir takım dezavantajları ile son derece uzun bir süreci gerektirmektedir. Bütün bu olumsuzluklar, özellikle son yıllarda, kısa sürede kesin sonuçlar sunan moleküler ve hücre tekniklerinin kullanıldığı ıslah metotlarının geliştirilmesine neden olmuştur. Bu yeni ıslah metotları, sadece yeni bir çeşidin geliştirilmesine olanak sağlamamakta; ayrıca, bir çeşidin temel niteliklerini bozmadan istenilen spesifik bir karakterin kazandırılmasına ilişkin modifikasyonlara da imkan sağlamaktadır. Ancak moleküler genetik metotlarının ıslah çalışmalarında başarılı bir şekilde uygulanabilmesi, her şeyden önce, bu yöntemlerde ıslah materyali olarak kullanılan bitki parçacıklarının (eksplant) *in vitro* koşullarda tam bitkiye dönüşümlerinin sağlanması ile mümkün olabilmektedir (Babalık, 2006).

Erciş üzüm çeşidi ülkemizin zengin asma gen potansiyeli içerisinde Van ilinin ekolojisi ile özdeşleşmiş bir üzüm çeşididir. Sıcaklığın sınırlayıcı etkisi ve yüksek rakım nedeniyle yetiştiği ekolojide diğer üzüm çeşitlerine göre zor koşullara daha toleranslıdır. Bu bağlamda Erciş üzüm çeşidi genetik anlamda son derece değerli bir ıslah materyalidir. Bu çalışmada Erciş üzüm çeşidinin *in vitro* yaprak eksplantlarından rejenerasyon üzerine değişik bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonlarının etkileri araştırılmıştır. Böylece Erciş üzüm çeşidinin *in vitro* rejenerasyon potansiyelinin ortaya konması amaçlanmıştır. Dolayısı ile bu çeşitle gelecekte yapılacak biyoteknolojik araştırmalar için referans olarak başvurulabilecek bilimsel bir çalışma yürütülmüştür.



## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Rajasekaran ve Mullins (1981), bazı asma genotiplerinin boğum arası eksplantlarını kullanarak organogenesis yoluyla bitki elde etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, ana bitki ve genotipin olgunluğu, eksplant orijini ve ortam kompozisyonunun etkilerini de araştırmışlardır. Araştırma sonucunda kullanılan ortam ve genotiplerin büyük bir kısmında adventif kök oluşumu gerçekleşmiştir.

Stamp ve Meredith (1988), Cabernet Sauvignon ve *V. rupestris* St. George ve PI 200692'nin *in vivo* ve *in vitro* yapraklarını NN (Nitsch ve Nitsch, 1969) ve MS (Murashige ve Skoog, 1962) temel besin ortamlarında kültüre almış ve somatik embriyo eldesi sağlamışlardır. Araştırmacılar büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının yanı sıra genotip, eksplant tipi ve kaynağı, kültür yöntemi, kültür ortamının bileşimi ile döner bitkinin durumunun embriyo oluşumunu etkilediğini belirtmişlerdir.

Stamp ve ark., (1990a), 2 mg/l BA içeren katı NN ortamında kültüre alınan French Colombard ve Thompson Seedless'in boğum kültürlerinden elde edilen sürgünlerden alınan yaprak ayası ve yaprak sapı eksplantlarından 3 hafta içinde adventif sürgünlerin geliştiğini rapor etmişlerdir.

Stamp ve ark., (1990b), Cabernet Sauvignon, French Colombard, Grenache, Thompson Seedless (syn. Sultana) and White Riesling, *V. rupestris* cv. St. George (sinonim: du Lot) and *V. vinifera* × *rupestris* cv. Ganzin 1 üzüm çeşitlerinin yaprak eksplantlarını 0, 1, 2 ve 4 mg/l BAP (6-benzilaminopürin) içeren MS veya NN temel rejenerasyon ortamlarında kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda her bir eksplanttan yaklaşık 6 sürgün meydana gelmiş ve köklenen bitkicikler morfolojik olarak ana bitkiye benzemişlerdir.

Seyval blanc üzüm çeşidinin yaprak eksplantları için etkili bir rejenerasyon yöntemi üzerine yapılan bir çalışmada yüksek oranda somatik embriyo oluşumunun 20 µM NOA (Naftoksi asetik asit) +4 µM TDZ (Thidiazuron) içeren modifiye NN ortamında sağlandığını belirtilmiştir (Harst 1995).

Onsekiz üzüm çeşidinin *in vitro* sürgünlerinden alınan yaprak eksplantlarının organogenik potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada yaprak eksplantları 2 mg/l BA (Benzil Adenin), 0.03 mg/l NAA (Naftalen Asetik Asit) içeren yarı kuvvetteki (1/2) MS ortamı üzerinde kültüre alınmıştır. Sultana moscato, Riesling,

Chardonnay, Cabernet franc ve *Vitis armata* genotiplerinin yaprak explantlarından yüksek oranda sürgün oluşumu sağlanmıştır (Martinelli ve ark., 1996).

Torregrosa ve ark., (1995), VRH8715, VRH8773 ve VMH1 melez üzüm çeşitlerinin rejenerasyon yeteneğini belirlemiştir. Araştırmacılar, kallus oluşumu ve proliferasyon sağlamak amacıyla 6 g L agar + 25 g L sakkaroz içeren 1/2 MS ortamı kullanmışlar ve en iyi büyüme düzenleyici kombinasyonunu belirlemek amacıyla NOA, 2,4-D, 2,4,5-T (2,4,5-triklorofenoksasetik asit) ve BAP kombinasyonlarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda % 95 oranında bitki oluşumu gerçekleşmiştir.

Büyükdemirci (1997), Valiant, Chancellor ve St. Croix üzüm çeşitlerinin yapraklarından direkt sürgün oluşumu ve bitki elde edilmesi üzerine ortam, sakkaroz, oksin ve sitokin tipi ile konsantrasyonlarının etkili olduğunu belirlemiştir. Çalışma sonucunda çoğunlukla NN ortamının MS ortamından daha yüksek rejenerasyon yüzdesi oluşturduğu saptanmıştır.

Altun ve Yürekli (2000), Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde *in vitro* kalsiyum değişiminin kallogenez ve regenerasyon üzerindeki etkileri incelemiştir. Eksplantların etkili sterilizasyonu % 70'lik etanolde 7 dakika; % 4.5'lik sodyum hipokloritte ise 10 dakika olarak saptanmıştır. Kalsiyum miktarı değiştirilerek hazırlanmış 5 farklı MS ortamından elde edilen kallogenez ve regenerasyon sonuçları morfolojik olarak verilmiştir. Çalışma sonucunda en iyi kallus oluşumu % 100 ile MS ortamındaki kalsiyum miktarı azaltılarak ve 3 mg/l NAA eklenerek hazırlanmış 2 mmol/l Ca<sup>+2</sup> ve 3 mmol/l Ca<sup>+2</sup> içerikli ortamlardan elde edilmiştir. En iyi kallus biyoması ise normal MS ortamında gözlenmiştir. En iyi gövde ve kök gelişimi MS ortamındaki kalsiyum iyonunun miktarı artırılarak ve 3 mg/l NAA eklenerek elde edilen 5 mmol L Ca<sup>+2</sup> ve 6 mmol L Ca<sup>+2</sup> modifiye ortamlardan elde edilmiştir.

Organogenesis yoluyla 5 üzüm çeşidi (Atasarısı, Çavuş, Kalecik karası, Sultani çekirdeksiz ve Yapıncak) ile 2 asma anacına (5 BB 41 B) ait yaprak eksplantlarından adventif sürgün gelişimi üzerine etkili olan genotip, eksplant kaynağı ve besin ortamlarının etkilerini inceleyen Göktürk Baydar (2000), eksplant kaynağı olarak *in vitro* sürgünlerden izole edilen yaprak sapı ve ayalarını kullandığı araştırmasında, adventif sürgün gelişimi ile ilgili en yüksek değerleri yaprak saplarından elde ettiğini belirtmiştir. Araştırma sonunda, adventif sürgün oluşumu için en uygun besin ortamının Kalecik karası, Çavuş, Sultani Çekirdeksiz ve Kober 5 BB için 2 mg/l BAP katkılı MS

besin ortamının olduğu tespit edilmiştir. Bu besin ortamında kültüre alınan Kalecik karası, Çavuş, Sultani çekirdeksiz ve Kober 5 BB'ye ait yaprak saplarının % 34.7-56.0'sı, yaprak ayalarının da % 18.7-22.7'si adventif sürgün oluşturmuştur. Yapıncak, Atasarısı ve 41 B için de 2 mg/l BAP katkılı NN ortamının adventif sürgün oluşumu için en uygun besin ortamı olduğunun belirlendiği araştırmada, bu genotiplere ait yaprak saplarının % 16.0-34.7'sinin, yaprak ayalarının da % 8.0-14.7'sinin adventif sürgün oluşturdukları tespit edilmiştir.

Kwon ve ark., (2001), *V. labruscana* x *V. vinifera* melezi olan Kyoho üzüm çeşidinin yaprak eksplantlarından adventif sürgün oluşumunun, temel ortam, bitki büyüme düzenleyicileri ve ışık gibi faktörlerden etkilendiğini belirlemişlerdir. En iyi sürgün rejenerasyonu karanlıkta 3 hafta süreli inkübasyondan sonra elde edilmiştir.

Gök Tangolar (2002), 41 B Amerikan asma anacı ve Yalova İncisi üzüm çeşidinin farklı eksplantlarından, embriyogenesis ve organogenesis yoluyla bitki elde edilmesinde farklı besin ortamları ve büyümeyi düzenleyici maddeler ile kültür koşullarının etkisi araştırmıştır. Somatik embriyogenesis çalışmalarında eksplant olarak anter, *in vivo* ve *in vitro* yaprak ayası ve yaprak sapı, sülük, olgunlaşmamış ve olgun zigotik embriyo; organogenesis çalışmalarında ise *in vitro* yaprak ayası ve yaprak sapı kullanılmıştır. Somatik embriyogenesisde kullanılan bütün eksplantlarda uygulamalara göre değişen oranlarda embriyojenik kalluslar meydana gelmiş ancak, yalnızca olgunlaşmamış zigotik embriyo eksplantından somatik embriyolar elde edilebilmiştir. 41 B anacının olgunlaşmamış zigotik embriyoları, içerisinde 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l 2,4-D bulunan MS, NN ve BS ortamlarının aydınlık ve karanlık kültürlerinde değişik oranlarda somatik embriyo oluşturmuşlardır. En yüksek oranda somatik embriyo oluşumu 0.5 ve 1 mg/l 2,4-D içeren B5 ortamının karanlık kültürlerinde (sırasıyla % 30 ve % 28.9) saptanmıştır. Yalova incisinin olgunlaşmamış zigotik embriyoları yalnızca 1 mg/l 2,4-D içeren MS'in aydınlık kültürlerinde % 5; 0.5 mg/l 2,4-D içeren NN ortamının aydınlık ve karanlık kültürlerinde ise sırasıyla % 6.3 ve % 2.3 oranlarında somatik embriyo oluşturmuştur. Sekiz aylık kültür süresi sonunda 41 B'nin B5 + 1 mg/l 2,4-D + karanlık kültürlerinde 559 adet, Yalova İncisi'nin NN + 0.5 mg/l 2,4-D + aydınlık kültürlerinden ise 912 adet embriyonun torpedo devresinde olduğu belirlenmiştir. En yüksek çimlenme ve tam bitkiye dönüşüm oranı 41 B'de hormonsuz NN ortamında (sırasıyla % 58 ve % 75), Yalova İncisinde ise hormonsuz MS ortamında

(sırasıyla % 77.4 ve % 45) meydana gelmiştir. Elde edilen somatik bitkiciklerin % 91.9'u başarıyla toprağa aktarılmıştır. Organogenesis çalışmalarında adventif göz oluşumu bakımından her iki genotipte en uygun eksplantın yaprak ayası olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 2 mg/l BA eklenen B5 ve NN ortamlarında diğer uygulamalardan daha yüksek değerler elde edilmiştir.

Bayır (2003), Sultani Çekirdeksiz ve Cardinal üzüm çeşitleri ile 5BB ve Fercal asma anaçlarının kallus kültürü yoluyla rejenerasyon olanaklarını araştırmıştır. *In vitro* koşullarda yetiştirilmiş bitkilerden alınan yaprak ayası, yaprak sapı ve boğun arası eksplantları değişik bitki büyüme düzenleyici maddelerin (BAP, 2,4-D, Kinetin) eklendiği MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kallus oluşumu ve kallus boyutu bakımından en iyi sonucu çeşitler için 1 mg/l BAP'ın 0.1 mg/l ya da 1 mg/l 2,4-D; anaçlar için ise 0.2 mg/l BAP'ın 0.1 mg/l 2,4-D kombinasyonundan alınmıştır.

Göktürk Baydar ve Çetin (2003), Sultani çekirdeksiz ve Kalecik karası ile 41B ve 5BB asma anaçlarına ait *in vitro* bitkilerden elde edilen yaprak ayaları ile yaprak saplarını kullanarak organogenesis yoluyla adventif kök ve sürgün oluşumu elde etmişlerdir.

Özden ve ark., (2008), Öküzgözü ve Boğazkere üzüm çeşitlerinde organogenesis yoluyla etkin bir rejenerasyon protokolü oluşturmaya çalışmışlardır. Yaprak eksplantlarını, BAP ile NAA'nın farklı kombinasyonlarını içeren NN besin ortamlarında kültüre almışlardır. Araştırma sonucunda en yüksek kallus oluşumu (%), adventif sürgün oluşturan kallus oranı (%), ortalama adventif sürgün sayısı (adet/eksplant), denemede kullanılan her iki çeşit için de 0.5 mg/l BA ve 0.05 mg/l NAA içeren kültür ortamlarından elde edilmiştir.

Keskin ve Kunter (2010), Kalecik karası, Öküzgözü, Erciş ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitlerinde ikincil bitki ürünü üretmek amacıyla elde edilen kallusların kalitesi üzerine; çeşit, besin ortamı ve eksplant tipinin etkisi araştırmıştır. Eksplant kaynağı olarak sürgünlerin orta bölümünden alınan yaprak ayası ve boğum araları kullanılmıştır. Dikimler, 1.0 µM BAP (6-benzilaminopürin), 0.1 µM 2,4-D (2,4-diklorofenoksi-asetik asit), sakkaroz (% 2) ve agar (% 0.8 ) ilave edilmiş MS ve Gamborg B5 katı temel besin ortamlarına yapılmıştır. Hazır besin ortamlarından MS besin ortamı saf su içerisine litreye 4.4 g, B5 ortamı ise 3.2 g katılarak hazırlanmıştır. Her iki besin ortamının da pH değeri 5.7'ye ayarlanmıştır. Kalluslar karanlıkta ve

25°C’de inkübe edilmiş ve 21 gün ara ile iki defa alt kültüre alınmıştır. Araştırma sonucunda, kallus kalitesini ifade eden I. tip kallus oluşumunun besin ortamı, üzüm çeşidi ve eksplant tipine göre değiştiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan iki farklı besin ortamından B5 besin ortamının, I. tip kallus oluşumu bakımından MS ortamına göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. En yüksek I. tip kallus oluşumu gösteren üzüm çeşidi Cabernet Sauvignon (% 74.73), en düşük I. tip kallus oluşumu gösteren üzüm çeşidi ise Öküzgözü (% 23.20) olmuştur. Kullanılan eksplant dikkate alındığında, I. tip kallus oluşumu bakımından yaprak ayalarının boğum aralarına göre daha başarılı sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir.

Khan ve ark., (2015), Kings Ruby üzüm çeşidinin mikroçoğaltımı için ortamdaki büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonlarını optimize etmişleridir. *In vitro* kültürleri oluşturmak için apikal meristemleri kullanmışlardır. Gelişen sürgünlerden alınan boğum eksplantları, benzil aminopurin (BAP), kinetin, glisin ve gibberellic asit (GA<sub>3</sub>) içeren 1/2 MS ortamına proliferasyon için dikilmiştir. Çalışma sonucunda araştırmacılar rejenerasyon olmuş sürgünleri köklendirilmek için büyüme düzenleyici madde içermeyen 1/2 MS ortamını önermiştir.

Yıldırım ve ark., (2015), Öküzgözü ve Boğazkere üzüm çeşitlerinde yürütülecek doku kültürü çalışmalarında kullanılacak eksplant tipinin belirlenmesi amacıyla bir araştırma yapmışlardır. Üzüm çeşitlerine ait üç gözlü çelikler perlit ortamında köklendirildikten sonra elde edilen sürgünlerden hazırlanan sürgün ucu, boğum ve boğum araları olmak üzere üç farklı eksplant tipi kullanılmıştır. Öküzgözü çeşidinde rejenerasyon oranı % 100, sürgün sayısı 2.63 adet, sürgün uzunluğu 1.27 cm, boğum sayısı 5.05 adet, kallus oranı ise % 75 olarak gerçekleşirken; Boğazkere çeşidinde rejenerasyon % 100, sürgün sayısı 4.8 adet, sürgün uzunluğu 1.39 cm, boğum sayısı 5.85 adet, kallus oranı ise % 100 olarak gerçekleşmiştir. Çalışma sonucunda incelenen eksplant tiplerinden boğum kültürünün Öküzgözü ve Boğazkere üzüm çeşitlerinde *in vitro* kullanılabilir en iyi eksplant tipi olduğu belirlenmiştir.

Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde başarılı bir kallus rejenerasyonu sağlamak için eksplant materyali ve kültür ortamı seçimi üzerinde çalışan Pehlivan ve ark., (2017), ana eksplant materyalleri olarak, *in vitro* makro sürgün ucu materyallerinin *in vitro* sürgünlerinden elde edilen, yaprak diskleri ve boğum parçaları kullanmıştır. Başlangıçta, makro sürgün ucu 1 mg/l BAP içeren MS besin ortamında kültüre

alınmıştır. Bunun ardından *in vitro* sürgünler BAP (1 mg/l ) + IBA (Indol-3-bütirik asit) (0.1 mg/l ) içeren sürgün çoğaltma besin ortamına alt kültüre aktarılmıştır. Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidinde kallus rejenerasyon potansiyelini araştırmak için; yaprak diskleri 2,4-D ile BAP kombinasyonlarını içeren iki farklı MS ortamında, boğum parçaları ise 2,4-D ve NAA ile kombinasyon halinde BAP içeren dört farklı MS ortamında kültüre alınmıştır. Kallus çoğaltım oranı, yaprak disk eksplantında boğum eksplantına göre daha yüksek oranda gerçekleşmiştir. Tüm uygulama kombinasyonlarının içinde kallus rejenerasyonunda en etkili sonuç BAP (1 mg/l ) + 2,4-D (0.1 mg/l) içeren MS ortamından elde edilmiştir. Bu ortamda ortalama kallus çapı 6.3 mm ve kallus rejenerasyon oranı ise % 100 oranında bulunmuştur.





### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışma, 2016-2018 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür.

Bu çalışmanın bitkisel materyalini Van ili bağcılığı denince akla ilk gelen ve şaraplık-şıralık bir çeşit olmasına rağmen yörede sofralık olarak tüketilen Erciş yerli üzüm çeşidi oluşturmaktadır. Araştırmada kullanılan Erciş üzüm çeşidine ait görsel Şekil 3.1'de çeşide ait bazı önemli özellikler ise aşağıda verilmiştir (Keskin, 2007).

Çiçek tipi	Erdişi
Tane rengi	Mavimsi siyah
Tane iriliği	Küçük-orta, 2 g
Salkım şekli	Dallı konik
Salkım iriliği	Orta, 250 g
Olgunlaşma	Orta mevsim
Kalite Özelliği	Şaraplık-şıralık bir çeşit olmakla birlikte, çeşide özgü aroması nedeniyle sofralık olarak da tüketilmektedir.



Şekil 3.1. Erciş üzümü (Foto: Nurhan Keskin).

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Eksplantların elde edilmesi

Erciş üzüm çeşidine ait yaprak ayalarının *in vitro* rejenerasyon kapasitelerini belirlemek amacıyla, öncelikle eksplantların alınacağı *in vitro* sürgünlerin elde edilmesine yönelik olarak Erciş üzüm çeşidinden budama döneminde alınan çelikler 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarda, 25 °C sıcaklıkta iklim odasında sürdürülmüştür (Şekil 3.1.).



Şekil 3.2. Bir yaşlı dalların iklim odasında sürdürülmesi.

### 3.2.2. *In vitro* bitkiciklerin eldesi

Bir yaşlı dalların iklim odasında sürdürülmesiyle elde edilen sürgünlerden her bir tek adventif göz içeren eksplantlar 1-2 damla 0.01'lik Tween 20 ilave edilmiş % 10'luk sodyum hipoklorit çözeltisi (% 0.5 NaOCl) kullanılarak 15 dakika dezenfekte edilmiştir. Dezenfeksiyon sonrası materyaller, en az 5 dakika olmak üzere 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. *In vitro* bitkiciklerin elde edilmesi amacıyla MS (Murashige ve Skoog, 1962) ve NN (Nitsch ve Nitsch, 1969) yarı katı temel besin ortamları kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Litreye 4.4 g MS ve 2.18 g NN, katılarak hazırlanmış olan ortamları pH değeri 5.7'ye ayarlanmıştır. Büyüme düzenleyici madde olarak, sürgün

gelişimini artırıcı BAP (6-benzilaminoprin) ve NAA (Naftalen Asetik Asit) eklenmiştir. Sakkaroz (% 3) ve agar (% 6) ilave edilen besin ortamları otoklavda (121°C’de 20 dakika) sterilize edilmiştir. Kültüre alınan yaprak eksplantları 8/16 fotoperiyot ve 25°C’de inkübe edilmiş, çalışmada kullanılacak yeterli eksplant sayısına ulaşana kadar alt kültüre alma işlemine devam edilerek *in vitro* bitkicikler elde edilmiştir (Şekil 3.3.).

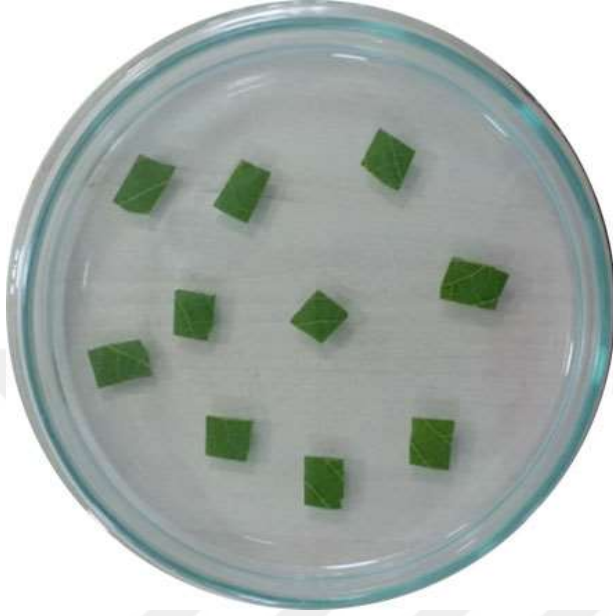


Şekil 3.3. *In vitro* bitkicikler.

### 3.2.3. Rejenerasyon

Rejenerasyon denemelerinde 4 aylık alt kültür uygulamaları sonucunda yeterli bitki sayısına ulaşıldığında, *in vitro* ortamında gelişen bitkiciklerden yaprak parçacıkları alınarak *in vitro* ortamda rejenerasyona teşvik edilmişlerdir (Şekil 3.4). Eksplantlar literatür kapsamında belirlenmiş 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mg/l BAP ile 0, 0.05 ve 0.1 mg/l NAA içeren MS (Çizelge 3.1) ve NN (Çizelge 3.2) ortamlarında kültüre alınmıştır (Çizelge 3.3). Hazır ticari besin ortamlarından NN litreye 2.18 g, MS ise 4.4 g tartılarak ilave edilmiştir. NN ortamına 20 g L, MS ortamına ise 30 g L sakkaroz eklenmiştir. Her iki ortamın da pH’sı 5.7’ye ayarlanmış, 7 g L agar eklenerek otoklavda 121°C’de 20 dakika) sterilize edilmiştir. Eksplantlar her kültür kabına on yaprak ayası olacak şekilde

kültüre alınmış ve her bir uygulama için on adet kültür kabı kullanılmıştır. Kùltürler 25°C’de 15 gün karanlık ortamda tutulduktan sonra 8/16 fotoperiyot ve 25°C’de 30 gün inkübe edilmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. *In vitro* bitkiciklerden elde edilen yaprak parçacıkları.

Çizelge 3.1. MS temel besin ortamının bileşimi

I. İnorganik maddeler		II: Organik maddeler	
A. Makro elementler	(mg/l)	1) Vitamin ve amino asitler	(mg/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	Myo-inositol	100
KNO <sub>3</sub>	1900	Thiamin HCL	0.1
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	440	Pyridoxin HCL	0.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	Nicotinic acid	0.5
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	Glycine	2.0
NaFeEDTA	36.7		
B. Mikro elementler	(mg/l)		
MnSO <sub>4</sub>	16.0		
ZnSO <sub>4</sub>	8.6		
H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	6.2		
KI	0.830		
Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub>	0.250		
CuSO <sub>4</sub>	0.025		
CoCl <sub>2</sub>	0.025		

Çizelge 3.2. NN temel besin ortamının bileşimi

I. İnorganik maddeler		II: Organik maddeler	
A. Makro elementler	(mg/l)	1) Vitamin ve amino asitler	(mg/l)
KNO <sub>3</sub>	950	Myo-inositol	100
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	720	Glycine	2
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	185	Nicotinic acid	5
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	166	Pyridoxin HCL	0.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	68	Thiamin HCL	0.5
		Folic asit	0.5
B. Mikro elementler	(mg/l)	Biotin	0.05
MnSO <sub>4</sub>	25		
ZnSO <sub>4</sub>	10		
Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub>	0.25		
H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	10		
CuSO <sub>4</sub>	0.025		
C. Demirli bileşik	(g L)		
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.557		
Disodyumetilendiaminotetraasetat	7.450		



Şekil 3.5. İnkübasyona alınan kültürler.

Çizelge 3.3. Eksplantların dikildiği besin ortamları

ORTAMLAR	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	AGAR (g L)	SAKKAROZ (g L)
MS-1	0.5	0	7	30
MS-2	1.0	0	7	30
MS-3	1.5	0	7	30
MS-4	2.0	0	7	30
MS-5	2.5	0	7	30
MS-6	0.5	0.05	7	30
MS-7	1.0	0.05	7	30
MS-8	1.5	0.05	7	30
MS-9	2.0	0.05	7	30
MS-10	2.5	0.05	7	30
MS-11	0.5	0.1	7	30
MS-12	1.0	0.1	7	30
MS-13	1.5	0.1	7	30
MS-14	2.0	0.1	7	30
MS-15	2.5	0.1	7	30
NN-1	0.5	0	7	20
NN-2	1.0	0	7	20
NN-3	1.5	0	7	20
NN-4	2.0	0	7	20
NN-5	2.5	0	7	20
NN-6	0.5	0.05	7	20
NN-7	1.0	0.05	7	20
NN-8	1.5	0.05	7	20
NN-9	2.0	0.05	7	20
NN-10	2.5	0.05	7	20
NN-11	0.5	0.1	7	20
NN-12	1.0	0.1	7	20
NN-13	1.5	0.1	7	20
NN-14	2.0	0.1	7	20
NN-15	2.5	0.1	7	20

### 3.2.4. İncelenen özellikler

Kültürlerde dikimden sonraki dördüncü haftanın sonunda aşağıdaki özellikler incelenmiştir.

*Rejenere eksplant oranı (%)*: Rejenerasyon gösteren eksplant sayısının yaşayan eksplant sayısına oranlanmasıyla elde edilmiştir.

*Kallus oluşturan eksplant sayısı (adet)*: Yaşayan eksplantlardan kaç tanesinin kallus oluşturduğu sayılarak elde edilmiştir.

*Kallus kalitesi (%)*:

- I. Tip Kallus:** Beyaz, sarı renkli, sert kırılğan yapıda sağlıklı görünümdeki kalluslar.
- II. Tip Kallus:** Sarımsı kahve ya da kahverenginin değişik tonları, sulu yumuşak, kolay dağılabilen ya da beyaz pamuksu sağlıksız görünüme sahip kalluslar.



Şekil 3.6. Elde edilen kallusların kalite özellikleri a) I. tip kallus, b) II. tip kallus. (Kekin, N., ve Kunter B., 2010).

*Kallus oluşturma oranı (%)*: Kallus oluşturan eksplant sayısının yaşayan eksplant sayısına oranlanmasıyla elde edilmiştir (Aykanat, 2016).

Farklı kallus dereceleri (Aykanat, 2016):

- 1: Canlı hiç kallus yok (gelişme yok)
- 2: Eksplantın belli bir kısmında kallus var
- 3: Eksplantın her tarafında kallus var

Çalışma sonucunda elde edilen değerlerde sonuçlar doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan % değerleri üzerinden ifade edilmiştir.





#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Erciş üzüm çeşidinin rejenerasyon potansiyelini belirlemek amacıyla iki farklı büyümeyi düzenleyici madde (NAA, BAP) ilave edilmiş iki farklı ortamda (NN ve MS) kültüre alınan yaprak ayası eksplantlarının dikimden sonraki ondört gün içinde hacimlerinin arttığı gözlenmiştir. Dikimi takip eden 18. günden itibaren kalluslar, indirekt (İ) adventif kök oluşumu gösterirken, bir kısmının herhangi bir gelişme göstermeden aynı kaldığı (Şekil 4.1) ya da kahverengileşerek canlılıklarını kaybettikleri görülmüştür. Değerlendirmeler yaşayan eksplantlar üzerinden yapılmıştır. NAA ilave edilmeyip sadece BAP'ın değişik konsantasyonlarının ilave edildiği her iki ortamda da kallus, rejenerasyon ve adventif kök oluşumu meydana gelmemiştir (Şekil 4.1).

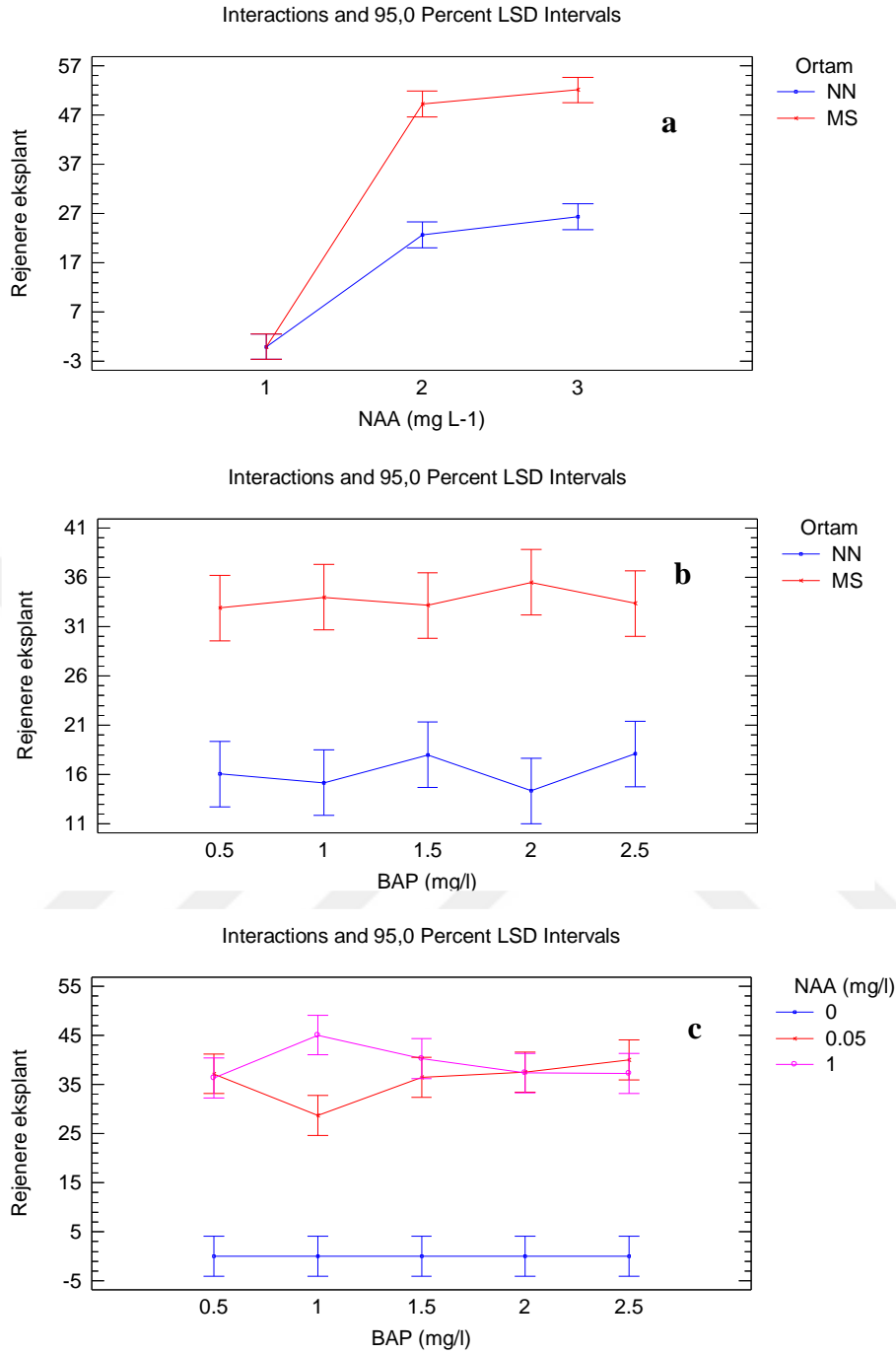


Şekil 4.1. Herhangi bir gelişme göstermeyen yaprak eksplantları ve Adventif kök oluşumu şeklinde rejenere olan kalluslar.

*Rejenere eksplant oranı (%)*: Çizelge 4.1 incelendiğinde her iki ortam için de en yüksek rejenerasyon oranının (NN ortamında % 31.25; MS ortamında % 58.82) 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l BAP konsantrasyonundan elde edildiği görülmektedir. Rejenerasyon sadece adventif kök oluşumu şeklinde gerçekleşmiş (Şekil 4.2), adventif sürgün elde edilemediğinden bitkiye dönüşüm elde edilememiştir. Bu durumun genotip etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre rejenere eksplant oranı (%) bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 4.1. Erciş üzüm çeşidinin rejenere eksplant oranı

ORTAMLAR	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Yaşayan eksplant sayısı	Rejenere eksplant oranı (%)
NN-1	0.5	0	74	0
NN-2	1.0	0	78	0
NN-3	1.5	0	77	0
NN-4	2.0	0	82	0
NN-5	2.5	0	78	0
Max			82	0
Min			74	0
NN-6	0.5	0.05	80	27.63
NN-7	1.0	0.05	83	14.29
NN-8	1.5	0.05	79	24.19
NN-9	2.0	0.05	83	18.46
NN-10	2.5	0.05	75	28.57
Max			83	28.57
Min			75	14.29
NN-11	0.5	0.1	81	20.59
NN-12	1.0	0.1	85	31.25
NN-13	1.5	0.1	80	29.85
NN-14	2.0	0.1	72	24.59
NN-15	2.5	0.1	81	20.59
Max			92	31.25
Min			85	20.59
MS-1	0.5	0	82	0
MS-2	1.0	0	88	0
MS-3	1.5	0	90	0
MS-4	2.0	0	87	0
MS-5	2.5	0	90	0
Max			90	0
Min			82	0
MS-6	0.5	0.05	88	46.67
MS-7	1.0	0.05	91	43.04
MS-8	1.5	0.05	90	48.78
MS-9	2.0	0.05	87	56.41
MS-10	2.5	0.05	88	51.32
Max			91	56.41
Min			88	43.04
MS-11	0.5	0.1	85	51.95
MS-12	1.0	0.1	92	58.82
MS-13	1.5	0.1	86	50.67
MS-14	2.0	0.1	88	50.00
MS-15	2.5	0.1	91	48.75
Max			92	58.82
Min			85	48.75



Şekil 4.2. Rejenere eksplant oranlarına ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.

a) NAA ortamlara etkisi b) BAP'ın ortamlara etkisi c) BAP'ın NAA etkisi

*Kallus oluşturan eksplant sayısı (adet):* Her iki ortamda da en yüksek kallus oluşturan eksplant sayısı (NN ortamında 80; MS ortamında 85) 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir (Çizelge 4.2., Şekil 4.2). Bu özellik bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği görülmektedir.

Çizelge 4.2. Erciş üzüm çeşidinin kallus oluşturan eksplant sayısı (n)

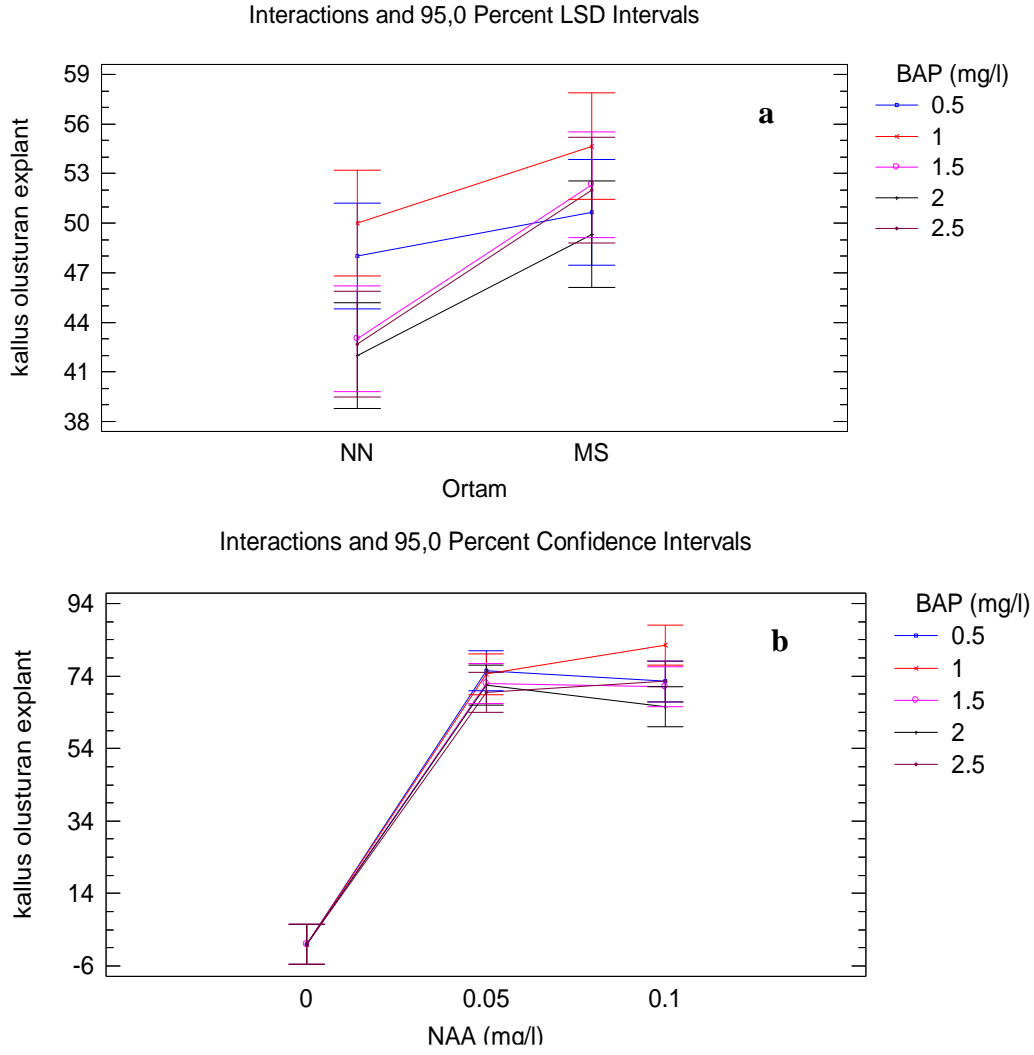
ORTAMLAR	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Kallus oluşturan eksplant sayısı (n)
NN-1	0.5	0	0
NN-2	1.0	0	0
NN-3	1.5	0	0
NN-4	2.0	0	0
NN-5	2.5	0	0
NN-6	0.5	0.05	76
NN-7	1.0	0.05	70
NN-8	1.5	0.05	62
NN-9	2.0	0.05	65
NN-10	2.5	0.05	63
NN-11	0.5	0.1	68
<u>NN-12</u>	<u>1.0</u>	<u>0.1</u>	<u>80</u>
NN-13	1.5	0.1	67
NN-14	2.0	0.1	61
NN-15	2.5	0.1	65
MS-1	0.5	0	0
MS-2	1.0	0	0
MS-3	1.5	0	0
MS-4	2.0	0	0
MS-5	2.5	0	0
MS-6	0.5	0.05	75
MS-7	1.0	0.05	79
MS-8	1.5	0.05	82
MS-9	2.0	0.05	78
MS-10	2.5	0.05	76
MS-11	0.5	0.1	77
<u>MS-12</u>	<u>1.0</u>	<u>0.1</u>	<u>85</u>
MS-13	1.5	0.1	75
MS-14	2.0	0.1	70
MS-15	2.5	0.1	80

Kallus oluşturan eksplant sayısı açısından ortam ve NAA dozları arasında istatistiki farklılık oluşmuştur. NN ortamı ortamlar içinde öne çıkarken, NAA dozları açısından 0.05 ile 0.1 (mg/l) aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	S.D.	K.T.	K.O.	F-Değeri	
A:Ortam (NN,MS)	333.333	1	333.333	28.74	***
B:NAA	35235.5	2	17617.7	1518.77	***
C:BAP	152.8	4	38.2	3.29	Ö.D.
İnteraksiyonlar					
AB	169.867	2	84.9333	7.32	*
AC	52.0	4	13.0	1.12	Ö.D.
BC	195.2	8	24.4	2.10	Ö.D.
Hata	92.8	8	11.6		
Toplam	36231.5	29			

\*\*\*: (p<0.001); \*\*: (p<0.01); \*: (p<0.05); Ö.D.: Önemli Değil



Şekil 4.3. Kallus oluşturan eksplant sayısına ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.

a) Ortamların ve BAP'ın etkisi b) BAP'ın NAA etkisi

*Kallus kalitesi (%)*: Benzer şekilde her iki ortamda da kallus kalitesi bakımından en iyi konsantrasyon 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l BAP olarak saptanmıştır. NN ortamında I. Tip kallus oluşumu en yüksek % 60 oranında meydana gelirken; MS ortamında % 52.94 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.3). Kallus kalitesi (%) bakımından NN ortamının MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 4.4. Erciş üzüm çeşidinin kallus kalitesi (%)

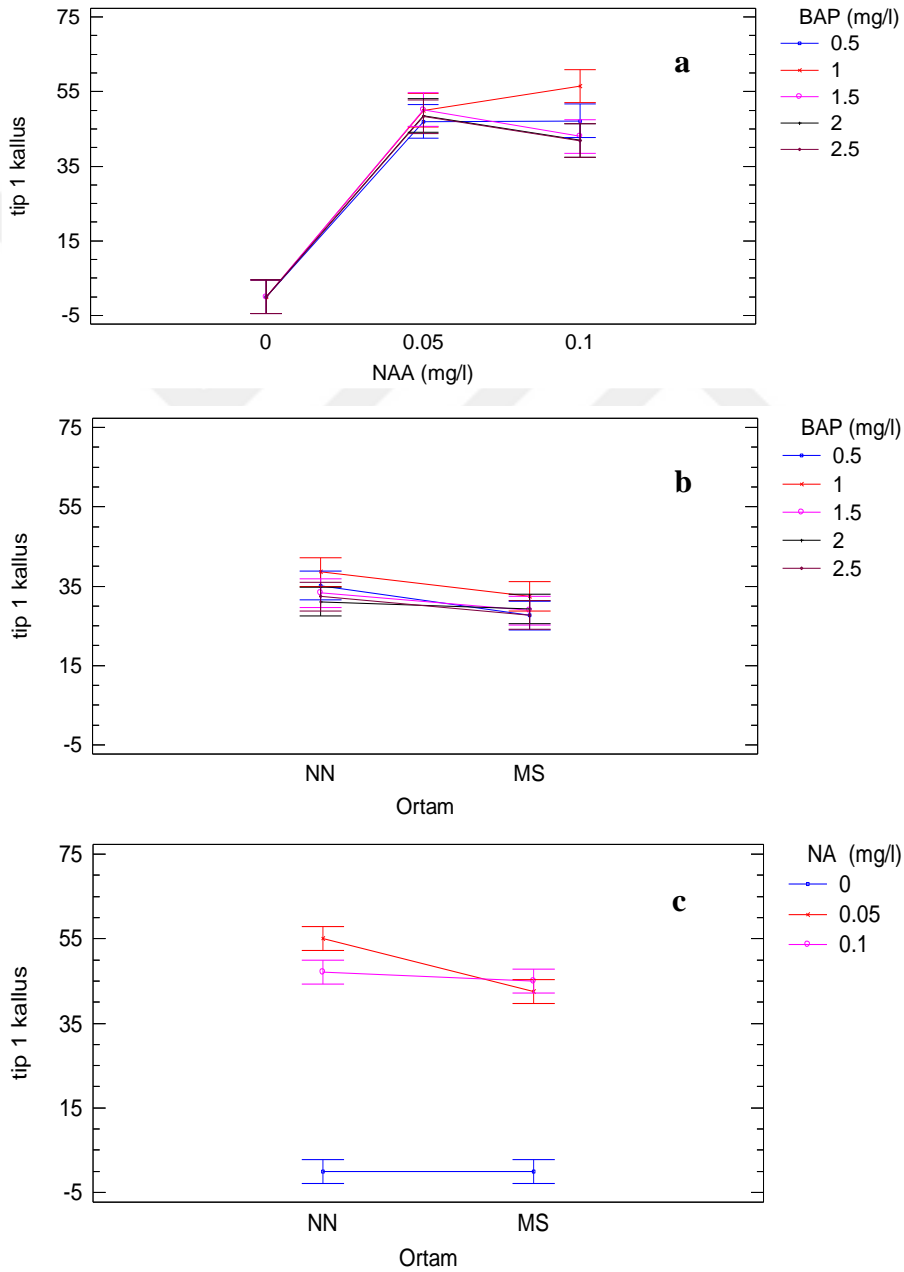
ORTAMLAR	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Kallus Kalitesi (%)	
			I.	II.
NN-1	0.5	0	0	0
NN-2	1.0	0	0	0
NN-3	1.5	0	0	0
NN-4	2.0	0	0	0
NN-5	2.5	0	0	0
NN-6	0.5	0.05	53.95	46.05
NN-7	1.0	0.05	55.71	44.29
NN-8	1.5	0.05	56.45	43.55
NN-9	2.0	0.05	52.31	47.69
NN-10	2.5	0.05	57.14	42.86
NN-11	0.5	0.1	51.47	48.53
<u>NN-12</u>	<u>1.0</u>	<u>0.1</u>	<u>60.00</u>	40.00
NN-13	1.5	0.1	43.28	56.72
NN-14	2.0	0.1	40.98	59.02
NN-15	2.5	0.1	40.00	60.00
MS-1	0.5	0	0	0
MS-2	1.0	0	0	0
MS-3	1.5	0	0	0
MS-4	2.0	0	0	0
MS-5	2.5	0	0	0
MS-6	0.5	0.05	40.00	60.00
MS-7	1.0	0.05	44.30	55.70
MS-8	1.5	0.05	43.90	56.10
MS-9	2.0	0.05	44.87	55.13
MS-10	2.5	0.05	39.47	60.53
MS-11	0.5	0.1	42.86	57.14
<u>MS-12</u>	<u>1.0</u>	<u>0.1</u>	<u>52.94</u>	47.06
MS-13	1.5	0.1	42.67	57.33
MS-14	2.0	0.1	42.86	57.14
MS-15	2.5	0.1	43.75	56.25

Kallus kalitesi açısından ortam açısından önemli ve NAA dozları arasında oldukça önemli istatistiksel farklılık oluşmuştur. NN ortamlar içinde öne çıkarken, NAA dozları açısından 0.05 ile 0.1 (mg/l) aynı grupta yer almışlardır. BAP konsantrasyonları arasında farklılık gözlenmemiştir. (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	S.D.	K.T.	K.O.	F-Değeri	
A:Ortam (NN,MS)	180.909	1	180.909	7.70	*
B:NAA	15044.4	2	7522.2	320.10	***
C:BAP	119.447	4	29.8618	1.27	Ö.D.
Hata	516.994	22	23.4997		
Toplam	15861.8	29			

\*\*\*: (p<0.001); \*\*: (p<0.01); \*: (p<0.05); Ö.D: Önemli Değil



Şekil 4.4. Kallus kalitesi (%) Ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.

a) BAP'ın NAA etkisi b) BAP'ın ortamlara etkisi c) NAA ortamlara etkisi

*Kallus oluşturma oranı (%)*: Kallus oluşturma oranı bakımından beklenen sonuç eksplanti çepeçevre sarmış olan I. Tip bir kallus oluşumudur. Çalışmada bu bağlamda en başarılı sonuçlar her iki ortam için de (NN için %96.25; MS için %98.82) 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l BAP konsantrasyonu üzerindeki eksplantlardan sağlanmıştır (Çizelge 4.6.). Kallus oluşturma oranı (%) bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.

Çizelge 4.6. Erciş üzüm çeşidinin kallus oluşturma oranı (%)

ORTAMLAR	BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Kallus Kalitesi (%)		
			I.	II.	
NN-1	0.5	0	100	0	0
NN-2	1.0	0	100	0	0
NN-3	1.5	0	100	0	0
NN-4	2.0	0	100	0	0
NN-5	2.5	0	100	0	0
NN-6	0.5	0.05	5.00	13.16	86.84
NN-7	1.0	0.05	15.66	7.14	92.86
NN-8	1.5	0.05	21.52	11.29	88.71
NN-9	2.0	0.05	21.69	9.23	90.77
NN-10	2.5	0.05	16.00	6.35	93.65
NN-11	0.5	0.1	16.05	5.88	94.12
<u>NN-12</u>	<u>1.0</u>	<u>0.1</u>	5.88	3.75	<u>96.25</u>
NN-13	1.5	0.1	16.25	10.45	89.55
NN-14	2.0	0.1	15.28	8.20	91.80
NN-15	2.5	0.1	12.50	8.57	91.43
MS-1	0.5	0	0	100	0
MS-2	1.0	0	0	100	0
MS-3	1.5	0	0	100	0
MS-4	2.0	0	0	100	0
MS-5	2.5	0	0	100	0
MS-6	0.5	0.05	14.77	8.00	92.00
MS-7	1.0	0.05	13.19	11.39	88.61
MS-8	1.5	0.05	8.89	4.88	95.12
MS-9	2.0	0.05	10.34	7.69	92.31
MS-10	2.5	0.05	13.64	7.89	92.11
MS-11	0.5	0.1	9.41	7.79	92.21
<u>MS-12</u>	<u>1.0</u>	<u>0.1</u>	7.61	1.18	<u>98.82</u>
MS-13	1.5	0.1	12.79	9.33	90.67
MS-14	2.0	0.1	20.45	14.29	85.71
MS-15	2.5	0.1	12.09	12.50	87.50

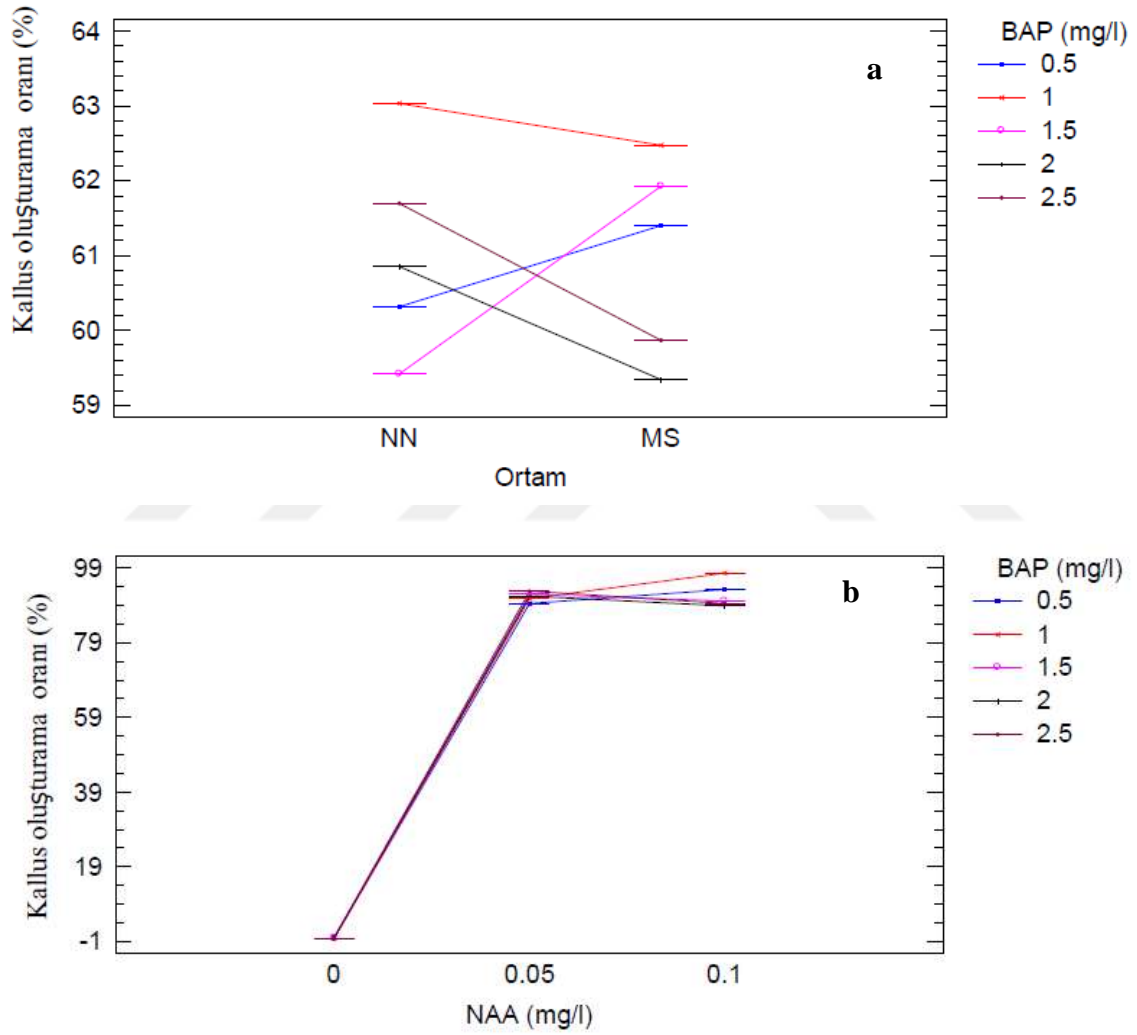
Kallus oluşturma oranı açısından ortam açısından fark bulunmamıştır. NAA dozları arasında oldukça önemli istatistiki farklılık oluşmuştur. NAA dozları açısından 0.05 ile 0.1 (mg/l) aynı grupta yer almışlardır. BAP konsantrasyonları arasında farklılık gözlenmemiştir. (Çizelge 4.7., Şekil 4.4.).



Çizelge 4.7. Kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	S.D.	K.T.	K.O.	F-Değeri	
A:Ortam (NN,MS)	0.0282133	1	0.0282133	0.01	Ö.D.
B:NAA	55879.7	2	27939.9	4962.47	***
C:BAP	24.3918	4	6.09795	1.08	Ö.D.
Hata	45.0419	8	5.63024		
Toplam	56075.3	29			

\*\*\*: (p<0.001); \*\*: (p<0.01); \*: (p<0.05); Ö.D: Önemli Değil



Şekil 4.5. Kallus oluşturma oranı (%) Ortam, NAA ve BAP'ın etkileri.

a) Ortamların ve BAP'ın etkisi b) BAP'ın NAA etkisi



Şekil 4.6. I. Tip kalluslar

Çalışmada ilginç bir bulgu NAA ilave edilmeyip sadece BAP'ın değişik konsantrasyonlarının ilave edildiği her iki ortamda da rejenerasyon ya da kallus oluşumunun meydana gelmemesidir. Buna neden olarak kallus oluşumunun teşviki için oksin miktarının sitokin miktarından fazla olması ile kallus oluşumunun sürekliliği ve gelişimi için belli bir oksin-sitokin dengesinin sağlanmasının gerekliliği gösterilebilir (Gönülşen ve Özcan, 1983).

Asmada *in vitro* rejenerasyon, moleküler ıslah çalışmalarında neredeyse vazgeçilmez bir yöntemdir. Çeşitlenmiş çeşide değişiklik gösterdiği için Asmada kullanılabilir doku kültürü rejenerasyon protokolü bulunmakta, kullanılan protokollerde ise uygulanmasındaki kolaylık nedeniyle yaprak eksplantları öne çıkan eksplant kaynağı olarak bildirilmektedir (Stamp ve ark., 1990a ve Stamp ve ark., 1990b; Colby ve ark., 1991; Özden ve ark., 2008, Keskin ve Kunter, 2010). Asmada *in vitro* rejenerasyon başarısı genel olarak genotip, eksplant kaynağı, kültür koşulları ve kültür ortamlarına ilave edilen büyümeyi düzenleyici madde (oksin/sitokin) konsantrasyonlarının etkileşimine bağlıdır (Özden ve ark., 2008). Araştırma sürecinde alınan bulgulara göre kültür ortamlarının bünyesinde bulunan bitki büyüme düzenleyicileri (BAP ve NAA) değişik konsantrasyonları ve kombinasyonunun rejenerasyon eksplant oranı (%), kallus oluşturan eksplant miktarı (adet), kallus kalitesi (%) ve kallus oluşturma oranı (%) üzerine farklı etki yaptığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen tüm özellikler bakımından en iyi sonuç her iki ortama da ilave edilen 0.1 mg/l NAA + 1.0 mg/l BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir. Benzer şekilde Özden ve

ark., (2008), Öküzgözü ve Boğazkere üzüm çeşitlerinde yapmış oldukları rejenerasyon protokolü çalışmasında NAA ve BAP'ın farklı kombinasyonlarını içeren NN besin ortamında dikmiş oldukları yaprak eksplantlarından her iki çeşit için de en yüksek kallus oluşumu (%), kallus oranı (%), ortalama adventif sürgün sayısı (adet/eksplant)'nı 0.5 mg/l BA ve 0.05 mg/l NAA içeren kültür ortamlarından elde etmiştir.

“*In vitro* çalışmalarında başarıyı etkileyen faktörlerin başında kültür ortamı bileşenleri, büyümeyi düzenleyiciler, eksplant kaynağı ve çevresel şartlar gelmektedir. Daha önceki çalışmalarda düşük konsantrasyonda BAP kullanıldığı zaman eksplantların çoğunda adventif yapıların oluşmadığı, daha yüksek düzeyde (2-3 mg/l) BAP kullanımının ise adventif oluşumları teşvik ettiği belirtilmektedir.” (Clog ve ark., 1990; Baydar 2000; Özden ve ark., 2008). Çalışmada her iki ortama da ilave edilen düşük konsantrasyonlu NAA ve BAP konsantrasyonlarından kallus elde edilmiş, sonrasında bu kalluslardan ise indirekt adventif kökler meydana gelmiştir. Benzer şekilde Baydar (2000) ile Özden ve ark., (2008), yapmış oldukları çalışmalarında NN ortamına değişik konsantrasyonlarda NAA ve BAP ilave etmiş oldukları eksplantlar üzerinde yoğun kallus oluşumu gözlediklerini belirtmişlerdir.

Çalışmada iki farklı temel besin ortamı kullanılmış olup, elde edilen sonuçların on beş farklı kombinasyon ortama göre büyük ölçüde değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre rejenere eksplant oranı (%), kallus oluşturan eksplant sayısı (adet) ve kallus oluşturma oranı (%) bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenirken, kallus kalitesi (%) bakımından NN ortamının MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Benzer şekilde “Gök Tangolar (2002), adventif göz oluşumu üzerine MS besin ortamının NN ve B5 ortamlarına göre daha başarılı sonuçlar verdiğini tespit etmiştir.” Büyükdemirci (1997), Valiant, Chancellor ve St. Croix üzüm çeşitlerinin *in vitro* rejenerasyonu üzerine yapmış olduğu çalışmasında NN ortamının MS ortamından daha yüksek rejenerasyon yüzdesi oluşturduğunu saptamıştır. Kullanılmış olan ortamlar *in vitro* kültürde neticeye etki eden faktörlerin en önemlisi olduğu değişik araştırmacılar tarafından da vurgulanmaktadır (Stamp ve Meredith, 1988; Matsuta ve Hirabayashi 1989; Göktürk Baydar 2000; Göktürk Baydar ve Çetin 2003; Özden ve ark., 2008).



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Erciş üzüm çeşidinin biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılığının artırılması yönünde yapılacak biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmak amacıyla bu çeşidin *in vitro* sürgünlerinden elde edilen yaprak eksplantlarından rejenerasyon potansiyeli ortaya konmuştur.

Günümüzde modern ıslah yöntemlerinden birisi olan *in vitro* kültür tekniklerinin bitki ıslahında kullanılması hem zamandan hem de uzun vadede uygulandığında ekonomik açısından büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Söz konusu tekniklerin, bitki ıslahında kullanılabilmesi için ise kültüre alınan doku, organ ya da hücrelerden yüksek oranda bitki rejenerasyonunun sağlanması gerekmektedir. Bunun için çalışılacak olan bitki materyalinde rejenerasyonu etkileyen faktörlerin (besin ortamın bileşimi, sıcaklık ve ışık dereceleri, eksplant tipi, ortam ilave edilecek büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonu ve kombinasyonu) neler olduğunun kesin olarak bilinmesi ve uygun protokollerinin hazırlanması gerekmektedir.

Asmada *in vitro* rejenerasyonda başarı büyük ölçüde genotip, eksplant kaynağı, besin ortamı ve ortama ilave edilen bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonuna göre değişmektedir. Bu nedenle gelecekte Erciş üzüm çeşidinin rejenerasyon kapasitesinin artırılması amacıyla yapılacak olan çalışmalarda farklı eksplant kaynağı, farklı besin ortamları ve farklı büyümeyi düzenleyici maddelerin kullanılması önerilebilir. Böylece biyoteknolojik araştırmaların başlangıcında çalışılacak çeşit için uygun bitki rejenerasyon protokolünün belirlenmesi mümkün olabilecektir.

Çalışmada kültür koşulları olarak sadece karanlık uygulaması yapılmıştır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda aydınlık koşullar özellikle de son zamanlarda üzerinde durulan LED aydınlatmaların rejenerasyon üzerindeki etkileri çalışılabilir.

Van ili asma gen kaynakları içerisinde öne çıkan bir çeşit olan Erciş üzüm çeşidinin *in vitro* rejenerasyon potansiyeli üzerine günümüze kadar çok az çalışma yapılmıştır (Keskin ve Kunter, 2007; Keskin ve Kunter, 2010). Yapılan bu çalışmanın gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Acanda, Y., M.J. Prado, M.V. González, and M. Rey, 2013. Somatic embryogenesis from stamen filaments in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Mencía): changes in ploidy level and nuclear DNA content. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, **49**: 276-284.
- Altun, O. Yürekli, A.K. 2000. *Vitis vinifera* L. cv. Sultani (Vitaceae)'de in vitro kalsiyum değişiminin kallogenez ve regenerasyon üzerine etkisi. *BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2**: 4-12.
- Aykanat, A. 2016. *Asma Ağlama Suyunun İn Vitro Besin Ortamı Olarak Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi* (yüksek lisans tezi). Van Yüzüncü Yıl Üni. Fen Bilimleri Enst., Van.
- Babalık, Z. 2006. *Asmada Farklı Eksplantların İn Vitro Rejenerasyonları Üzerine Bir Araştırma*, (yüksek lisans tezi). Süleyman Demirel Üni. Fen Bilimleri Enst., Isparta.
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A., 2001. *Doku Kültürü: Temel Laboratuvar Teknikleri*. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Editörler: Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. Konya, s.1-35.
- Baydar, NG, 2000. Asmada (*Vitis* spp.) yapraklardan adventif sürgün oluşumu üzerine bir araştırma. *Turkish J. Biol. Tübitak*, **24**: 645–656.
- Bayır, A. 2003. *Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ve Asma Anaçlarının Kallus Kültürü Yoluyla İn Vitro Rejenerasyonu Üzerine Araştırmalar*, (yüksek lisans tezi). Akdeniz Üni. Fen Bilimleri Enst., Antalya.
- Büyükdemirci, H., 1997. *In vitro Direct Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Leaves and Axillary Buds of Grapevine (Vitis spp.)*. Fac. of the Graduate Col. at the Univ. of Nebraska (MSc Thesis),122 s.
- Chao, Y., Feng, J.C, Yan W., Xiao Y.A.N.G, Jun Y.Y., Jun J., 2015. Effects of exogenous growth regulators on cell suspension culture of “Yinhong” grape (*Vitis vinifera* L.) and establishment of the optimum medium. *Pak J. Bot*, **47**:77-81.
- Clog, E., Bass, P., Walter, B., 1990. Plant regeneration by organogenesis in *Vitis* rootstock species. *Plant Cell Reports*, **8**: 726-728.
- Colby, S. M., Juncosa, A. M., Meredith, C. P. 1991. Cellular differences in *Agrobacterium* susceptibility and regenerative capacity restrict the development of transgenic grapevines. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **116**: 356-361.
- Cutanda, M.C., A. Bouquet, P. Chatelet, G. Lopez, O. Botella, F.J. Montero and L. Torregrosa. 2008. Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Vitis vinifera* cultivars' Macabeo'and'Tempranillo'. *Vitis*, **47**:159-162.
- Gök Tangolar, S. 2002. *Asmalarda Somatik Embriyogenesis ve Organogenesis Yoluyla Bitki Elde Edilmesi*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (doktora tezi), 165 s., Adana.
- Göktürk Baydar, N., 2000. Asmada (*Vitis* spp.) yapraklardan adventif sürgün oluşumu üzerine bir araştırma. *Turk J. Biol.*, **24**: 645-656.
- Göktürk Baydar, N., Çetin, S., 2003. *Asma Yaprak Eksplantlarının İn Vitro Gelişmeleri Üzerine Genotip, Eksplant Tipi ve Besin Ortamlarının Etkileri*. 13. Biyoteknoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, 99-104, Çanakkale.

- Gönülşen, N., Özcan, Ö., 1983. Asma (*Vitis* spp.)'nın doku kültürü ile üretilmesi üzerine araştırmalar, **Tübitak TOAG VII. Bil. Kong.**, 455-466.
- Harst, M., 1995. Development of a regeneration protocol for high frequency somatic embryogenesis from explants of grapevines (*Vitis* spp.). **Vitis**, **34**: 27-29.
- Jaskani, M.J., H. Abbas, R. Sultana, M.M. Khan, M. Qasim, I.A. Khan, 2008. Effect of growth hormones on micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. Perlette. **Pakistan J. Bot.**, **40**:105-109.
- Karauz, A. 2013. **Melezleme Islahı İle Elde Edilen Bazı Üzüm Çeşitlerinin Ebeveyn Analizleri Ve Çekirdeksiz Fertlerin Marköre Dayalı Seleksiyonu**, (yüksek lisans tezi). Namık Kemal Üni. Fen Bilimleri Enst., Tekirdağ.
- Keskin, N., B. Kunter, 2007. Induction of resveratrol via UV irradiation effect in Ercis callus culture. **Journal of Agricultural Science**, **13**:379-384.
- Keskin, N., B. Kunter, 2008. Production of transresveratrol in 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) callus culture in response to ultraviolet-C irradiation. **Vitis**, **47**:193-196.
- Keskin, N., Kunter, B. 2010. asmada (*Vitis vinifera* l.) *in vitro* I. tip kallus eldesi üzerine çeşit, besin ortamı ve eksplant tipinin etkisi. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi**, **20**: 100-106.
- Khan N., M. Ahmed, I. Hafız, N. Abbasi, S. Ejaz, and M. Anjum, 2015. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. **Oeno One**, **49**: 37-45.
- Kwon, Y. J., Lee, C. H., Hyung, N. I. 2001. Effects of medium composition and culture condition on plant regeneration via organogenesis of Kyoho grape. **Journal-Korean Society For Horticultural Science**, **41**: 276-280.
- López-Pérez, A.J., J. Carreño, A. Martínez-Cutillas and M. Dabauza, 2005. High embryogenic ability and plant regeneration of table grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) induced by activated charcoal. **Vitis**, **44**:79-85.
- Martinelli, L., Candioli, E., Costa, D., Poletti, V., Rascio, N. 2001. Morphogenic competence of secondary somatic embryos with a long culture history. **Plant Cell Rep.** **20**: 279-284.
- Martinelli, L., Poletti, V., Bragagna, P., Poznanski, E., 1996. A Study on Organogenic Potential in the *Vitis* Genus. **Vitis**, **35** :159-161.
- Matsulta N., Hirabayashi T. 1989. Embryogenic cell lines from somatic embryos of grape (*Vitis vinifera* L.). **Plant Cell Rep.** **7**: 684-687
- Murashige,T. and Skoog,F. (1962) **Physiol. Plant**, **15**, 473
- Nakajima, I., Kobayashi, S., Nakamura, Y. 2000. Embryogenic callus induction and plant regeneration from unfertilized ovule of 'Kyoho' grape. **J. Japan. Soc. Hort. Sci.** **69**: 186-188.
- Nitsch, J. and Nitsch, C., 1969. **Haploid Plants from Pollen Grains. Science**, **163**: 85-87.
- Özden, M., Demirer, U., Gürsöz, S. 2008. Öküzgözü ve Boğazkere (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşitlerinin yaprak eksplantlarından organogenesis yoluyla bitki rejenerasyonu. **Harran Üni. Ziraat Fakültesi Dergisi**, **12**:41-49.
- Pehlivan, E. C., Kunter, B., Daneshvar Royandazagh, S. 2017. Choise of Explant Material and Media for in vitro Callus Regeneration in Sultana Grape Cultivar (*Vitis vinifera* L.), **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, Özel Sayı: 30-34.



- Perl, A., S. Saad, N. Sahar and D. Holland, 1995. Establishment of long-term embryogenic cultures of seedless *Vitis vinifera* cultivars – a synergistic effect of auxins and the role of abscisic acid. *Plant Science*, **104**:193-200.
- Purnhauser, L., P. Medgyesy, M. Czako, P. J. Dix and L. Marton. 1987. Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNO<sub>3</sub>. *Plant Cell*, **6**: 1-4.
- Rajasekaran, K., Mullins, M.G., 1981. Organogenesis in Internode Explants of Grapevines. *Vitis*, **20** :218-227.
- Salunkhe, C.K., Rao, P.S. and Mhatre, M., 1997. Induction of somatic embryogenesis and plantlets in tendrils of *Vitis vinifera* L. *Plant Cell Reports*, **17**:65-67.
- Stamp, J.A., Colby, S.M., Meredith, C.P., 1990a. Improved shoot organogenesis from leaves of grape. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **115**:1038-1042.
- Stamp, J.A., Colby, S.M., Meredith, C.P., 1990b. Direct Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Leaves of Grape (*Vitis* spp.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **22**: 127-133.
- Stamp, J.A., Meredith, C.P., 1988. Somatic embryogenesis from leaves and anthers of grapevine. *Scientia Horticulturae*, **35**: 235-250.
- Tassoni, A., S. Fornalè, M. Franceschetti, F. Musiani, A.J. Michael, B. Perry and N. Bagni, 2005. Jasmonates and Na-orthovanadate promote resveratrol production in *Vitis vinifera* cv. Barbera cell cultures. *New Phytologist*, **166**: 895-905.
- Torregrosa, L., Torres-Vials, M., Bouquet, A., 1995. Somatic Embryogenesis from Leaves of *Vitis* X *Muscadinia* Hybrids. *Vitis*, **34** :239-240.
- Vnuchkova, V. A., I. I. Maryakima and G. I. Eisner. 1993. Effect of acetone in the culture medium on the regeneration efficiency and on the resistance to root of regenerants of various plant species. *Plant Cell Rep.*, **12**: 577-580.
- Xu, X., J. Lu, Z. Ren, H. Wang and S. Leong, 2005. Callus induction and somatic embryogenesis in muscadine and seedless bunch grapes (*Vitis*) from immature ovule culture. *In Proc. Fla. State Hort. Soc* , **118**:260-262.
- Yıldırım, H., Özdemir, G., Çalar, N., 2016. Öküzgözü ve Boğazkere üzüm çeşitlerinde *in vitro* kültür başlatma üzerine eksplant tipinin etkisi. *Bahçe*, Özel Sayı, **45**: 607-611.
- Zhang, J., H. Ma, S. Chen, M. Ji, A. Perl, L. Kovacs and S. Chen, 2009. Stress response proteins' differential expression in embryogenic and non-embryogenic callus of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon-a proteomic approach. *Plant Science*, **177**:103-113.



## ÖZ GEÇMİŞ

1991 yılında Mardin’de doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Mardin’de tamamladıktan sonra 2010 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’ne kayıt yaptırdı. 2014 yılında Bahçe Bitkileri Bölümü’nden mezun oldu. 2014 yılında Van YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisansa başladı.



VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 10/08/2018

Tez Başlığı / Konusu

ERCİŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNİN *in vitro* REJENERASYON  
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Bulgular, Tartışma ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 13 sayfalık kısmına ilişkin, 10/08/2018 tarihinde Fen Bilimleri Enstitüsü görevlisi tarafından *Turnitin* intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinalite raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 18 (onsekiz) 'dir. Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinalite Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

  
10/08/2018  
Kinem ASLAN

Adı Soyadı: Kinem ASLAN

Öğrenci No: 149101087

Anabilim Dalı: Bahçe Bitkileri

Programı: Bahçe Bitkileri

Statüsü: Y.Lisans  Doktora

DANIŞMAN ONAYI  
UYGUNDUR



Dr. Öğr. Üyesi Adnan DOĞAN

ENSTİTÜ ONAYI  
UYGUNDUR

  
Dr. Sinan ŞENSOY  
Enstitü Müdürü

(Unvan, Ad Soyad, İmza)