

**T.C
MALATYA TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**MALATYA YÖRESİ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDEN KÖHNÜ VE
BANAZKARA'NIN *İN VİTRO* ÇOĞALTIMI**

CANAN KARAKUŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

TEMMUZ 2020

Onay Sayfası

Tezin Başlığı: Malatya Yöresi Üzüm Çeşitlerinden Köhnü ve Banazkara'nın *In Vitro* Çoğaltımı

Tezi Hazırlayan: Canan KARAKUŞ

Sınav Tarihi: 14/07/2020

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hakan YILDIRIM
Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Eş Danışman: Prof. Dr. Gültekin ÖZDEMİR
Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Hüseyin KARATAŞ
Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Kazım GÜNDÜZ
Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Elif APOHAN
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ Malatya Yöresi Üzüm Çeşitlerinden Köhnü ve Banazkara'nın *İn Vitro* Çoğaltımı” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Canan KARAKUŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Malatya Yöresi Üzüm Çeşitlerinden Köhnü ve Banazkara'nın *In Vitro* Çoğaltımı

Canan KARAKUŞ

Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

44 + X sayfa

2020

Danışman: Prof. Dr. Hakan YILDIRIM

Bu çalışma 2018-2019 yılları arasında Malatya Turgut Özal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında yürütülmüştür. Bu çalışmanın amacı, Malatya yöre ekonomisi için önemli bir yere sahip olan Banazkara ve Köhnü üzüm çeşitlerinin gerek biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanımının belirlenmesi, gerekse bu çeşitlerin üstün vasıflarına yeni özelliklerin eklenmesi; virüsten ari bitki üretiminin gerçekleştirilmesi amacıyla önümüzdeki süreçte yapılacak ıslah çalışmalarının desteklenmesi ve ıslah süreçlerinin kısaltılması ve iyileştirilmesi için biyoteknolojik çalışmaların zeminini oluşturmak ve ihtiyaç halinde genetik kaynak olarak muhafazasını sağlamaktır. Çalışmada sürgünlerden alınan mikro çeliklere yüzey sterilizasyonu uygulanarak 30 g/l sukroz ve 1 mg/l BAP içeren MS ortamına aktarılarak kültür başlatılmıştır. Elde edilen 0.5-1 cm'lik sürgün uçları ile farklı besi ortamları, MS besi ortamının kuvvetleri, farklı şeker tipleri, BAP kuvvetleri ve BAP ile destekli besi ortama ilave edilen farklı dozlardaki NAA/IBA'nın proliferasyona etkileri incelenmiştir. Sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla oksin grubu bitki büyüme düzenleyicilerin etkileri araştırılmıştır. Deneyle sonunda sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, nod sayısı, kök sayısı ve kök uzunluğu parametreleri incelenmiştir. Yapılan gözlemler ve elde edilen sonuçlara göre Banazkara'da proliferasyon için MS+ 30 mg/l sukroz+ 0.75 mg/l BAP ve/veya (0.6 mg/l BAP+ 0.1 mg/l NAA); köklendirme ortamında 1mg/l NAA'nın en uygun sonucu verdiği belirlenmiştir. Köhnü'de proliferasyon için MS+ 30 mg/l sukroz+ 1 mg/l BAP ve/veya (0.6 mg/BAP+ 0.3 mg/IBA); köklendirme ortamında 1 mg/l NAA'nın en uygun ortam olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Vitis sp.*, üzüm, Köhnü, Banazkara, *in vitro*, mikroçoğaltım, Malatya

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

In Vitro Propagation of Malatya Region Grape Varieties Köhnü and Banazkara

Canan KARAKUŞ

Malatya Turgut Özal University

Institute of Graduate Studies

Department of Horticulture

44 + X pages

2020

Supervisor: Prof. Dr. Hakan YILDIRIM

This study was carried out between 2018-2019 in Malatya Turgut Özal University Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, Plant Biotechnology Laboratory. The objectives of this study are to determine the resistance of Banazkara and Köhnü grape varieties, which have an important place for the local economy of Malatya, to the biotic and abiotic stress conditions, to add new features to their superior qualities, to support the breeding studies to be carried out in the next period to obtain virus-free plant production, to shorten and improve the breeding processes and to provide the basis for biotechnological studies for their improvement and to maintain them as genetic resources if needed. In the study, the culture was initiated by applying surface sterilization to micro cuttings taken from the shoots and transferred to MS medium containing 30 g/l sucrose and 1 mg/l BAP. The effects of different mediums, MS medium strength, different sugar types, BAP strengths, and different doses of NAA/IBA added to BAP-supported medium were examined using the 0.5-1 cm shoot-tips obtained. The effects of auxin group plant growth regulators were investigated to determine the rooting capabilities of the shoots. At the end of the experiments, the number of shoots, shoot length, the number of nodes, root number, and root length parameters were examined. According to the observations made and the results obtained, for proliferation in Banazkara variety, MS medium + 30 mg/l sucrose + 0.75 mg/l BAP and / or (0.6 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA) for rooting medium on the other hand, 1mg/l NAA has been determined as best. For the proliferation of Köhnü variety, MS medium + 30 mg /l sucrose + 1 mg /l BAP and/or (0.6 mg/BAP + 0.3 mg/IBA); and for rooting, 1 mg / l NAA determined as the most suitable.

Keywords: *Vitis sp.*, grape, Köhnü, Banazkara, *in vitro*, micropropagation, Malatya

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca gerek tez konumun belirlenmesinde gerekse de çalışma ortamımın hazırlanması için her türlü olanakları seferber eden, engin bilgi birikimleri ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum kıymetli danışman hocam sayın Prof. Dr. Hakan YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin teminine katkı sağlayan Kayısı Araştırma Enstitüsü müdürü Sayın Zir. Yük. Müh. Abdullah ERDOĞAN ve kurum personellerine teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve inandığım şeylerin peşinden gitmem için beni cesaretlendiren, yol gösteren aileme teşekkürü borç bilirim.

FBG-2018-953 numaralı "*Malatya Yöresi Meyve Genetik Kaynaklarının Doku Kültürüyle Çoğaltım Yöntemlerinin Geliştirilmesi*" adlı güdümlü araştırma projesi kapsamında Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarının kurulmasına vesile olan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) Komisyonuna verdikleri desteklerden ötürü teşekkür ederim.

Bu çalışmaya, *2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı* kapsamında destek veren TÜBİTAK- Bilim İnsanı Destekleme Programına (BİDEP) verdikleri katkı için teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ONUR SÖZÜ	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR ve SİMGELER	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETİ.....	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Bitkisel materyallerin özellikleri	14
3.1.1.1. Banazkara.....	14
3.1.1.2. Köhnü.....	15
3.2. Yöntem	15
3.2.1. Sterilizasyon teknikleri	15
3.2.1.1. Etüvde sterilizasyon	16
3.2.1.2. Otoklavda sterilizasyon	16
3.2.2. Laboratuvar kısımlarının organizasyonu	16
3.2.2.1. Steril odanın hazırlanması.....	16
3.2.2.2. Büyüme odasının hazırlanması	16
3.2.2.3. Aklimatizasyon için Bitki Büyüme Kabininin Kullanımı.....	16
3.2.2.4. Adaptasyon odasının hazırlanması.....	17
3.2.3. Stok çözeltilerin ve besi ortamlarının hazırlanması.....	17
3.2.4. Uygulamalar kapsamında yürütülen çalışmalar.....	20
3.2.4.1. Eksplantların hazırlanması ve sterilizasyon	20
3.2.4.2. Kültür başlatma çalışmaları	21
3.2.4.2.1. Farklı besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi	22
3.2.4.2.2. MS kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi.....	22
3.2.4.3. Sürgün çoğaltım (proliferasyon) çalışmaları.....	22
3.2.4.3.1. Şeker tiplerinin proliferasyona etkisi.....	23
3.2.4.3.2. BAP konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi	23

3.2.4.3.3. BAP içeren besi ortamına farklı oksin ilavesinin proliferasyona etkisi	23
3.2.4.4. Sürgün köklendirme çalışmaları	23
3.2.4.4.1. IBA ve NAA'nın köklenmeye etkisi	23
3.2.4.5. Aklimatizasyon (adaptasyon) çalışmaları	23
3.2.5. Verilerin değerlendirilmesi	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1. Farklı Besi Ortamlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	25
4.2. MS Kuvvetlerinin Kültür Başlatmaya Etkisi.....	26
4.3. Şeker Tiplerinin Proliferasyona Etkisi	28
4.4. BAP Konsantrasyonlarının Proliferasyona Etkisi	29
4.5. BAP İçeren Besi Ortamına Farklı Oksin İlavelerinin Proliferasyona Etkisi ...	31
4.6. Farklı Oksinlerin Köklenmeye Etkisi	33
4.7. Aklimatizasyon (adaptasyon) Çalışmaları.....	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	36
6. KAYNAKÇA	40
ÖZGEÇMİŞ	44

KISALTMALAR ve SİMGELER

MS: Murashige ve Skoog

QL: Quoirin ve Lepoivre

SH: Schenk ve Hildebrandt

WPM: Woody Plant Medium

BAP: 6- Benzilaminopürin

BA: Benziladenin

IBA: Indol-3 Butirik Asit

NAA: Naftalen Asetik Asit

KIN: Kinetin

GA₃: Gibberellik Asit

g: gram

g/l: gram/litre

mg/l: miligram/litre

cm: santimetre

da: dekar

ha: hektar

% : Yüzde

BBD: Bitki Büyüme Düzenleyici

NaClO: Sodyum hipoklorit

FAO: Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Banazkara'nın taze ve kurutulmuş (Anonim, 2020 a; Anonim, 2020 b)...	15
Şekil 3.2. Köhnü üzümü (Anonim, 2020 c; 2020 d)	15
Şekil 3.3. a) Steril oda, b) büyüme odası	17
Şekil 3.4. Sterilize edilmiş besi ortamının kültür kaplarına dökülmesi	18
Şekil 3.5. a) Köhnü ve b) Banazkara üzümlerinden alınan sürgünlerin c) hazırlanması, d) sterilizasyonu.....	21
Şekil 3.6. Kültür başlatmada; a) 1 hafta, b) 4. haftanın sonu, c) alt kültür çalışmaları.	22
Şekil 3.7. a) Büyüme kabininden, b) Alıştırma odasından görünüm.	24
Şekil 4.1. Köhnü üzümünde a) MS, b) QL, c) SH ve d) WPM ortamlarının etkisi ...	25
Şekil 4.2. Banazkara üzümünde a) ¼ MS, b) ½ MS, c) 1 MS ve d) 2 MS kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi	27
Şekil 4.3. Banazkara' da a) Hormonsuz ,b) 0.75 mg/l BAP içeren ortamların etkisi	30
Şekil 4.4. Köhnü'de a) hormonsuz, b) 1 mg/l BAP içeren ortamların etkileri	30
Şekil 4.5. (a) Banazkara üzümünde ve b) 0.1 mg /l NAA Köhnü üzümünde 0.3 mg/l IBA uygulamalarının sürgün sayısına etkisi	32
Şekil 4.6. a) Banazkara ve b) Köhnü'de NAA ve IBA hormonlarının köklenmeye etkisi	34
Şekil 4.7. a) Aktarmadan 3 hafta sonra, b) 6 ay sonra	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de ve Malatya’da üretim amacına göre üzüm üretim alanları ve üretim miktarı (TÜİK, 2019).....	2
Çizelge 3.1. MS besi ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962).....	19
Çizelge 3.2. Kullanılan hormonlar ve çözücüleri.....	19
Çizelge 3.3. 1 litre MS besi ortamının hazırlanması.....	20
Çizelge 4.1. Banazkara üzüm çeşidinde farklı besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi	26
Çizelge 4.2. Köhnü üzüm çeşidinde farklı besi ortamlarının kültür başlatma etkisi .	26
Çizelge 4.3. Banazkara üzüm çeşidinde MS besi ortamı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi	27
Çizelge 4.4. Köhnü üzüm çeşidinde MS besi ortamı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi	28
Çizelge 4.5. Banazkara üzüm çeşidinde şeker tiplerinin proliferasyona etkisi.....	29
Çizelge 4.6. Köhnü üzüm çeşidinde şeker tiplerinin proliferasyona etkisi.....	29
Çizelge 4.7. Banazkara üzüm çeşidinde BAP’ın farklı konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi	31
Çizelge 4.8. Köhnü üzüm çeşidinde BAP’ın farklı konsantrasyonlarının proliferasyona etkileri	31
Çizelge 4.9. Banazkara üzümünde BAP içeren besi ortamına farklı oksin ilavelerinin proliferasyona etkisi	32
Çizelge 4.10. Köhnü üzüm çeşidinde BAP içeren besi ortamına farklı oksin ilavelerinin proliferasyona etkisi.....	33
Çizelge 4.11. Banazkara üzüm çeşidinde farklı oksinlerin köklenmeye etkisi.....	34
Çizelge 4.12. Köhnü üzüm çeşidinde farklı oksinlerin köklenmeye etkisi.....	34
Çizelge 4.13. Banazkara ve Köhnü üzüm çeşidinde aklimatizasyon sonucu canlı kalan bitkiler (adet)	35

1.GİRİŞ

Dünya üzerinde Anadolu, Akdeniz ve Orta Asya gibi farklı gen merkezlerine sahip asma bitkisinin ilk kültüre alınan türü *Vitis vinifera*'dır (Vavilov, 1951; Oraman, 1970b). Asma yetiştiriciliği dünyada en iyi 20-52 kuzey, 20-40 güney enlem dereceleri arasına sahip olan; kuzey yarım kürede Türkiye, İspanya, İtalya, Fransa, Yunanistan, Meksika ve A.B.D., güney yarım kürede ise Arjantin, Şili, Güney Afrika ve Avustralya gibi ülkelerde yapılmaktadır (Çoban, 2010). Asma ile ilgili yapılan birçok araştırmaya göre ilk olarak Kafkasya ve Anadolu'da kültüre alındığı daha sonra dünyanın diğer bölgelerine yayıldığı düşünülmektedir (Oraman, 1965a); Winkler vd. 1974; Fidan, 1985; Çelik vd., 1998; Türkben, 2010). Günümüzde yetiştiriciliği yapılan çeşitlerin %90'ı *V. vinifera*'dan selekte edilmiştir (Gürsöz, 2005).

2018 yılı verilerine göre dünyada yaklaşık 7.157.658 ha alanda 79.125.982 ton üzüm üretimi yapılmıştır (FAO, 2018). Ülkemiz, 405.439 ha alanda 4.100.000 ton üzüm üretim miktarı (TÜİK, 2019) ile dünyada bağcılık yapılan ülkeler içerisinde alan bakımından %6.6 ile 5. sırada iken, üretim bakımından %5.6 ile 6. sırada yer almaktadır (FAO, 2018).

Üzüm, dünyada en çok çeşidi bulunan ve en yaygın olarak yetiştirilen kültür bitkilerinden birisidir. Bu özelliği, üzümün birçok ürüne işlenmesine olanak sağlamaktadır. Dünya genelinde sofralık, şaraplık-şıralık ve kurutmalık olmak üzere üç farklı şekilde değerlendirilmektedir. Sofralık üzüm üretimi, dünya üretim oranının yaklaşık olarak %36'sını oluşturmakta (Anonim, 2017a) ve dış ticaret pazarında önemli yer tutmaktadır.

Ülkemiz, asmanın anavatanı olması ve bağcılığın çok eskiye dayanmasının yanında gerek üretim miktarı gerekse de çeşit zenginliği açısından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. Hemen her bölgemizde yetiştiriciliği yapılan asmanın farklı çeşit/çeşit yetiştiriciliği yapılan yörelerde gösterdikleri kalite ve ön plana çıkan bir takım özelliklerinden dolayı yöreye has nitelik kazanıp ön plana çıkmaktadır. Doğu Anadolu bölgesinde 180.277 da alanda 121.500 ton çekirdekli sofralık/kurutmalık ve şaraplık üzüm yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bölgede en çok üretimi 86.669 ton ile Elazığ ve 16.639 ton ile Malatya ili yapmaktadır (TÜİK, 2019). Bölge genelinde Öküzgözü, Boğazkere, Karaerik, Şilfoni, Ağınbeyazı, Aşık

Beyazı, Kureyş, Banazkara ve Köhnü çeşitlerinin yetiştiriciliği oldukça fazladır (Keskin, 2017).

Türkiye genelinde 1.862.446 da alanda 1.394.000 ton çekirdekli sofralık üzüm, 591.234 da alanda 451.000 ton şaraplık, 542.894 da alanda 369.000 ton çekirdekli kurutmalık üzümü üretimi yapılmaktadır. Malatya’da 9.393 ton sofralık çekirdekli üzüm; 3.926 ton şaraplık üzüm ve 3.320 ton çekirdekli kurutmalık üzüm ile üretim payına sahiptir. Malatya yöresinde de yetiştiricilikte daha çok sofralık/şaraplık, kurutmalık olan Köhnü ve Banazkara üzüm çeşitleri tercih edilmektedir. Türkiye’de ve Malatya’da sofralık, kurutmalık ve şaraplık üzüm üretim alan/miktarı Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Türkiye’de ve Malatya’da üretim amacına göre üzüm üretim alanları ve üretim miktarı (TÜİK, 2019)

Üzüm Çeşitleri	Üretim alanı (da)		Üretim Miktarı (ton)	
	Türkiye	Malatya	Türkiye	Malatya
Sofralık Üzüm (Çekirdekli)	1.862.446	27.499	1.394.000	9.393
Sofralık Üzüm (Çekirdeksiz)	317.717	-	656.000	-
Şaraplık Üzüm	591.234	4.441	451.000	3.926
Kurutmalık Üzüm (Çekirdekli)	542.894	7.056	369.000	3.320
Kurutmalık Üzüm (Çekirdeksiz)	740.096	-	1.230.000	-
Toplam	4.054.387	38.996	4.100.000	16.639

Asma, generatif (tohum) ve vejetatif (çelik, daldırma, aşı ve doku kültürü) olmak üzere iki yolla çoğaltılabilmektedir (Chaona ve Gill, 2008). Tohum ile çoğaltmada ebeveynlerine benzeyen bireyler elde edilemediğinden çok tercih edilen bir yöntem değildir. Genelde melezleme ıslahı sonucu oluşmuş meyvelerden elde edilen tohumlardan bitki yetiştirilmesi için başvurulan bir yöntemdir. Asmada yaygın olarak, vejetatif çoğaltma yöntemlerinden çelikle çoğaltma yöntemi kullanılmaktadır. Fakat bu yöntemde çoğaltmanın yavaş, ve sınırlı sayıda bitki üretmesi, çok fazla miktarda materyale ihtiyaç duyulması, hastalıkların ya da bitki bünyesinde meydana gelen bozuklukların materyallerle yeni bitkileri taşınması gibi bazı olumsuz yönleri bulunmaktadır (Skiada ve ark., 2009). Çelikle çoğaltmada karşılaşılan bir diğer problem bir asmanın dikim itibariyle çelik alma durumuna gelmesi yaklaşık 5 yılı bulmaktadır (Winkler, 1974)

Vejetatif çoğaltma yöntemlerinden doku kültürü ile çoğaltma; kitlesel üretim, hastalıklardan arı, az materyalle çok fazla üretim olanağı ile daha avantajlıdır. Aynı zamanda yeni çeşit ve tiplerin üretilmesi içinde önemli bir yere sahiptir. Çelikle

üretimde omcaların dinlenme dönemine girmesi beklenirken, doku kültürü yöntemiyle yılın istenilen her döneminde ve yıl boyunca üretim yapılabilmesi mümkündür. Ayrıca karmaşık molekül yapıları nedeniyle sentetik veya yarı sentetik olarak elde edilemeyen sekonder metabolitlerin daha ekonomik üretimlerini sağlamak, kaybolan türlerin korunmasını sağlamak, soğuğa, kuraklığa, hastalıklara, tuzluluğa ve herbisitlere dayanıklı bireylerin seçilmesi amaçlarıyla da doku kültürü yöntemi kullanılmaktadır.

Artan dünya nüfusu ve değişen iklim koşulları göz önüne alındığında modern bağcılıkta biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı kaliteli verimi yüksek çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla daha çok klon seleksiyonu ve melezleme ıslahı yöntemlerine başvurulmaktadır (Yıldırım vd., 2015). Ancak klon seleksiyonunda istenilen özelliklerin bir arada bulundurmak istenmesinin imkansız olması, melezleme ıslahında da generasyon süresinin uzun olması, yüksek heterozigotluk kalıtsal yapı ve istenmeyen kalıtsal özelliklerin döllere geçmesi sebebiyle birtakım dezavantajları vardır. Moleküler genetik ıslahı yöntemi ile tüm bu olumsuzlukların önüne geçip istenilen özelliklerin bir araya getirilmesi mümkündür. Bu yöntemin ulanabilmesi içinde doku kültürü yöntemine başvurulması diğer bir deyişle eksplantların *in vitro* koşullarında bitkiciklere dönüştürülmesi gerekmektedir (Babalık, 2006).

Doku kültürü ile bitki çoğaltım, dünyada yaygın olarak kullanılan bir çoğaltım tekniğidir. Asmada doku kültürü yöntemleri içerisinde yer alan mikroçoğaltım yoğun olarak kullanılmaktadır (Gray ve Klein, 1987; Gray ve Benton, 1991). Mikroçoğaltım, bitkinin herhangi bir kısmından, tam bir bitki oluşturma potansiyeline sahip bitki kısımlarının (embriyo, tohum, kök, sürgün, tomurcuk, v.b) kullanılarak suni besin ortamlarında ve kontaminasyonlara sebep olabilecek mikroorganizmalardan arındırılmış, steril şartlar altında genetik olarak birbirlerine benzeyen çok sayıdaki bitkiyi, kitlesel olarak hızlı çoğaltmak amacıyla kullanılan bir doku kültürü tekniğidir. Bu teknik birçok bitki türünde kullanılmaktadır (Solarova ve Posposilova, 1997).

Bu çalışmanın amacı, Malatya yöre ekonomisi için önemli bir yere sahip olan Köhnü ve Banazkara çeşitlerinin gerek biyotik ve abiyotik koşullarına dayanımının belirlenmesi, gerekse bu çeşitlerin üstün vasıflarına yeni özelliklerin eklenmesi amacıyla önümüzdeki süreçte yapılacak ıslah çalışmalarının desteklenmesi ve ıslah

süreçlerinin kısaltılması ve ayrıca iyileştirilmesi için biyoteknolojik çalışmaların zeminini oluşturmak ve ihtiyaç halinde genetik kaynak olarak muhafazasını sağlamak amacıyla *in vitro* çoğaltım yönteminin belirlenmesidir.

2. KAYNAK ÖZETİ

Karoglan vd. (1990), *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 kullanılarak *in vitro*da farklı tip ve konsantrasyonlarda büyüme düzenleyicileri, makro besin elementler ve karbonhidratları içeren tam ve yarım kuvvetteki MS, Lloyd ile WPM ortamlarında kültüre almışlardır. 1 mg/l BA ve 0.3 mg/l IAA ilave edilen tam MS ortamının sürgün çoğaltımı için en uygun ortam olduğu bulunmuştur.

Lewandowski (1991), *Vitis labrusca* L. 'Delaware' çeşidinin doku kültürü yoluyla 10 haftalık bir üretim döngüsüyle fazla sayıda bitki materyali elde etmek için rutin kullanılacak yöntemi belirlemek için çalışmıştır. Modifiye edilerek kullanılan Murashige ve Skoog (MS) ortamı ile aktif tomurcuk çoğalmasıyla sürgünlerde 35 kat artış sağlanmıştır. 0.001 mg/l NAA ve 0.005 mg/l IBA kombinasyonlu yarı kuvvetli MS ortamında 10 gün içinde mikro kesimlerden %95'den fazla köklenme olduğu gözlenmiştir. Köklü bitkilerin % 95'inden fazlası, nem kubbeleri ile donatılmış ve takviyeli topraksız bir yetiştirme ortamı içeren sera ortamında 14 gün içinde başarıyla aklimatize edildiği bildirilmiştir.

Pe'ros vd. (1998), 32 *Vitis vinifera* çeşidi ve tür içi hibritlerin aktif tomurcuklardan *in vitro* kültürü başlatmıştır. Kök ve sürgün gelişimi hormon içermeyen iki mikroçoğaltım ortamında 14 alt kültür boyunca takip edilmiştir. 8 alt kültüre kadar M64 ortamı kullanılmış, daha sonra yerine bitki büyümesi için daha uygun bulunan ve alt kültürler arasındaki sürenin artmasına izin veren G90 (Galzy et al., 1990) ortamı kullanılmıştır. Her iki besiyerinde kültürler arasında bitki büyümesinde büyük farklılıklar görülmemiştir. Kök sayısı çeşitler arasında en büyük değişkenliğe sahip olduğu gözlenmiştir (CV =%39). Gövde uzunluğu (CV =% 21–22) ve nod sayısı (CV =% 12-14) değişkenlikler göstermiştir. Düğüm sayısı sürgün uzunluğu ile pozitif korelasyon gösterirken, kök sayısı sürgün gelişimi ile zayıf pozitif korelasyon göstermiştir. Yapraklardan gelen adventif tomurcuk rejenerasyonu 20 çeşit için incelenmiş ve 20 çeşit için rejenerasyonun ortalama %36.7'si ve çeşitler

arasında büyük farklılıklar gösteren rejeneratif eksplantların ortalama %36.7'si (CV =% 47) bulunmuştur. *Vitis vinifera* bitkilerinin kanamycin ve hygromycin karşı yüksek duyarlılığı, çeşit ve antibiyotik arasında güçlü bir etkileşim ile gösterilmiştir. 0.8 mg/l hygromycinin bitkicikler için öldürücü olduğu gözlenmiştir. Bu etki kanamycin için sadece 4 mg/l gözlenirken, 1 mg/l'nin bitkilerin gelişimini uyardığı gözlenmiştir.

Mhatre vd. (2000), adenin sülfat, monobazik sodyum fosfat, BAP ve NAA içeren G16 ortamı üzerinde sürgün kültürlerini başlatmak için thomson, snoka, tsea çeşitlerinden tek bir aktif tomurcuk taşıyan nodal eksplantlar kullanılmışlardır. Bir aktif tomurcuktan geliştirilen her sürgün, BAP, kalsiyum pantotenat, monobazik sodyum fosfat ve IBA içeren bir ortamda çok sayıda sürgünler üretmiştir. Çok yönlü sürgünlerin tutamının bir uzama ortamına eklenmesi, ayrı ayrı sürgünlerle sonuçlanmıştır. IAA içeren sıvı ortam üzerinde sürgünlerin köklenmesi ve bitki oluşumu meydana geldiği bildirilmiştir.

Park vd. (2001), 4 farklı anaçta (Dogridge, SO4, H-144 ve 3309 C) uygun protokolü geliştirmek ve bu çeşitleri *in vitro* davranışını karşılaştırmak için bir çalışma yürütmüşlerdir. Her ne kadar kültür oluşumunda BAP veya kinetin olsa da, en iyi etkiyi 2 mg/l BAP + 0.2 mg/l NAA içeren besi ortamında kültür oluşumunda artış ve tomurcuklanma süresinde azalma bakımından daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. En az başarı H-144'te gözlemlenmiştir. Ancak iyi vejetatif büyüme ve köklenmeyi bu çeşit göstermiştir. Köklendirme ortamına aktif kömür ilavesi köklenmede artış sağlaması ve farklı çeşitlerde kök başlatma sürecini hızlandırması açısından faydalı bulunmuştur. Dış koşullarda bitki canlılığı %84.95 olması yönüyle 3309 C en duyarlı bulunmuştur.

Han vd. (2003), *V. amurensis* ev. Zuoshanyi 1 çeşidinde etkili bir mikroçoğaltım protokolü oluşturmak için yapılan bir çalışmada 0.05 mg/l IAA ve 1 mg/l BA ile kombinasyonlu MS besi ortamında en yüksek sürgün oluşumu ve çoğaltım sağlanmıştır. BA ve NAA kombinasyonlu MS besi ortamında kallus oluşumundan dolayı sürgün gelişiminin engellendiği bildirilmiştir. 0.5 mg/l ve 1 mg/l IAA konsantrasyonlarında sürgünlerde yüksek kök oluşumu gözlenmiştir. Yüksek sürgün büyümesi için 30 g/l sukroz kullanılmış olup, 0-20 g/l sukrozlu ortamda en yüksek köklenme elde edildiği bildirilmiştir.

Osman (2004), doku kültürü yöntemi kullanılarak üzümün klonal çoğaltılması için en uygun ortam içeriğinin belirlenmesi için yapılan çalışmada sürgün uçları ve nodlar çeşitli konsantrasyonlardaki (0.25, 0.5, 1 ve 2) MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Ayrıca potasyum fosfat (KH_2PO_4)'ın büyüme ve gelişme üzerine etkisi araştırılmıştır. NAA ve kinetin çeşitli kombinasyonlarının üzümlerin çoğaltılması amacıyla test edilmiş olup, IBA'nın farklı konsantrasyonlarını köklenmeye etkisi araştırılmıştır. Sonuçta nodal kesimlerde en başarılı sonucu 1 MS vermiş olup, KH_2PO_4 'ün eklenmesiyle başka iyileştirmeler elde edilmiştir. En yüksek bitki sayısı 0.1 mg/l NAA and 1 mg/l kinetin kombinasyonunda gözlenmiştir. En iyi köklenmeyi 0.3 mg/l IBA ilaveli ortamın verdiği bildirilmiştir.

Paudel vd. (2005), *Vitis ficifolia* var. Ganabu ve Kadainou R-1 üzüm çeşitlerinde 3 farklı bitki büyüme düzenleyicisinin (kinetin, 2-İP, ve BA) kültür başlatma ve proliferasyona etkileri incelenmişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda IBA ve aktif kömürün köklenmeye etkisi araştırılmıştır. Farklı sitokinler arasında kültür başlatmaya, *Vitis ficifolia* var. Ganabu ve Kadainou R-1 çeşitlerinde en yüksek etkiyi kinetin sırasıyla 0.1 ve 0.02 mg/l konsantrasyonları vermiştir. Sürgün proliferasyonunda her iki çeşitte de 1 mg/l BA konsantrasyonu en uzun sürgünleri vermiştir. Her iki çeşitte de sürgün sayısında önemli artışlar yüksek konsantrasyonlu (1 mg/l ve 2 mg/l) BA'da meydana gelmiştir. Köklenme sıklığında önemli bir fark görülmemesiyle birlikte her iki çeşitte de farklı konsantrasyonlardaki IBA (2 ve 4 mg/l) da kök sayısında artış olduğu gözlemlenmiştir. Aktif kömüründe tek başına ya da IBA ile birlikte köklemeye etkisi istatistik olarak önemli bulunmamış fakat kök uzunluğunda her iki çeşitte önemli artış gösterildiği bildirilmiştir.

Karaca (2006), Kalecik Karası'nın 4 ve 23/2 numaralı klonlarının virüs ve diğer hastalıklardan arı aynı zamanda daha hızlı çoğaltılması için meristem kültürünün köklendirme aşamasında 12 farklı oksin ve stokinin (2 İP + BAP) konsantrasyonlarının kök gelişimi ve bitkiye dönüşmesine etkileri incelenmiştir. Sürgün aşamasında 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l IBA kullanılmıştır. Kalecik Karası 4 ve 23/2 klonlarında sürgün bakımından değerler 3.67 ve 3.83, sürgün uzunluğu bakımından 2.42 cm ve 2.04 cm bulunmuştur. Köklendirme aşamasında Kalecik Karası 23/2 klonunda sürgün oluşumunun ve yaprak sayısının fazla olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek yaprak ve sürgün oluşumu 1 mg/l IBA + 0.5 mg/l BAP/2iP konsantrasyonundan elde edilmiştir. En yüksek köklenme değeri her iki

klonda da 2 mg/l IBA katkılı MS ortamı; en uzun kök değerleri ise Kalecik Karası 4 numaralı klon için 1 mg/l IBA ile 3.47 cm, Kalecik Karası 23/2 numaralı klon için 0.5 mg/l IBA ile 3.9 cm olarak tespit edilmiştir.

Banilas ve Korkas (2007), Agiorgitiko üzüm çeşidinde hızlı bir *in vitro* çoğaltımı için etkili bir protokol hazırlamak için çeşide ait çeşitlerin boğumlarını hormonsuz MS ortamına alınmışlardır. Sürgün sayısında artış meydana gelmediği mevcut sürgünde gelişimin belirgin olduğu gözlenmiştir. Düşük seviye BA uygulanmış ortamlarda sürgün sayısında artış meydana geldiği gözlemlenirken yüksek konsantrasyonlu BA'da maksimum sürgün sayısına ulaşılmış ancak bunlarda vitrifikasyon meydana geldiğini gözlemiştir. Düşük dozlardaki IBA'da hem kök oluşturan sürgün sayısında, hem de sürgünlerdeki kök sayısında artış meydana geldiği bildirilmiştir.

Jaskanı vd. (2008), Perlette üzüm çeşidinden alınan farklı eksplantlar MS besi ortamında, sürgün oluşturmak için farklı BA (0.1 ve 2 mg/l) , kallus meydana getirmek için NAA (0, 0.2, 1 ve 2 mg/l) ve köklendirme için IBA (0.1 mg/l ve 2 mg/l) konsantrasyonlarında kültüre alınmıştır. Sonuç olarak en iyi sürgün (%80) olarak 1 mg/l BA ortamında, maksimum köklenme (%80) olarak 2 mg/l IBA içeren ortamda meydana gelmiştir. En yüksek kallus oranı 1 mg/l BA'daki gövde segmentlerinden (% 80) ardından 0.2 mg/l NAA (% 60) içerisindeki yaprak diski eksplantlarında olduğu bildirilmiştir.

Aazamı (2010), "Sultanina" ve "Cheema sahabi" çeşitlerinde *in vitro* rejenarasyon amacıyla 10 cm uzunluğundaki sürgünlerden apikal meristem kullanılmıştır. Çalışmada MS (Murashige & Skoog, 1962) kullanılarak: A (1 mg/l BA), B (1.5 mg/l BA), C (1 mg/l IBA + 1.5 mg/l BA) ve D (1 mg/l TDZ)'den oluşan bir deney serisi oluşturulmuştur. Sonuçta, kültür ortamının B (3.8) ve C (5.4) deney serilerinin apikal meristem başına en yüksek ortalama sürgün sayısını ürettiğini göstermiştir.

Skiada vd. (2010), Yunan asmalarından "Malagouzia" ve "Xinomavro" Üzüm çeşitlerinde 6 farklı ortamın sürgün proliferasyonuna etkilerini araştırıldığı bir çalışmada sırasıyla çeşitlerde Galzy ve Zlenco en etkili ortamı olduğu tespit edilmiştir. BA içeren ortamda sürgün gelişimi zayıf fideler kloroz göstermiştir. BA ve NAA kombinasyonlu ortamda büyüme arttırılmıştır. Büyüme düzenleyicilerinin

en iyi oranı (mg/l cinsinden) "Malagouzia" için 0.1 / 0.05 mg/l ve "Xinomavro" için 0,02 / 0,005 mg/l bu eksplant başına en yüksek sayıda mikro çelik ve en yüksek proliferasyon oranına yol açtı. "Malagouzia" nın gelişimi ve 21 ± 2 ve 26 ± 2 ° C'deki "Xinomavro" eksplantları da araştırılmış ve daha yüksek sıcaklığın daha etkili olduğu ortaya çıkmıştır. İlişkin köklenme, 0.1 mg/l IBA "Malagouzia" için 26 ° C'de kök oluşumunu ve "Xinomavro" için 21 ° C'de 0,1mg/l IBA kök oluşumunu iyileştirdi. Ayrıca, 0.1 mg/l IBA daha yüksek bir köklenme yüzdesi (>% 95) ile sonuçlandı ve genel morfolojik görünüm için daha faydalı olduğu kanıtlandı. "Malagouzia" fidanları. İklimlendirme işleminden sonra, IBA ile ortam içinde yetiştirilen mikro çelikler hayatta kalması NAA' dakilerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir

Hashımı (2011), Gulabi ve Thopson seedless üzüm çeşitlerinde yaptığı bir çalışmada sürgün proliferasyonunu sağlamak için farklı BAP konsantrasyonlarıyla (0,1,2,4 ve 8 mg/l) takviye edilmiş MS besi ortamında çeşitleri kültüre almıştır. Aynı besi ortamına çeşitli konsantrasyonlarda IBA (0, 1, 2, 4, ve 8 mg/l) kullanılarak *in vitro* köklenmesi incelenmiştir. Sonuç olarak Thopson çekirdeksiz çeşidinde sürgün proliferasyonu en yüksek 2 mg/l BAP içeren ortamda (3.6) bulunmuştur. Fakat Gulabi çekirdeksiz çeşidinde sürgünlerin maksimum sayısı 1 mg/l BAP içeren ortamda (4.1) kaydedilmiştir. Mikro filizlerin köklenmesi 1 mg/l IBA içeren ortamda başarıyla gerçekleştirilmiştir. IBA'nın 4 ve üzerindeki konsantrasyonlarında, IBA dozunun fazla olması sebebiyle köklenme yerine beyaz gevrek kallus oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir.

Diab (2011), Spero üzüm çeşidinde yapılan bir çalışmada kallus 4 mg/l BA ile takviye edilmiş C₂D ortamında sürgün uçlarından ve aksillar tomurcuklardan uyarılmıştır. Kallustan tomurcuk farklılaşması 1 mg/l gibberellik asit ve 0.1 mg/l kinetin ile desteklenmiş C₂D ortamında gözlenmiştir. Tomurcuk başları 0.1 BA ile desteklenmiş C₂D ortamında alt kültüre alınmıştır. Sonuçta gelişen filizler 1 mg/l BA desteklenmiş C₂D ortamında kitlesel olarak üretilmiştir. Organogenez veya mikroçoğaltım yoluyla rejenere edilen sürgünler, 1 mg/l IBA asit ile desteklenmiş C₂D ortamı üzerinde köklendirilmiştir.

Abido vd. (2013), Muskat of alexandria asma çeşidinde mikro çoğaltım için sürgün uçları boğum araları eksplant olarak kullanılarak bir protokol geliştirmiştir. Eksplantlar steril edildikten sonra 0.5, 1.0 ve 2 mg/l BAP ve 0.1mg/l NAA ile

desteklenmiş Murashige ve Skoog (MS) besi ortamında kültüre alınmıştır. Sürgün sayısı için 1, 2, 3 ve 4 mg/l BAP ve 0.1, 0.2 ve 0.3 mg/l NAA ve bunların kombinasyonları test edilmiştir. Maksimum çoğalmış sürgün sayısı, 3 mg /l BAP + 0.2 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilmiştir. Köklenme aşaması için 0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/l IBA ve 0, 0.5 ve 1 mg/l NAA ile bunların kombinasyon durumları incelenmiştir. 1 mg/l IBA + 0.5 mg/l NAA ile desteklenmiş MS ortamında köklenen sürgünler en yüksek köklenme yüzdesini, kök/sürgün sayısı ve kök uzunluğu (sırasıyla %87, 3.4 ve 4.5 cm) kaydedilmiştir.

Yerbolova vd. (2013), yeni bir bitki büyüme düzenleyici olan “AN-16”nın Kazakistan, Avrupa ve Orta Asya’dan selekte edilen *Vitis Vinifera* L. çeşitlerinde *in vitro* koşullarındaki etkileri incelenmiştir. Seperavi ve Riesling çeşitlerine ait uyur gözler farklı konsantrasyonlardaki BAP (0.1 ve 2 mg/l) ve NAA (0, 0.01 ve 0.02 mg/l) ile destekli IM ortamındaki etkileri incelenmiştir. Seperavi çeşidi için diğer kombinasyonlu ortamla karşılaştırıldığında en fazla bitkiyi 1 mg/l BAP ve 0.01 mg/l NAA içeren kombinasyon vermiştir. Riesling için 1 mg/l BAP + 0.02 mg/l NAA içeren hormon kombinasyonu en fazla bitki vermiştir. Cabernet Frangı, Rizamat ve Bereke çeşitlerinde mikro sürgün oluşumu yeteneği göstermiştir. Saperavi, Merlot ve Red Glob çeşitlerinde IBA ve AN-16 hormonlarının köklenmeye etkisine bakıldığında test edilen tüm çeşitlerde AN-16 köklendirme ortamındaki kök sayısı IAA'dan anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Singh (2014), bazı üzüm (*Vitis Vinifera* L.) anaçlarının *in vitro* çoğaltılması üzerine çalışma yapmıştır. BAP (1 mg/l) + Kinetin (1 mg/l) ile takviye edilmiş MS ortamı, nodal segmentler (%45.54) ve sürgün uçlarının (%40.80) gelişimi için uygun görülmüştür. 110 R ve 1613 C anaçları maksimum boğum ve sürgün ucu oluşumunu sergilemiştir (%47.37 ve %35.42). Maksimum sürgün rejenerasyonu %65.67 ile 1 mg/l BAP ve 1 mg/l Kinetin ile desteklenen MS ortamında kaydedilmiştir. 101-14 MGT anacı maksimum (%52.89) sürgün rejenerasyonu sağlarken eksplant başına maksimum sürgün sayısı (3.63) 1.5 mg/l BAP'da, maksimum sürgün uzunluğu (3.13 cm) ile 0.5 mg/l BAP ve 0.5 mg/l Kinetin ortamı ile desteklenmiş MS ortamında kaydedilmiştir. Maksimum sürgün uzunluğu (1.73 cm) 1613 C anacında kaydedilmiştir. Maksimum köklenme (% 64.95) 0.1 mg/l IBA ve 0.1 mg/l NAA ile destekli MS ortamında kaydedilmiştir. 101-14 MGT anacında maksimum köklenme (%55.64) kaydedilmiştir. Maksimum kök sayısı (13.75) 0.01 mg/l IBA ve 0.01 mg/l

NAA üzerinde 110 R anacında maksimum kök uzunluğu (5.66 cm) 0.1 mg/l IBA ile takviye edilmiş MS ortamı üzerinde kültüre alınan 101-14 MGT anacında kaydedilmiştir

Mostafave vd. (2015), *in vitro*'da dört üzüm çeşidinin (Concord, Thompson Seedless, Beauty Seedless ve King Ruby) başarılı bir şekilde çoğaltılması için ile sürgün uçları ve boğum kullanarak başlatılan deneyde en iyi sonucu 1 mg/l BA ve 0.01 mg/l NAA kombinasyonu, maksimum filizlenme oranını (100, 91.7, 100, 83.3) ve filizlenen tomurcukların filizlenmesi için en az gün sayısını(6, 9, 5 ve 11), sırasıyla Concord, Thompson Seedless, Beauty Seedless ve King Ruby çeşitleri göstermiştir. Ayrıca aynı ortamda test edilen dört üzüm çeşidinde en büyük sürgün sayısını / eksplantlarını (5.50, 4.95, 5.27 ve 4.69) ve en yüksek sürgün uzunluğunu (5.3, 5.2, 5.2 ve 4.9 cm) verdi. Üçüncü alt kültür filizlenme frekansının maksimum yanıtını ve incelenen dört çeşit için en uygun sürgün/eksplant ortalamasını vermiştir. *In vitro* sürgünlerin köklenmesi için, 1 mg/l IBA ile beslenen yarım kuvvetli MS ortamında Concord, Thompson Seedless, Beauty Seedless ve King ruby çeşitlerinde en iyi kök oluşumuna (%90, 100, 80 ve 70) neden olmuştur.

Al-Mousa vd. (2015), Black Matrough üzüm çeşidinde etkili bir mikro çoğaltım yöntemi belirlemek için yapılan bir çalışmada eksplantlar steril edildikten sonra kültür başlatma aşamasında BAP konsantrasyonları (0.2,0.5,1 ve 1.5 mg/l) ile desteklemiş 1, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$ kuvvetli MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Çoğaltma aşamasında tam ve $\frac{3}{4}$ MS kuvvetli ortamlara sadece BAP'ın (0.50, 0.75 ve 1 m/l) ve IBA'nın (0.10, 0.30 ve 0.50 mg/l) BAP ile kombinasyonları test edilmiştir. Köklendirme ortamında ise yarım kuvvette MS ortamında IBA ve NAA'nın 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/l kuvvetleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda üzümde sürgün ucu ve nodal eksplantlar, $\frac{3}{4}$ kuvvetli MS ortamında, 0.5 mg/l BAP (sırasıyla %100 ve %88.89) ile en yüksek canlılık yüzdelerini göstermiştir. En yüksek sürgün/sürgün ucu (1.86) 0.5 mg/l BAP ile tam kuvvetli MS ortamında fark edilirken, 1 mg/l BAP ile tam kuvvetli MS ortamı, en yüksek sürgün / boğum sayısı (1.67) üretmiştir. $\frac{3}{4}$ kuvvetli MS ortamında (0.75 mg/l BAP + 0.5 mg/l IBA) veya (1 mg/l BAP + 0.3 mg/l IBA) ile kültürlenен eksplantlar, en yüksek sürgün sayısı / eksplant (sırasıyla 3.67 ve 3.52 sürgün / eksplant) üretti, büyüme regülatörü içermeyen tam kuvvetli MS ortamı üzerinde kültürlenен eksplantlar en yüksek sürgün uzunluğunu (4.94 cm) göstermiştir. Genel olarak, köklenme yüzdesi, oksin içermeyen ortamdakilere

kıyasla, oksin ile yarı kuvvetli MS ortamı içinde en yüksek olmuştur. 0.5 mg/l NAA'lı yarı mukavemetli MS ortamı, kök mukavemeti MS'de gözlemlenen en uzun köklere (5.06 cm) kıyasla önemli bir fark olmadan yeterli kök uzunluğuna (4.11 cm) sahip en yüksek kök sayısı / sürgün eksplantını (5.50 kök/sürgün) 0.5 mg/l IBA içeren ortamın sergilediği bildirilmiştir

Ekbiç Bilir vd. (2015), Isabella üzüm çeşidinde yaptıkları çalışmada 2- 3 yaprak taslağı ve 1 mm uzunluğunda meristem ucu içeren sürgün uçları kullanılarak MS ortamına BA kuvvetlerini (0, 1, 2, 3 ve 4 mg/l) içeren ortamlarında kültüre alınarak proliferasyona etkileri ve köklendirme aşamasında da IBA'nın farklı kuvvetlerinin (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) etkileri incelemiştir. Sonuç olarak en iyi proliferasyonun 5. Alt kültürde 1 mg/l BA içeren ortamda gerçekleştiği ve en uygun köklendirme ortamının 2 mg/l IBA içeren ortamda olduğu tespit edilmiştir.

Melyan vd. (2015), Parvana çekirdeksiz üzüm çeşidinde *in vitro* da hızlı çoğaltma, köklenme ve iklimlendirmenin başarısı incelemiştir. Yüksek sayıda yeni mikro sürgünler (4.5) (Gambourg'un B5 modifikasyonu) 0.6 mg/l BAP + 0.2 mg/l KIN + 0.5 mg/l GA₃ ile desteklenmiş bir kültür ortamında elde edilmiştir. BAP ve KIN ile kombinasyonunda GA₃ varlığı sürgünlerin uzamasını desteklemiştir. MS (Murashige ve Skoog) 'un yarı kuvvetinde 0.4 mg/l IAA konsantrasyonunun köklenme için en iyi olduğu kanıtlanmıştır (%84.4 kök gelişimi, 7.9 cm uzunluğunda 4.66 kök). *In vitro* köklü bitkiler, bahçe toprağı, kum ve turba yosunu (1: 1: 1) içeren plastik saksılarda %82.2 hayatta kalma oranı ile başarıyla iklimlendirilmiştir.

Ahmed (2015), iki farklı üzüm çeşidinde yaptıkları çalışmada BA tek başına ve GA₃ kombinasyonunun sürgün sayısına etkisi araştırılmış, her iki çeşitte de BA ve GA₃ kombinasyonu en iyi sonucu vermiştir. Köklendirme aşamasında IBA ve NAA oksin grubu hormonlar kullanılmıştır. Sonuçta en çok köklenme oranı ve kök sayısını NAA içeren ortam sağlarken En iyi kök uzunluğu ortalamasını IBA içeren ortam sağladığı bildirilmiştir.

Mozafari vd. (2016), yaptıkları çalışmada WPM ve MS besi ortamlarının etkisi, üç üzüm çeşidinde ('Bidaneh Sefi d', 'Farkhi' ve 'Khoshnav') benziladenin (BA) 0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/l konsantrasyonları araştırılmıştır. Köklenme aşamasında, IBA'nın üç konsantrasyonu (0, 0.1 ve 0.2 mg/l) kök başlangıcı, kök eksplant sayısı, kök uzunluğu ve kök sayısı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçta, en uzun

sürgünlerin üçünde de 0.5 mg/l BA ile takviye edilmiş MS ortamından elde edildiğini göstermiştir. İncelenen tüm çeşitlerde en uygun sürgünler 1 mg/l BA içeren MS ortamında gözlenmiştir. Köklenme aşamasında en iyi sonuç 0.1 mg/l IBA ile elde edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, *in vitro* koşullarda üzüm rejenerasyon potansiyelinin çeşit, kültür ortamı ve büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir

Dessoky ve Attia (2016), AL-bayidi (*Vitis vinifera* L.) asma çeşidinin hızlı çoğaltılması için bir protokol hazırlamışlardır. Eksplantlar farklı BAP (0, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg/l) içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Sürgün sayısı ve uzunlukları incelenmiştir. Farklı IBA konsantrasyonları (0, 0.1, 1 ve 2 mg/l) ile 0.1 mg/l NAA konsantrasyonları içeren MS besi ortamında sürgünlerin köklenme oranları çalışılmıştır. Sonuç olarak sürgün sayısında (3.7) ve sürgün uzunluklarında (3.6) en yüksek değeri 2 mg/l BAP içeren MS besi ortamı vermiştir. Köklendirme aşamasında %100 olarak 2 mg/l IBA+0.1 mg/l NAA içeren MS besi ortamı vermiştir.

Kinfe vd. (2017), üç farklı üzüm çeşidine ait boğumlar kullanılarak MS besi ortamı destekli ortamda 5 ayrı BAP konsantrasyonu ve bir kontrol gurubuyla beraber kültür başlatma üzerine etkileri araştırılmış. Tek başına farklı BAP konsantrasyonları ile takviye edilmiş MS ortamı veya IBA destekli MS ortamı kullanılarak sürgün çoğaltılmasını optimize etmek için çeşitli deneyler yapılmıştır. Kök oluşumunu sağlamak amacıyla farklı IAA konsantrasyonları kullanılmıştır. Farklı BAP konsantrasyonlarında hemen hemen tüm parametrelerde 0.5 mg/l BAP uygulaması öne çıkmıştır. Farklı konsantrasyondaki BA ve IBA kombinasyonları arasında ortalama sürgün sayısı en yüksek 7.2 (Chenin blanc), 6.7 (Canonnanon) ve 6.1 (Ugni blanc)'lik değer ile 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IBA kombinasyonundan elde edilmiştir. Tüm çeşitler, kontrol dahil tüm uygulamalar kök oluşturmuş olup en iyi sonuç 2 ve 4 mg / l IAA ile desteklenmiş MS ortamında kaydedilmiştir

Pedro vd. (2017), Moastrell üzüm çeşidinde bitkilerin real-time RT-PCR ile yelpaze yaprak virüsü, arap mozaik virüsü, Asma yaprak kıvrıcıklık virüsü 1, asma yaprak kıvrıcıklık virüsü 3 ve asma benek virüsünden arı bitkisel üretim için tuz bileşimleri WPM (Lloyd ve McCown) odunsu bitki ortamı ile MS besi ortamı 1/2 makrobeseinler) ve büyüme düzenleyici olan benzilaminopurinin (BAP) 0 ve 2 mg/l dozların bitki çoğaltımı, etkileri değerlendirilmiştir. En verimli prosedür, WPM ortamındaki tomurcuk başlatma ve 30 gün boyunca 2 mg/l BAP ve sitokinin

içermeyen ortamdaki 60 gün uzaması ile 22 düğüm / eksplant (174 bitki / ilk bitki) verdiği bildirilmiştir.

Yılmaz (2018), Balıkçı Siyahı üzüm tipinden (*Vitis labrusca* L.) aktif büyüme dönemindeki sürgünlerden alınan ve tek boğum içeren 2-3 cm uzunluğundaki mikro çeliklere yüzey sterilazasyonu uygulanarak sürgün elde etmek için BA'nın 0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l dozları ve 30 mg/l sukroz içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Ortamda kültüre alınan eksplantlardan süren sürgünler köklendirme aşamasında beş farklı IBA dozu (0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l) içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. Tek boğumlu mikro çeliklerinin sürgün gelişimi açısından en uygun BA dozunun 1 mg/l olduğu ve 4 mg/l BA dozunda vitrifikasyon meydana geldiği gözlenmiştir. Sürgünlerin köklenmesi açısından ise en uygun IBA dozunun ise 2 mg/l olduğu belirlenmiştir.

Alizadeh vd. (2018), Dogridge (*Vitis champini*) ve H-144 (*Vitis vinifera* × *V. labrusca*) olmak üzere iki üzüm anacından alınan tekli boğumlarla kültür başlatma yapılmıştır. Kültür başlatmada farklı bitki büyüme düzenleyicilerin dozları kullanılmıştır. BAP her iki çeşitte önemli bulunmuştur. H-144 kültür başlatmada en az (%38.31) başarıyı göstermiştir fakat Dogridge ile karşılaştırıldığında daha iyi vejetatif büyüme, köklenme ve dış koşullar uyum göstermiştir. En yüksek sürgün çoğaltma oranı H-144 de kaydedilmiştir. Köklendirme ortamına aktif kömür ilavesinin her iki çeşitte de köklenmeyi arttırdığı bildirilmiştir.

Dev vd. (2019), dört farklı üzüm çeşidinde, *in vitro* da yetiştirilen bitkilerin etkili bir dayanıklılık stratejisi geliştirilmeye çalışılmıştır. Pusa Navrang, Hibrid 76-1 (Hur x Cardinal), Csaba İncisi ve Julesky Muscat'ın *in vitro* yetiştirilen bitkileri cocopeat + vermikülit + perlit (2: 1: 1) oranı kullanılarak *in vitro*da yetiştirilen bitkiler polietilen kapaklı cam kavanozlara (GJPP) ve polietilen kapaklı plastik kaplara (PPPC) aktarılmıştır. Cocopeat + vermikülit + perlit (2: 1: 1) içeren cam kavanoz, en yüksek canlılık oranı (% 85.97) ve bitkinin alışma süreci için en erken süreyi (23.56 gün) vererek en etkili stratejik yöntem olarak bulunmuştur. Cocopeat + vermikülit + perlit (2: 1: 1) (T2) olan plastik kap, iklimlendirme için daha uzun bir süre (27.93) ve ayrıca daha düşük canlılık oranı (% 63.46) verdiği için önemli bulunamamıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışma, Malatya Turgut Özal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında 2018-2019 yılları arasında yürütülmüştür. Araştırmada materyal olarak Malatya'nın önemli yerel üzüm çeşitlerinden olan Banazkara ve Köhnü üzümleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bitkisel materyaller Kayısı Araştırma Enstitüsüne ait araştırma uygulama bağındaki omcaların yıllık sürgünlerinden ve dinlenme dönemindeki kış gözlerinden temin edilmiştir.

3.1.1. Bitkisel materyallerin özellikleri

3.1.1.1. Banazkara

Yöremizin önemli kaynaklarından ve ümit vadeden çeşitlerden birisidir. Yörede Banazı Karası olarak bilinen genotip Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından 25.10.2019 tarihinde Banazkara çeşidi olarak tescil ettirilmiştir. Siyah renkli tanelere sahip sofralık ve kurutmalık bir çeşittir. Malatya'nın 1000-1300 rakımlı Konak mahallesine Yeşilyurt (Banazı) ve Akçadağ ilçelerine çok iyi adapte olmuş çekirdekli bir çeşittir. Bu üzüm çeşidinin bilinen en önemli özelliği salkım üzerinde kurutulabilen bir çeşit olmasıdır. Tane; mavi-siyah, küresel ve orta iriliktir. Salkımlar (250 g) sık, konik ve ortadır (Şekil 3.1). Kurutma esnasında herhangi bir kimyasal işleme tabi tutulmamaktadır. Asma üzerinde bulunan salkımlardaki tanelerde pörsümenin başlaması ile hasada başlanmaktadır. Hasat edilen salkımlar doğrudan toprak üzerinde veya toprak üzerine serili örtüler (bez, kağıt, kaneviçe vb.) üzerinde kurutmaya tabi tutulmaktadır (Koç vd., 2015).



Şekil 3.1. Banazkara taze ve kurutulmuş (Anonim, 2020 a; Anonim, 2020 b)

3.1.1.2. Köhnü

Köhnü üzümü Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından 25.10.2019 tarihinde Köhnü üzüm çeşidi olarak tescil ettirilmiştir. Siyah renkli sofralık/şaraplık üzüm çeşididir. Tane şekli yumurta, tane rengi morumsu siyah, tane iriliği büyük, kabuk kalınlığı orta, çekirdek sayısı 2-3, salkım şekli konik, salkım sıklığı sık ve çiçek yapısı erdişidir. Orta derecede kuru madde oranı (%17-18) ve düşük derecede asitlik (6.5 g/l) bulunmaktadır (Şekil 3.2). Yüksek sıra randımanı (%73) ve meyve etrafındaki sis tabakası belirgin özellikleridir. Yöremizde Arapgir’de yoğun olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonim, 2020c).



Şekil 3.2. Köhnü üzümü (Anonim, 2020 c; 2020 d)

3.2. Yöntem

3.2.1. Sterilizasyon teknikleri

Çalışmada kullanılan materyale ait boğumların *in vitro* koşullarında herhangi bir kaynaktan meydana gelebilecek enfeksiyonu ve kontaminasyonu engellemek için başlangıç materyalinin yanı sıra kullanılan alet ve ekipmanlar, besi ortamı, besi

ortamında kullanılacak saf su ve kültür kaplarının tamamen steril şartlar altında hazırlanması gerekmektedir.

Çalışmada izlenen sterilizasyon teknikleri aşamaları aşağıda belirtilmiştir.

3.2.1.1. Etüvde sterilizasyon

Kültür işlemlerinde kullanılacak pens/bistüriler alüminyum folyoya sarılarak; filtre kağıdı ve peçeteler parşömen kağıdına sarılmak suretiyle tüm cam malzemelerle birlikte etüvde 180 °C'de 2 saat sterilizasyona tabi tutulmuştur.

3.2.1.2. Otoklavda sterilizasyon

Çalışmalarda kullanılacak saf su, hazırlanan besi ortamları, kültür kapları, köklendirilmiş bitkisel materyalleri aktarmak için kullanılacak torf+perlit karışımı otoklavda 120 °C'de 20 dakika steril edilmiştir.

3.2.2. Laboratuvar kısımlarının organizasyonu

3.2.2.1. Steril odanın hazırlanması

Steril odada; materyal ekim-dikim işlemlerinin yapıldığı steril kabin ve bir ultraviyole lambası bulunmaktadır (Şekil 3.3a). Çalışmadan 1 gün önce kabin içi ve dış yüzeyi %96'lık alkol ile temizlenerek, odanın tezgâhı, tabanı vb. yerleri seyreltilmiş sodyum hipoklorit (NaClO) ile dezenfekte edilmiştir.

3.2.2.2. Büyüme odasının hazırlanması

Bitkisel materyalin dikildiği kültür kaplarına bir zamanlayıcı (timer) ve beyaz floresans lambalar kullanılarak 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olacak şekilde bir fotoperiyot uygulanmıştır. Ortam sıcaklığını 24±2 °C sabit tutan bir kontrol sistemi (klima) bulunmaktadır. Büyüme odasındaki ışık şiddeti 40 µmol m⁻²s⁻¹ olarak ayarlanmıştır (Şekil 3.3b).

3.2.2.3. Aklimatizasyon için Bitki Büyüme Kabininin Kullanımı

Büyüme odasından çıkarılan köklü bitkilerin açık bahçe koşullarına kolay adapte olmasını sağlamak için torf dolu mini saksılara aktarılan bitkiler kabin içerisine yerleştirilerek 24°C sabit sıcaklıkta %90 nem seviyesinde ayarlanmıştır. 48 saatte bir %5 nem düşürülmek suretiyle nemin %50'ye inmesine kadar bekletilerek ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık sağlanarak kontrollü şartlarda dış koşullara adapte edilmesi sağlanmıştır.

3.2.2.4. Adaptasyon odasının hazırlanması

Bitki büyüme kabini içerisinde çevresel koşullara uygun hale gelen bitkiler arazi koşullarına uygun hale getirilmek üzere gün ışığından iyi faydalanılan bu bölüme aktarılmıştır.



Şekil 3.3. a) Steril oda, b) büyüme odası

3.2.3. Stok çözeltilerin ve besi ortamlarının hazırlanması

Çalışmamızda (Murashige ve Skoog, 1962) tarafından önerilen temel MS besi ortamı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan besi ortamına ait stok çözeltilerin içeriği Çizelge 3.1’de; Bitki Büyüme Düzenleyicilere stok çözelti hazırlama prosedürü ve çözücüler ise Çizelge 3.2’de verilmiştir. Stok çözeltiler hazırlanırken her bir kimyasal bileşik tartılıp balon joje içerisinde konulduktan çözücü yardımıyla çözüldükten sonra bir miktar steril saf su eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla çözülme işlemi tamamlana kadar devam edilmiştir. Tamamen çözüldükten sonra üzeri steril suyla tamamlanan stok çözeltiler 4 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir. Çalışmanın tüm aşamalarında besi ortamı 6 g/l agar ile desteklenmiştir

Standart 1 litrelik MS besi ortamı hazırlamak için 1 litrelik otoklavlanabilir şişe içerisine mezür yardımı ile 500 ml’lik su ölçülüp konulmuştur. Ardından belirlenen sukroz miktarı eklenilmiştir. Daha sonra Çizelge 3.1’de belirlenen oranlarda stok çözeltilerden ilave edilmiştir. Eklenen her stok çözeltiden sonra çökme meydana gelmesin diye şişe çalkalanmıştır. Üzerine steril su eklenerek 1 litreye tamamlanmıştır. Amaca göre 250’lik otoklavlanabilir şişelere paylaştırılmıştır. Yine amaca göre belirlenen oranlarda BBD eklenerek ortam pH’sı 5.7-5.8’e ayarlanarak ortamın jelleşmesi için agar eklenmiştir. Otoklav sepetine dizilen kültür kaplarıyla birlikte otoklavda 121°C 20 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra kültür kapları steril kabin içerisinde ağızları ters bir şekilde

dizilerek 15 dakika boyunca UV ışığına maruz bırakılmıştır. Kültür kapları kuruyup besi ortamları elle tutulabilecek sıcaklığa ulaşınca ortalama her kültür kabına 50 ml olacak şekilde paylaştırılmış ve katılaşması sağlanarak ve ağızları kapatılarak kabin dışına alınmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Sterilize edilmiş besi ortamının kültür kaplarına dökülmesi

Çizelge 3.1. MS besi ortamının içeriği (Murashige ve Skoog, 1962)

MS Ana Solüsyon	
NH ₄ NO ₃	16.5 g
KNO ₃	19 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	4.4 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	3.7 g
KH ₂ PO ₄	1.7 g
Steril saf su	1000 cc
MS Mikroelement-1 Solüsyonu	
H ₃ BO ₃	620 mg
MnSO ₄ .4H ₂ O	1690 mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	860 mg
KI	83 mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	25 mg
Steril saf su	1000 cc
MS Mikroelement-2 Solüsyonu	
CuSO ₄ .5H ₂ O	5 mg
CoCl ₂ . 6H ₂ O	5 mg
Steril saf su	200 cc
Kompleks Kelatör	
FeSO ₄ .7H ₂ O	1.865 g
Na ₂ EDTA	1.39 g
Steril saf su	500 cc
Vitamin	
Glisin	200 mg
Nikotinik Asit	50 mg
Piridoksin HCl	50 mg
Thiamin HCl	10 mg
Steril saf su	100 cc
myo- inositol	
myo- inositol	5 g
Steril saf su	500 cc

Çizelge 3.2. Kullanılan hormonlar ve çözücüleri

(6-Benzylaminopürin) Ana Solüsyonu	
BAP	50 mg
NAOH	2-3 cc
Steril saf su	50 cc
NAA (α-Naftalenasetik asit) Ana Solüsyonu	
NAA	50 mg
%95 lik Etil Alkol	2-3 cc
Steril saf su	50
IBA (3-Indolbutirik asit) Ana Solüsyonu	
IBA	50 mg
%95 lik Etil Alkol	2-3cc
Steril saf su	50 cc

Çizelge 3.3. 1 litre MS besi ortamının hazırlanması

MS ana solüsyonu	100 ml
MS mikroelement-1	10 ml
Komplex keratör	10 ml
Myo-inositol	10 ml
Mikroelement-2	1 ml
Vitamin	1 ml
Sukroz	30 g
Agar	6 g

3.2.4. Uygulamalar kapsamında yürütülen çalışmalar

Yürütülen tez çalışması kapsamında aşağıdaki aşamalar izlenmiştir

- Eksplantların hazırlanması ve sterilizasyon
- Kültür başlatma çalışmaları
- Sürgün çoğaltım (proliferasyon) çalışmaları
- Sürgün köklendirme çalışmaları
- Aklimatizasyon (adaptasyon) çalışmaları

3.2.4.1. Eksplantların hazırlanması ve sterilizasyon

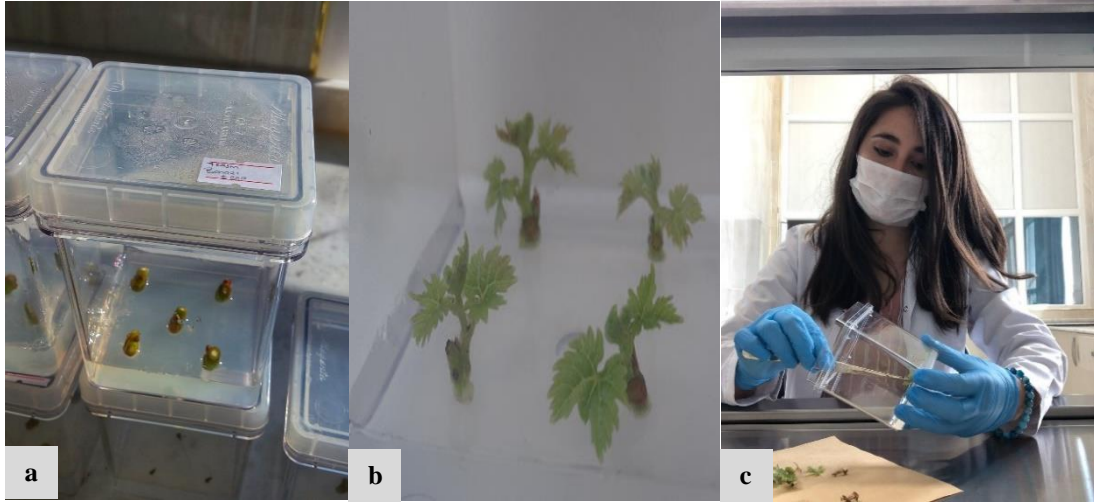
Çeşitlere ait materyaller sonbaharda, bitkiler dinlenme dönemine girerken 1 yaşlı sürgünlerden alınmıştır. Sürgünler tek boğumlu olmak üzere kesilmiştir. Erlenmayer içine alınan eksplantlar önce bir kaç defa çeşme suyunda yıkanmıştır. Ayrıca bir sterilizasyon protokolü geliştirilmemiş olup, literatürde kullanılan yöntemler modifiye edilerek kullanılmıştır (Yıldırım vd 2015; Yılmaz, 2018). Hazırlanan %15'lik NaClO eksplantların üzerine eklenilerek ağzı kapalı tutmak suretiyle 20 d boyunca çalkalanmıştır. Daha sonra steril suyla ön durulama yaptıktan sonra 5 defa 5'er d olmak üzere steril saf su ile durulanmıştır. Daha sonra bir miktar fungusit içerisinde 5 d bekletilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. a) Köhnü ve b) Banazkara üzümlerinden alınan sürgünlerin c) hazırlanması, d) sterilizasyonu.

3.2.4.2. Kültür başlatma çalışmaları

Steril edilmiş nodal tomurcuk içeren eksplantlar hazırlanan MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamına dikilerek sürdürülmüştür. Elde edilen sürgünler 4'er haftalık periyotlarla alt kültüre alınarak deney materyali için damızlık oluşturulmuştur. Çalışmada 0.5–1 cm sürgün uçları kullanılarak farklı besi ortamlarının, MS'in kuvvetlerinin ve şeker tiplerinin kültür başlatmaya etkisi incelenmiştir (Şekil 3.6). Kurulan deney serilerinde sürgün sayısı, sürgün uzunlukları, nod sayısı parametreleri ölçülmüştür.



Şekil 3.6. Kültür başlatmada; a) 1 hafta, b) 4. haftanın sonu, c) alt kültür çalışmaları.

3.2.4.2.1. Farklı besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi

Bu deneyde 0.5-1 cm sürgün uçları kullanılarak, kültür başlatmada MS (Murashige and Skoog, 1962), SH (Schenk and Hildebrand,1972), WPM (McCown and Lloyd, 1981) ve QL (Quoirin and Lepoivre, 1977) gibi farklı besi ortamların etkisi incelenmiştir. Kullanılan besi ortamlarında 6 g/l agar, 30 g/l sukroz ve 1 mg/l BAP ile desteklenmiştir.

3.2.4.2.2. MS kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi

Bu deneyde 0.5-1 cm sürgün uçları kullanılarak MS besi ortamı (1/4, 1/2, 1 ve 2) kuvvetlerinin proliferasyon üzerine etkisi incelenmiştir. Besi ortamı 6 g/l agar, 30 g/l sukroz ve 1 mg/l BAP ile desteklenmiştir.

3.2.4.3. Sürgün çoğaltım (proliferasyon) çalışmaları

Sürgün proliferasyon çalışmaları kapsamında yapılan deneylerde materyal olarak bitkilere ait 0.5-1 cm sürgün uçları kullanılmıştır. Sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, nod sayısı parametreleri incelenmiştir. Sürgün proliferasyon çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

Ortalama Sürgün Sayısı (adet): Eksplantlardan meydana gelen sürgünlerin sayılması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

Ortalama Sürgün uzunluğu(cm): Eksplantların her birinde meydana gelen sürgünlerin uzunlukların ölçülmesiyle ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

Ortalama Nod Sayısı (adet): Her bir sürgündeki boğumların sayılmasıyla ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

3.2.4.3.1. Şeker tiplerinin proliferasyona etkisi

Bu deneyde, 0.5-1 cm sürgün uçları kullanılarak proliferasyona farklı şeker tiplerinin (sukroz, glikoz, laktoz, fruktoz, manitol, sorbitol) etkisi incelenmiştir. Her şeker tipinden 30'ar g kullanmıştır. Her deney serisi 6 g agar ve 1 mg/l BAP ile desteklenmiştir.

3.2.4.3.2. BAP konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi

Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin proliferasyonu üzerine, farklı BAP konsantrasyonlarının (0, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2 ve 4 mg/l) etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 g sukroz ve 6 g agar ilave edilmiştir.

3.2.4.3.3. BAP içeren besi ortamına farklı oksin ilavesinin proliferasyona etkisi

Bu deneyde, materyallerimize ait boğumların *in vitro* şartlarda sürdürülmesi sonucu elde edilen sürgünlerin BAP içeren ortama IBA ve NAA konsantrasyonlarının (0.1, 0.3 ve 0.5 mg/l) proliferasyona, etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 g sukroz, 0.6 mg/l BAP, 6 g agar ilave edilmiştir.

3.2.4.4. Sürgün köklendirme çalışmaları

Proliferasyonla elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla çalışmalarda 2-3 cm uzunluğundaki sürgünler kullanılmıştır. Sürgünlerin alt kısmındaki yaprakları temizlenerek köklenme ortamına aktarılmıştır. Ekim yapılan kültür kapları büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır. 4 haftalık periyodun sonunda aşağıdaki gözlemler alınmıştır.

Ortalama kök sayısı (adet): Köklenen her bir sürgündeki primer köklerin sayısını ifade etmektedir.

Ortalama kök uzunluğu(cm): Köklenen sürgünlerdeki primer kök uzunluğunun cetvel ile ölçülerek ortalamasının alınmasını ifade etmektedir.

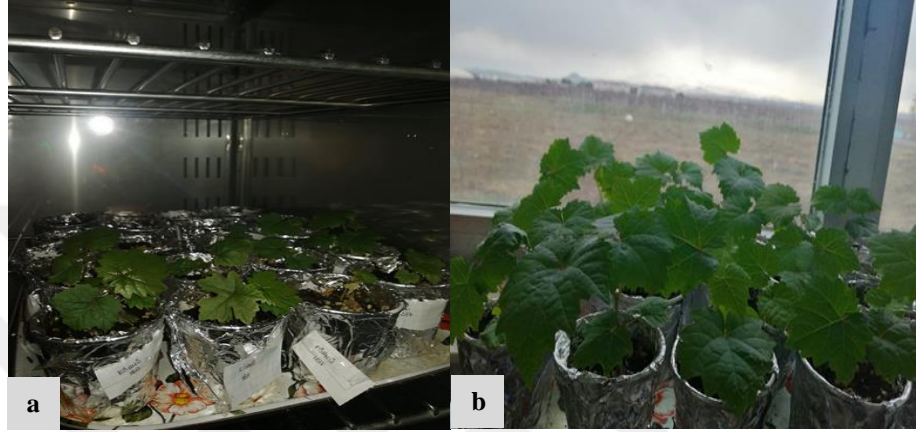
3.2.4.4.1. IBA ve NAA'nın köklenmeye etkisi

Bu deneyde, elde edilen sürgünler hormonsuz, 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA' lı besi ortamlarına alınarak köklenme üzerine etkileri incelenmiştir.

3.2.4.5. Aklimatizasyon (adaptasyon) çalışmaları

In vitro'da köklenmiş çeşitlere ait bitkilerin arazi şartlarına uyum sağlamasında ilk aşama olan aklimatizasyon için torf perlit karışımı kullanılmıştır.

Köklenmiş bitkiler kültür kaplarından çıkarılarak musluk suyu altında köklerine zarar verilmeden yıkanarak su içerisinde belli bir süre bekletilmiştir. Daha sonra sterilize edilmiş torf perlit karışımına dikilerek bitki büyüme kabinine alınmıştır. Bitki büyüme kabininde %90 nemden başlayarak (48 saatte bir %5 nem seviyesi düşürüldü) 24 °C’de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak şekilde bitkiler %50 neme alıştırmıştır. Kabinde çıkarılan bitkiler alıştırma odasına alınarak arazi şartlarına tamamen uyumlu hale getirilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. a) Büyüme kabininden, b) Alıştırma odasından görünüm.

3.2.5. Verilerin değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi amacıyla SPSS 25.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Test edilen uygulamalar arasındaki farkların belirlenmesi için ANOVA ya 0.05 önem seviyesinde DUNCAN testine tabi tutulmuştur.

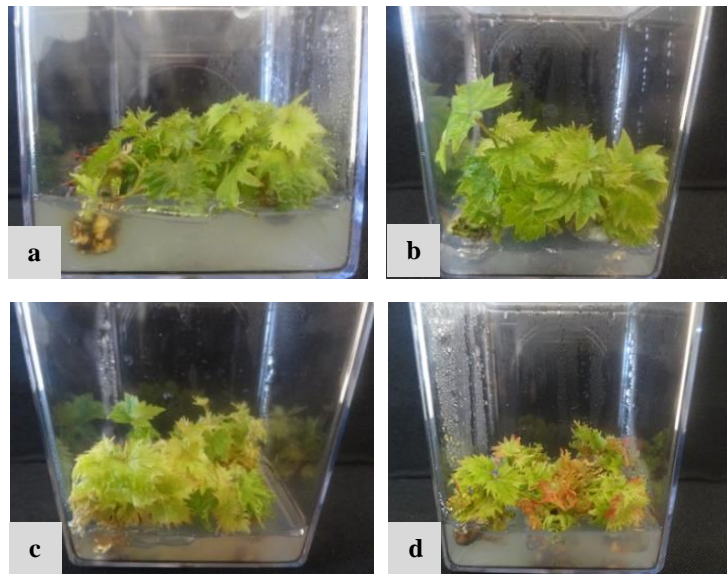
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Farklı Besi Ortamlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu uygulamada 1 mg/l BAP içeren MS, QL, SH, WPM besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi incelenmiştir. Elde edilen verilerin istatistiki analizleri yapılmış Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Banazkara çeşidinde sürgün sayısı en fazla QL besi ortamı (3.36) ve MS besi ortamında (3.24) gözlenmiştir. Ancak QL besi ortamı uygulamasında sürgün yapraklarında renk açılmaları ve sürgünlerin taslak halinde kısa ve kalın kaldığı gözlenmiştir. Sürgün uzunluğunu en fazla MS besi ortamı (1.16) verirken en az sürgün uzunluğunu WPM besi ortamı (0.61) vermiştir. En uzun sürgün uzunluğuna paralellik göstererek en fazla nod sayısını MS besi ortamı (5.47) verirken en düşük nod sayısını WPM besi ortamı (1.72) vermiştir (Çizelge 4.1).

Köhnü çeşidinde en yüksek sürgün sayısını MS besi ortamı (3.27) vermiş olup bunu QL (3.25) ve SH besi ortamı (3.22) takip etmiştir. Fakat SH besi ortamındaki bitkilerin yapraklarında hafif sararma ve yoğun bir kallus gelişimi gözlenmiştir. En yüksek sürgün uzunluğu ortalamasında QL besi ortamı (1.13) en iyi sonucu vermiş olup; MS besi ortamı (1.03) takip etmektedir. Nod sayısında sürgün uzunluğuna paralel olarak artış göstermiş olup en çok nod sayısını QL (6.54) ve MS besi ortamları (5.99) verirken en düşük sürgün sayısını WPM ortamı (3.76) vermiştir (Çizelge 4.2; Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Köhnü üzümünde a) MS, b) QL, c) SH ve d) WPM ortamlarının etkisi

Çizelge 4.1. Banazkara üzüm çeşidinde farklı besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
MS	3.24±0.14 a	1.16±0.14 a	5.47±0.17 a
QL	3.36±0.10 a	0.80±0.03 b	3.63±0.17 b
SH	2.64±0.10 b	0.72±0.03 b	2.24±0.17 c
WPM	2.35±0,10 b	0.61±0.02 c	1.72±0.13 d
F	18.049***	42.294***	98.093***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ öd = İstatiksel olarak önemli değildir. (Duncan p > 0,05) + * = Duncan p < 0,05 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir. + ** = Duncan p < 0,01 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir. + *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

Çizelge 4.2. Köhnü üzüm çeşidinde farklı besi ortamlarının kültür başlatma etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
MS	3.27±0.32 a	1.03±0.04 a	5.99±0.25 a
QL	3.25±0.23 a	1.13±0.04 a	6.54±0.17 a
SH	3.22±0.23 a	0.84±0.04 b	5.15±0.21 b
WPM	2.24±0.16 b	0.62±0.02 c	3.76±0.12 c
F	4.843*	37.317***	34.414***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ * = Duncan p < 0,05 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir. + *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

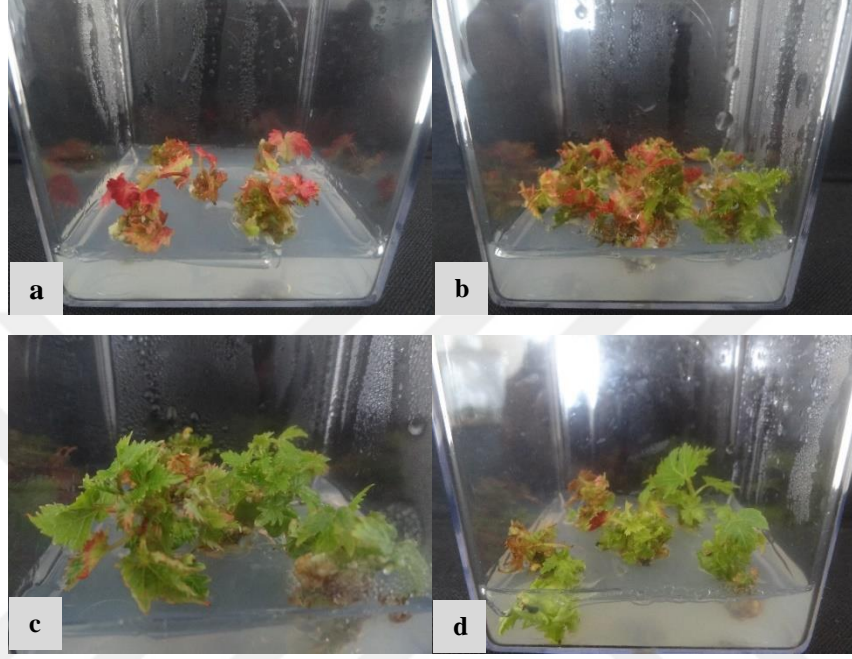
4.2. MS Kuvvetlerinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu uygulamada MS besi ortamı kuvvetlerinin (1/4, 1/2, 1 ve 2) kültür başlatmaya etkisi incelenmiştir. İstatistik analizler neticesinde elde edilen sonuçlara Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te yer verilmiştir

Banazkara çeşidinde en fazla sürgün sayısını 1 MS (2.96) ortamı sağlarken; en düşük sürgün sayısını ¼ MS içeren ortam (1.56) vermiştir. En yüksek sürgün uzunluğu ortalamasını (2.96) ve nod sayısını (5.77) 1 MS içeren ortam vermiştir. ¼ ve ½ MS ortamlarında gelişimin zayıf olduğu ve yapraklarda kızarıklık bulunduğu gözlenmiştir. 2 MS ortamında sürgünlerde kısmi kurumaların görüldüğü ve kahverengileşme meydana geldiği görülmüştür (Çizelge 4.3; Şekil 4.2).

Köhnü çeşidinde ortalama sürgün sayısı 1 MS ortamı (3.30) öne çıkarken diğer 3 uygulama aynı grupta yer almıştır. Sürgün uzunluğu (1.18) ve sürgün

uzunluğuna (5.38) nod sayısı ile 1 MS uygulaması öne çıkmıştır. ¼ ve ½ MS ortamlarında gelişimin zayıf olduğu gözlenmiştir. 2 MS ortamında bazı eksplantların tamamen öldüğu gözlemlenirken, bazı eksplantlarında kuruyan kısımlarının altından yeni sürgün sürdüğu görülmüştür (Çizelge 4.4).



Şekil 4.2. Banazkara üzümünde a) ¼ MS, b) ½ MS, c) 1 MS ve d) 2 MS kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi

Çizelge 4.3. Banazkara üzüm çeşidinde MS besi ortamı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
1/4 MS	1.56±0.13c	0.47± 0.02 c	2.59±0.15 c
1/2 MS	1.95±0.14b	0.48±0.02 c	2.80±0.11 c
1 MS	2.96±0.13a	1.12±0.04 a	5.77±0.17 a
2 MS	2.11±0.15b	0.73±0.04 b	3.85±0.26 b
F	20.192***	69.695***	75.453***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

Çizelge 4.4. Köhnü üzüm çeşidinde MS besisi ortamı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
1/4 MS	1.83±0.13 b	0.68±0.03 b	3.93±0.18 b
1/2 MS	2.28±0.11 b	0.64±0.03 b	3.58±0.13 b
1 MS	3.30±0.27 a	1.18±0.05 a	5.38±0.18 a
2 MS	1.91±0.21b	0.70±0.04 b	3.70±0.16 b
F	13.328***	36.214***	25.452***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

4.3. Şeker Tiplerinin Proliferasyona Etkisi

Bu uygulamada farklı şeker tiplerinin (laktoz, fruktoz, glikoz, sukroz, sorbitol ve mannitol) poliferasyona etkisi incelenmiştir. Her şeker tipinden 30 g/l kullanılmıştır. Elde edilen veriler istatistiki olarak değerlendirilmiş olup sonuçları Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Banazkara çeşidinde en fazla sürgün sayısını glikoz (2.80) ve sukroz (2.73) şekerleri vermiştir. Her ikisinde proliferasyon oldukça iyi sürgün gelişimi kalitelidir. Sürgün uzunluğu en iyi glikozda (0.84) gözlemlenirken sukroz (0.79), fruktoz (2.13) ve laktoz (0.72) da bunu takip etmektedir. Nod sayısında da en iyi sonucu glikoz (4.07) ve sukroz (3.98), laktoz (3.95) ve fruktoz (3.89) şekerleri vermiştir. Mannitol ve Sorbitolde gelişimin zayıf olduğu sürgünlerin dikildiği gibi kaldığı ve yapraklarda kızarıklık olduğu gözlenmiştir. Laktoz şekerinde ise bitki yapraklarının türe özgü olmadığı proliferasyon ve sürgün gelişiminin zayıf olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

Köhnü çeşidinde en fazla sürgün sayısını sukroz (2.13) şekerini verirken diğer uygulamalar aynı grup içerisinde yer almıştır. Sürgün uzunluğu yönünden tüm uygulamaların aynı grup içerisinde yer aldığı aralarında herhangi bir farkın olmadığı gözlenmiştir. Nod sayısı incelendiğinde sukroz (4.28) şekerinin öne çıktığı mannitol ve sorbitol (1.28) şekerlerinin de uygulamadaki en az nodu oluşturduğu gözlenmiştir. Uygulamalara genel olarak baktığımızda sukroz şekerini uygulanan bitkiler hariç diğer şeker tiplerindeki bitkilerin yapraklarında kızarıklık ve yer yer renk açılmaları gözlenmiştir. Mannitol ve Sorbitol şekerleri içeren ortamlarda bitkilerin dikildiği gibi kaldığı herhangi bir gelişimin olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5. Banazkara üzüm çeşidinde şeker tiplerinin proliferasyona etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
Laktoz	2.40±0.29 ab	0.72±0.03 ab	3.95±0.13 a
Fruktoz	2.13±0.19 b	0.77±0.04 ab	3.89±0.19 a
Glikoz	2.80±0.11 a	0.84±0.04 a	4.07±0.17 a
Sukroz	2.73±0.18 a	0.79±0.05 ab	3.98±0.16 a
Sorbitol	1.87±0.17 b	0.68±0.03 b	3.25±0.08 b
Mannitol	1.23±0.12 c	0.71±0.05 ab	3.69±0.20 ab
F	9.289***	2.109 öd	3.017**

(Her uygulama için 15 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ öd = İstatiksel olarak önemli değildir. (Duncan $p > 0,05$) + ** = Duncan $p < 0,01$ önem seviyesinde istatiksel olarak önemlidir. + *** = Duncan $p < 0,001$ önem seviyesinde istatiksel olarak önemlidir.)

Çizelge 4.6. Köhnü üzüm çeşidinde şeker tiplerinin proliferasyona etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
Laktoz	1.50±0.14 b	1.09±0.30	3.28±0.25 b
Fruktoz	1.33±0.13 b	0.80±0.02	3.28±0.23 b
Glikoz	1.40±0.13 b	0.90±0.06	3.28±0.16 b
Sukroz	2.13±0.32 a	0.94±0.06	4.28±0.21 a
Sorbitol	1.00±0.00 b	0.86±0.03	1.28±0.21 c
Mannitol	1.00±0.00 b	0.78±0.01	1.28±0.00 d
F	6.262***	0.629 öd	24.818***

(Her uygulama için 15 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ öd = İstatiksel olarak önemli değildir. (Duncan $p > 0,05$) + *** = Duncan $p < 0,001$ önem seviyesinde istatiksel olarak önemlidir.)

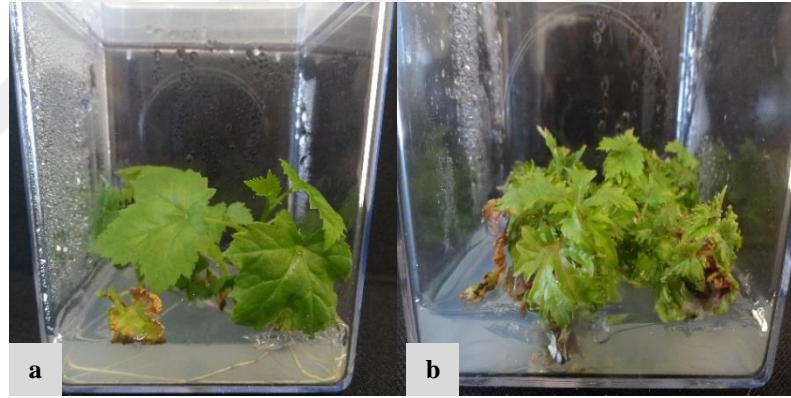
4.4. BAP Konsantrasyonlarının Proliferasyona Etkisi

Bu uygulamada farklı konsantrasyonlardaki BAP'ın (0, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2 ve 4 mg/l) proliferasyona etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8'de verilmiştir.

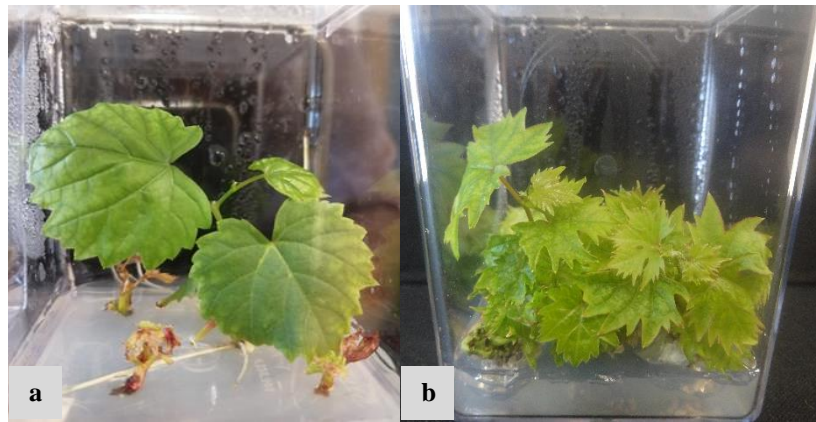
Banazkara'da; en yüksek sürgün sayısını 0.75 mg/l BAP (2.92) uygulaması sağlarken; en düşük sürgün sayısı 0 mg/l BAP uygulamasında izlenmiştir. BAP'ın kullanılmadığı (1.26) uygulama en fazla sürgün uzunluğu verirken 0.75 mg/l BAP içeren (0.91) ortam en az sürgün uzunluğunu vermiştir. Bunun nedeni poliferasyon arttıkça sürgün uzamasının azalmasıyla orantılıdır. BAP içermeyen uygulamada proliferasyon meydana gelmezken mevcut sürgünlerde uzama ve köklenme meydana geldiği gözlenmiştir. En yüksek nod sayısı 0.5 mg/l BAP (5.45) ve 0.75 mg/l BAP

(5.24) uygulamalarında gözlemlenirken en az nod sayısı 4 mg/l BAP (2.88) uygulamasında görülmüştür. 1mg/l BAP uygulamasından itibaren artan konsantrasyonla beraber komplike yapılar meydana geldiği ve oluşan sürgünlerin kümeleşmesiyle beraber kısa kaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.7; Şekil 4.3).

Köhnü üzüm çeşidinde; en fazla sürgün sayısını 1 mg/l BAP uygulaması (2.95) sağlarken en az sürgün sayısını BAP içermeyen uygulama (1.00) vermiştir. BAP içermeyen uygulamada sürgünlerin yarısında ölüm meydana gelmiştir. 1 mg/l BAP (1.21) uygulaması en uzun sürgün ortalaması vermiş olup 0.5, 0.75 ve 1.5 mg/l BAP uygulamaları da aynı grupta yer almıştır. En az uzunluk 4 mg/l BAP uygulamasında görülmüştür. Nod sayısına bakıldığında en fazla 1 mg /l BAP (5.39) uygulamasında bulunduğu 0.5, 0.75, 1.5, 2, uygulamalarında aynı grupta yer aldığı gözlenmiştir. 1.5 BAP konsantrasyonundan itibaren artan konsantrasyonlarla yapraklarda renk açılmaları, sararmalar, sürgün boylarında kütleşmenin arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.8; Şekil 4.4).



Şekil 4.3. Banazkara' da a) Hormonsuz ,b) 0.75 mg/l BAP içeren ortamların etkisi



Şekil 4.4. Köhnü'de a) hormonsuz, b) 1 mg/l BAP içeren ortamların etkileri

Çizelge 4.7. Banazkara üzüm çeşidinde BAP'ın farklı konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
0 mg/l BAP	0.95±0.02 c	1.26±0.13 a	4.81±0.34 b
0.5 mg/l BAP	2.58±0.16 ab	1.06±0.04 b	5.45±0.19 a
0.75 mg/l BAP	2.92±0.14 a	0.91±0.02 c	5.24±0.13 ab
1 mg/l BAP	2.52±0.10 b	0.81±0.03 cd	4.85±0.15 b
1.5 mg/l BAP	2.79±0.08 ab	0.78±0.03 d	4.94±0.12 b
2 mg/l BAP	2.72±0.16 ab	0.70±0.02 de	3.99±0.12 c
4 mg/l BAP	2.60±0.10 ab	0.60±0.02 e	2.88±0.13 d
F	32.629***	29.013***	36.032***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

Çizelge 4.8. Köhnü üzüm çeşidinde BAP'ın farklı konsantrasyonlarının proliferasyona etkileri

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
0 mg/l BAP	1.00±0.00 c	1.00±0.06 b	4.00±0.23 b
0.5 mg/l BAP	2.00±0.21 b	1.14±0.09 ab	4.93±0.33 a
0.75 mg/l BAP	1.95±0.25 b	1.17±0.07 ab	5.25±0.25 a
1 mg/l BAP	2.95±0.15 a	1.21±0.05 a	5.39±0.15 a
1.5 mg/l BAP	2.60±0.28 ab	1.13±0.04 ab	5.37±0.15 a
2 mg/l BAP	2.25±0.27 ab	1.03±0.04 b	5.16±0.17 a
4 mg/l BAP	2.25±0.24 ab	0.80±0.03 c	3.87±0.15 b
F	5.319***	8.444***	9.978***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

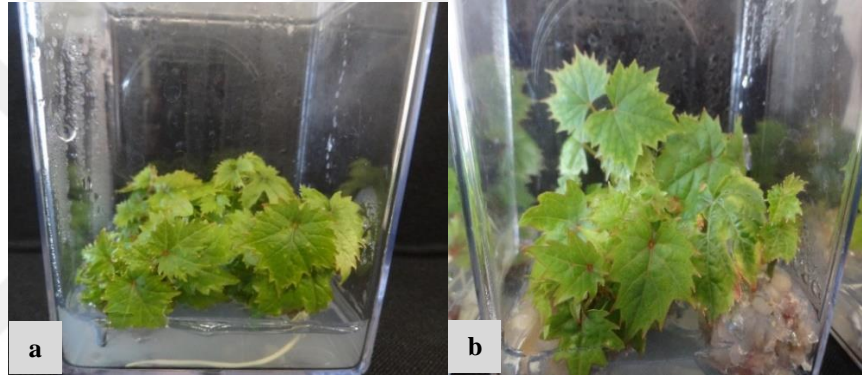
4.5. BAP İçeren Besi Ortamına Farklı Oksin İlavelerinin Proliferasyona Etkisi

Bu uygulamada 0,6 mg/l BAP içeren ortama ilave edilen NAA ve IBA hormonlarının 0,1, 0,3 ve 0,5 mg/l konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi incelenmiştir. Veriler istatistiki açıdan değerlendirilip Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da yer verilmiştir.

Banazkara'da uygulanan 0,1 mg/l NAA (2,88) en yüksek sürgün sayısı verirken 0,5 mg/l NAA (1,96) uygulaması en az sürgün sayısına sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5 a). Sürgün uzunluğuna bakıldığında 0,1 mg/l NAA (1,03) uygulaması en uzun sürgün ortalamasını verirken 0,5 mg/l NAA (0,63) uygulaması

en düşük sürgün uzunluğu ortalamasını vermiştir. Nod sayısı incelendiğinde en fazla nod 0.5 mg/l IBA (5.89) uygulamasında görülmüştür (Çizelge 4.9). Yine konsantrasyon miktarının artmasıyla beraber bitki gelişimi zayıflama meydana gelmiş olup köklenme oranı da paralel olarak artış göstermiştir.

Köhnü üzümünde; en fazla sürgün sayısını 0.3 mg/l IBA (1.80) uygulaması vermiştir (Şekil 4.5 b). Sürgün uzunluğu parametresi incelendiğinde en uzun sürgün ortalamasını 0.1 mg/l IBA (1.03) ve 0.3 mg/l IBA (0.98) uygulamalarında gözlenmiştir. Sürgün uzunluğuna paralel olarak en fazla nod sayısı sırasıyla IBA tüm dozlarındaki uygulamalarda görülmüştür (Çizelge 4.10). Genel olarak bakıldığında konsantrasyon miktarı arttıkça proliferasyonda azalma ve köklenme miktarında artış gözlenmiştir.



Şekil 4.5. (a) Banazkara üzümünde ve b) 0.1 mg /l NAA Köhnü üzümünde 0.3 mg/l IBA uygulamalarının sürgün sayısına etkisi

Çizelge 4.9. Banazkara üzümünde BAP içeren besi ortamına farklı oksin ilavelerinin proliferasyona etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
0.6 mg/l BAP+0.1 mg/l IBA	2.52±0.20 ab	0.78±0.03 b	4.80±0.19 b
0.6 mg/l BAP+0.3 mg/l IBA	2.64±0.16 ab	0.79±0.03 b	4.76±0.20 b
0.6 mg/l BAP+0.5 mg/l IBA	2.56±0.24 ab	0.85±0.03 b	5.89±0.22 a
0.6 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA	2.88±0.13 a	1.03±0.05 a	5.06±0.18 b
0.6 mg/l BAP+0.3 mg/l NAA	2.12±0.17 bc	0.76±0.03 b	3.49±0.15 c
0.6mg/l BAP+0.5 mg/l NAA	1.96±0.15 c	0.63±0.05 c	3.43±0.25 c
F	3.694**	13.325***	22.500***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ ** = Duncan p < 0,01 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir. + *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

Çizelge 4.10. Köhnü üzüm çeşidinde BAP içeren besi ortamına farklı oksin ilavelerinin proliferasyona etkisi

Uygulamalar	Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu	Nod Sayısı
0.6 mg/l BAP+0.1mg/l IBA	1.36±0.10 b	1.03±0.05 a	4.77±0.25 a
0.6 mg/l BAP+0.3 mg/l IBA	1.80±0.17 a	0.98±0.06 a	4.73±0.30 a
0.6 mg/l BAP+0.5 mg/l IBA	1.52±0.18 ab	0.93±0.07 ab	4.34±0.32 a
0.6 mg/l BAP+0.1 mg/l NAA	1.68±0.16 ab	0.77±0.04 b	4.14±0.28 ab
0.6 mg/l BAP+0.3 mg/l NAA	1.30±0.10 b	0.94±0.09 ab	4,20±0.21 ab
0.6 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA	0.76±0.04 b	0.76±0.05 b	3.42±0.27 b
F	2.352*	3.251**	2.707*

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ * = Duncan p < 0,05 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir. + ** = Duncan p < 0,01 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir)

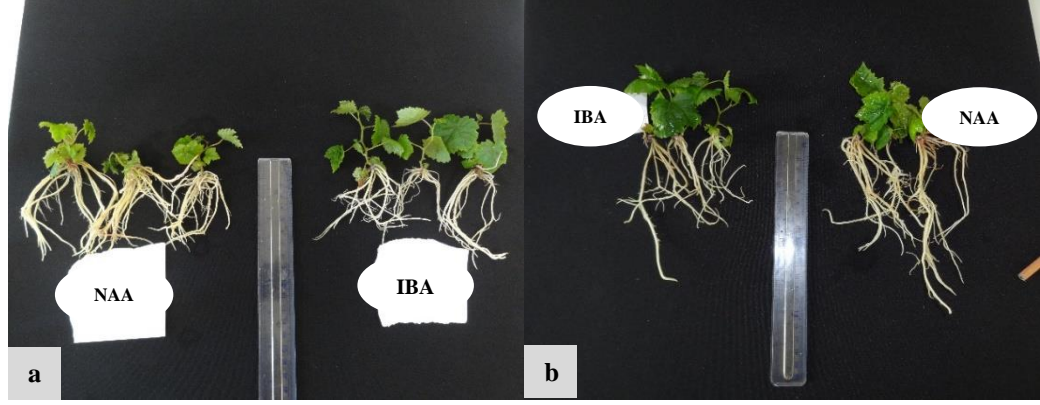
4.6. Farklı Oksinlerin Köklenmeye Etkisi

Bu uygulamada IBA ve NAA hormonlarının köklenme miktarına etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar istatistik analizine tabi tutulmuş olup Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Banazkara ve Köhnü çeşitlerinde 2 farklı hormonun kök sayısına ve kök uzunluğuna etkisi yönünden istatistiksel olarak fark belirlenmiştir. Banazkara’ da; kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında en fazla kök sayısını NAA ve IBA içeren ortam vermiştir. Kök uzunluğu incelendiğinde en uzun kök ortalamasını NAA içeren ortam sağlarken hormonsuz ortamın en az kök uzunluğuna sahip ortam olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.11; Şekil 4.6 a).

Köhnü’de; en fazla sayısına sırasıyla NAA ve IBA içeren ortamlar vermiştir. Kök uzunluğu incelendiğinde kök uzunluğuyla karşılaştırıldığında en uzun kök ortalamasını IBA ve NAA vermiştir (Çizelge 4.12; Şekil 4.6 b).

Genel olarak gözlemlere bakıldığında NAA içeren ortamda eksplantların köklenmesi daha hızlı meydana gelmiştir. Oluşan kökler diğer uygulamalarla karşılaştırıldığında daha kalın ve daha uzun olduğu görülmüştür. IBA içeren ortamda eksplantların köklenmesi NAA’ya göre biraz daha geç gerçekleşmiştir. Bu ortamda gelişen köklerin ince olduğu diğer hormonlu ortamın aksine sürgün gelişiminin de daha iyi olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. a) Banazkara ve b) Köhnü’de NAA ve IBA hormonlarının köklenmeye etkisi

Çizelge 4.11. Banazkara üzüm çeşidinde farklı oksinlerin köklenmeye etkisi

Uygulamalar	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu
Hormonsuz	4.11±0.90 b	4.67±0.44 c
1 mg/l NAA	10.72±0.72 a	6.85±0.15 a
1 mg/l IBA	9.88±0.75 a	5.63±0.14 b
F	12,028***	24,072***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

Çizelge 4.12. Köhnü üzüm çeşidinde farklı oksinlerin köklenmeye etkisi

Uygulamalar	Kök Sayısı	Kök Uzunluğu
Hormonsuz	2.11±0.31 b	3.52±0.38 b
1 mg/l NAA	8.90±0.88 a	6.40±0.31 a
1 mg/l IBA	6.94±0.67 a	7.24±0.32 a
F	14,378***	8,933***

(Her uygulama için 25 adet sürgün ucu kullanılmıştır.)

(+ *** = Duncan p < 0,001 önem seviyesinde istatistiksel olarak önemlidir.)

4.7. Aklimatizasyon (adaptasyon) Çalışmaları

Farklı köklendirme ortamlarından çıkarılıp sterilize edilmiş torf+perlit karışımına aktarılan bitkilerin bitki büyüme kabini içerisindeki adaptasyonları incelenmiştir. Çalışmada yaklaşık 3 hafta sonra güçlü ve sağlıklı çıkan bitkiler sayılmıştır. Ayrıca buradan çıkarılan bitkiler iklim odasına alınarak 6 ay sonunda sağlıklı ve sağlam kalan bitkiler sayılarak gözlem alınmıştır (Şekil 4.7). Çalışmanın sonucunda Banazkara’da IBA’da köklenmiş bitkilerin aktarma işleminden 3 hafta sonra 13 bitki, iklim odasına alındıktan 6 ay sonra 9 bitki olarak gerçekleşmişti.

Köhnü çeşidi için gerçekleşen bitki sayıları aynı sırayla (18/18) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.13).

NAA bulunan ortamda köklendirilen bitkilerin 3 hafta ve 6 ay sonraki bitki sayıları sırasıyla Banazkara çeşidi için (6/4) olarak gerçekleşirken; Köhnü için (19/9) olarak belirlenmiştir. Elde edilen gözlem ve sonuçlara göre, her iki çeşit için de 1 mg/l IBA'lı ortamda köklendirilen bitkilerin aklimatizasyon için daha uygun olduğu görülmüştür. NAA ortamındaki köklenme parametreleri daha iyi olmasına rağmen, aklimatizasyon aşamasında bu durumun bir avantaj sağlamadığı görülmüş, bu durumun ise köklerin çok uzamasına sayısının fazla olmasına rağmen yeterince şişkinleşmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Zaten birçok köklenme çalışmalarında kullanılan kökledirme düzenleyicisinin IBA olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.13. Banazkara ve Köhnü üzüm çeşidinde aklimatizasyon sonucu canlı kalan bitkiler (adet)

Oksin / Çeşit	Aktarmadan 3 hafta sonra		Aktarmadan 6 ay sonra	
	Banazkara	Köhnü	Banazkara	Köhnü
IBA	13	18	9	18
NAA	6	10	4	9

(Her uygulama için 20 adet köklendirilmiş bitki kullanılmıştır.)



Şekil 4.7. a) Aktarmadan 3 hafta sonra, b) 6 ay sonra

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma Banazkara ve Köhnü yerel üzüm çeşitlerinde uygun *in vitro* yönteminin belirlenmesi için yapılmıştır. Çalışmada besi ortamları ve konsantrasyonları, şeker tipleri, bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonları ve kombinasyonlarının sürgün oluşturma, uzunluk ve nod sayısına etkileri; köklendirme hormonlarının kök sayısı ve uzunluğuna etkileri incelenmiştir. Yapılan bu çalışma kültür başlatma, proliferasyon ve köklendirme olmak üzere üç farklı aşamada değerlendirilmiştir.

In vitro çoğaltma, dünya çapında bitki çoğaltımı için kullanılan ticari bir tekniktir. Bu nedenle, *in vitro* tekniklerin geliştirilmesi birçok bitki türünün hızlı yayılması için kesin bir yoldur.

Kültür başlatmada seçilecek besi ortamı eksplantların büyüme ve gelişmesini ya da farklılaşmasına etki ettiğinden uygun ortamı belirlemek önemlidir. Banazkara ve Köhnü yerel üzüm çeşitlerinde uygun besi ortamını belirlemek için yapılan çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde QL ve MS besi ortamları her iki üzüm çeşidinde de ön plana çıkmıştır. Mozafari vd. (2016) WPM ve MS besi ortamlarının üç üzüm çeşidinin (Bidaneh Sefi d', 'Farkhi' ve 'Khoshnav') üzerindeki etkisini gözlemlemiş ve MS'in en uygun ortam olduğunu belirlemişlerdir. Yılmaz (2018), Karaca (2006), Ekbiç Bilir vd. (2015), Hashımı (2011), Aazami (2010), Abido vd. (2013) ve Banilas ve ark. (2007) farklı üzüm çeşitlerinde yaptıkları çalışmalarda eksplantlarını MS besi ortamında kültüre almışlardır. Skiada ve ark. (2010) ise Malagouzia" ve "Xinomavro" üzüm çeşitlerinde içlerinde MS'inde bulunduğu 6 farklı ortamın sürgün proliferasyonuna etkilerini araştırarak çeşitlerde sırasıyla Galzy ve Zlenco en etkili ortamı olduğu tespit etmişlerdir. Çalışmada QL en yüksek ortalamayı vermesine karşın sürgün kalitesinin düşük olması ve yapraklarda renk açılmalarının gözlemlenmesi sebebiyle MS besi ortamı en uygun ortam olarak belirlenmiştir. MS ortamı yüksek azot ve amonyum-nitrat içerdiğinden eksplantlar yeşil kalmış, gelişim kuvvetli seyretmiştir.

MS'in farklı konsantrasyonları değerlendirildiğinde gözlemlenen tüm parametrelerde her iki üzüm çeşidi için 1 MS konsantrasyonu en iyi sonucu vermiştir. Osman (2004), üzümlerin klonal çoğaltılmasında kullanılmak üzere uygun MS konsantrasyonunu belirlemek için yaptığı çalışmada 1 MS içeren ortamın en

başarılı sonucu verdiğini gözlemlemiştir. Al-Mousa vd. (2015) Black Matrough üzüm çeşidinde yaptıkları çalışmada en yüksek sürgün uzunluğu ve en fazla sürgün sayısını 1 MS içeren ortamın verdiğini bildirmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar mevcut çalışmalar ile paralellik göstermiştir.

In vitro koşullarda fotosentez ya hiç yoktur ya da yetersizdir (Hatipoğlu, 2015). Büyüme ve gelişmenin sağlanması için ortama ilave edilen şeker, besi ortamlarının en önemli katkı maddelerden biridir. 6 farklı şeker tipinin 2 üzüm çeşidine etkisi incelendiğinde her iki çeşitte de glikoz ve sukroz şekerlerinin tüm parametrelerde daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Hartl vd. (1990), Devrim (2019), Babalık, (2006), Ahmed (2015), Aykanat (2016), Yılmaz (2018) yaptıkları çalışmalarda sukroz şekerini kullandıklarını bildirmişlerdir. Genel olarak kültür ortamlarında en fazla tercih edilen şeker tipi sukrozdur. Sukroz şekerinin piyasada daha rahat bulunması ve diğer şekerlere göre uygun olması sebebiyle daha çok tercih edilmektedir. Sırasıyla glikoz, maltoz, rafinoz ve fruktoz şekerleride en çok kullanılan şekerler arasındadırlar. Babaoğlu vd. (2001) bazı durumlarda glikoz rejenarasyonun uyarılmasında sukrozdaki daha etkili olabildiğini belirtmiştir. Çünkü sukroz disakarittir ve hücreler tarafından glikoz ve fruktoza parçalandıktan sonra kullanılabilirliğini bildirmiştir.

Proliferasyon, mikroçoğaltımın en önemli aşaması olup kültür ortamında gelişen eksplanttan çok sayıda sürgün elde etme yöntemidir (Onay ve ark., 2019). Bu aşamada bitki büyüme düzenleyicileri önemli rol oynamaktadır. Ortama ilave edilen yüksek konsantrasyonlu oksin grupları köklemeyi teşvik ederken sitokininlerin hücre bölünmesini arttırmasıyla sürgün sayısı ve gelişimini teşvik ettiği bilinmektedir. (Onay ve ark., 2019). Çalışmada BAP'ın farklı konsantrasyonlarının sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve nod sayısına etkisi incelenmiştir. Çalışmamızda kullanılan Banazkara çeşidinde BAP kuvvetlerinde en iyi sürgün sayısı 0.75 mg/l BAP, sürgün uzunluğu 0 BAP ve nod sayısı da 0.5 mg/l BAP uygulamasında gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda Banazkara çeşidinin 0.75 mg/l BAP'tan sonraki konsantrasyon artışlarında da sürgün sayısında azalışlar izlenmiştir. Köhnü çeşidinde BAP kuvvetlerinin sürgün sayısı /uzunluğuna ve nod sayısına en iyi etkiyi 1 mg/l BAP uygulamasının sağladığı gözlenmiştir. Yılmaz (2018), Kinf (2017) proliferasyona etki eden uygun BAP konsantrasyonunu belirlemek için yaptıkları çalışmalarda 1 mg/l BAP konsantrasyonunun en iyi sonucu

verdiğini bildirmişlerdir. Mozafarı vd. (2016) farklı üzüm çeşitlerinde yaptıkları çalışmada en iyi sonucu 4.4 mg/l BA takviye edilmiş ortamdan elde ettiğini bildirmiştir. Dessoky ve Attia (2016) AL-bayidi (*Vitis vinifera L.*) çeşidinde hem sürgün uzunluğu hem de sürgün sayısında en iyi sonucu 2 BAP içeren ortamdan elde ettiklerini bildirmiştir.

BAP içeren ortama oksin gruplarının ilavesine etkileri incelenmiştir. Çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda Banazkara üzüm çeşidinde; sürgün sayısı/uzunluğu parametrelerinde BAP içerikli 0,1 mg/l NAA kombinasyonlu ortam en iyi sonucu verirken, BAP içerikli 0,5 mg/l IBA kombinasyonlu ortam en çok nod sayısını vermiştir. Köhnü çeşidinde sürgün sayısı parametresinde BAP içerikli 0,3 mg/l IBA kombinasyonlu ortam en iyi sonucu verirken sürgün uzunluğu ve nod sayısı parametrelerinde de BAP içerikli 0,1 mg/l IBA kombinasyonlu ortam en iyi sonucu vermiştir. Bir tür için etkili olan BBD ve konsantrasyonu başka bir tür/çeşit için etkili olmayabilir. Abido vd. (2013) Muskat of Alexanrea asma çeşidinde BAP ve NAA kombinasyonlarının maksimum filizlenmeye etkilerinin incelendiği çalışmada 3.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l NAA içeren ortamın çok sayıda sürgün verdiği bildirilmiştir. Shaaban vd. (2015) fark üzüm çeşitlerinde farklı hormon ve kombinasyonların sürgün ucu ve boğumların filizlenmelerine etkisi ve sürgü sayısına etkilerinin araştırıldığı çalışmada 1.0 mg/l BA ve 0.01 mg/l NAA içeren ortamın en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir. Han ve ark (2003) *V. amurensis* ev. Zuoshan 1 çeşidinde 0.05 mg/l IAA ve 1 mg/l BA kombinasyonlu ortamda en çok sürgün sayısına ulaşmıştır. Yerbolova vd. (2013) en fazla bitkiyi Seperavi üzüm çeşidinde 1mg/l BAP ve 0.01 mg/l NAA kombinasyonundan sağlarken Riesling üzüm çeşidinde 1 mg/l BAP / 0.02 mg/l NAA kombinasyonundan sağladıklarını bildirmişlerdir. Alizadeha vd. (2010) 4 farklı üzüm anacında 2.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l NAA konsantrasyonlu ortamın kültür artışı sağladığını gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışmada da farklı çeşitlerin hormon kombinasyon istekleri farklılık göstermiştir. Bu durumun nedeni farklı çeşitlerden kaynaklanabilir. Değişen hormon ve konsantrasyonlara tür/çeşitlerin gösterdikleri tepkiler *in vitro* rejenasyonu etkilemektedir

Mikroçoğaltımın bir diğer önemli aşamasını oluşturan köklendirme, *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünleri dış koşullara aktarmak için gerekmektedir. Uygun köklendirme ortamının seçilmesiyle maksimum köklenmenin amaçlandığı bu safhada

uyartım, ortama oksin gruplarının ilavesiyle sağlanmaktadır. Uygulamalar parametreler doğrultusunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Banazkarada; NAA içeren ortam her iki parametre için ön plana çıkmıştır. Köhnü de kök sayısında NAA ilaveli ortam, kök uzunluğunda IBA ilaveli ortam öne çıkmıştır. Ahmed (2015) çalıştığı çeşitler üzerinde köklenme oranı ve en fazla kök sayısını NAA içeren ortamın olduğunu, en uzun kök ortalamasında IBA içeren ortamın verdiğini bildirmiştir. Skiada vd. (2010) her iki çeşitte köklenme yüzdeleri olarak en başarılı sonucu IBA konsantrasyonları içeren ortamların verdiğini bildirmiştir. Abido vd. (2013) 1.0 mg/l IBA + 0.5 mg/l NAA kombinasyonunda en yüksek köklenme yüzdesine ulaşmışlardır. Dessoky ve Attia (2016) 2 mg/l IBA+0.1 mg/l NAA içeren ortamda %100 köklenme sağlamıştır.

Yapılan gözlemler ve elde edilen sonuçlara göre Banazkara'da proliferasyon için MS+ 30 mg/l sukroz+ 0.75 mg/l BAP ve/veya (0.6 mg/l BAP+ 0.1 mg/l NAA); köklendirme ortamında 1mg/l NAA'nın en uygun sonucu verdiği belirlenmiştir. Köhnü'de proliferasyon için MS+ 30 mg/l sukroz+ 1 mg/l BAP ve/veya (0.6 mg/BAP+ 0.3 mg/IBA); köklendirme ortamında 1 mg/l NAA'nın en uygun ortam olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışma Malatya yöresinde yetiştiriciliği yaygın olan iki üzüm çeşidi için ilk niteliğinde olup büyük önem arz etmektedir. Geliştirilen bu protokol sayesinde, yöre ekonomisi için önemli bir yere sahip olan Banazkara ve Köhnü üzüm çeşitlerinin gerek biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanımının belirlenmesi, gerekse bu çeşitlerin üstün vasıflarına yeni özelliklerin eklenmesi; virüsten ari bitki üretiminin gerçekleştirilmesi amacıyla önümüzdeki süreçte yapılacak ıslah çalışmalarının desteklenmesi ve ıslah süreçlerinin kısaltılması ve iyileştirilmesi için biyoteknolojik çalışmaların zeminini oluşturmak ve ihtiyaç halinde genetik kaynak olarak muhafazasını sağlayacaktır.

6. KAYNAKÇA

- Aazami, M.A. (2010). Effect of some growth regulators on “*in vitro*” culture of two *Vitis vinifera* L. Cultivars. Romanian Biotechnological Letters Vol. 15, No.3, Copyright © 2010 University of Bucharest
- 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, ISSN 1990-9233
- Ahmed, A.M.N. (2015). *In Vitro* Micropropagation and Anatomical Characterization of *Vitis Vinifera* L. Plants Kurdistan Region in Iraq. Master Thesis Department Of Bioengineering And Sciences, Kahramanmaraş Sütçü İmam University. Kahramanmaraş.
- Alizadeh, M., Singh, S.K., Patel, V.B., Deshmukh, P.S. (2018) . *In vitro* Clonal Multiplication of Two Grape (*Vitis* spp.) Rootstock Genotypes. Plant Tissue Cult. & Biotech. 28(1): 1-11
- Al-Mousa, R.N., Hassan, N.A., Stino, R.G., Gomaa, A.H. (2015). Effect of Plant Growth Regulators and Medium Constituents on *In Vitro* Propagation of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. “Black Matrouh”. The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. ISSN:2305 – 5243
- Anonim (2017a). OIV, World Viti viniculture Situation, http://www.oiv.int/public/medias/5479/oiv-en_bilan-2017.pdf: [erişim tarihi: 08.09.2018].
- Anonim, (2020a). <https://www.fidanci.com.tr/Asma-Uzum-fidani-Banazi-Karasi,PR-2228.html>. (Erişim tarihi: 13/04/2020)
- Anonim, (2020b). <https://beydagihaberajansi.com/malatya-banazi-karasi-uzumu-cografisaret-olarak-tescillendi/>. (Erişim tarihi: 13/04/2020)
- Anonim, (2020c). <https://www.arapgir.org/arapgir-kohnu-zumu-I5502551> (Erişim tarih: 13/04/2020)
- Anonim, (2020d). <https://www.arapgir.bel.tr/icerikdetay.aspx?icerikid=342> Erişim tarihi: 13/04/2020
- Aykanat, A. (2016). Asma Ağlama Suyunun *İn Vitro* Besin Ortamı Olarak Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Van.
- Babalık, Z., (2006). Asmada Farklı Eksplantların *In Vitro* Rejenerasyonları Üzerine Bir Araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Isparta.
- 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
- Banilas, G., Korkas, E. (2007). Rapid micro-propagation of grapevine (cv. Agiorgitiko) through lateral bud development. e-Journal of Science & Technology (e-JST)
- Chanana, Y.R., & Gill, M.I. (2008). Propagation and nursery management. Punjab Agricultural University. Ludhiana.
- Çoban, H. (2010). Dünyada Sofralık Üzüm Ticareti ve Bazı Önemli Üzüm Çeşitleri, 2010 Yılı Bahçe Bitkileri Grubu Bölge Bilgi Alışveriş Toplantısı Bildirileri, Çanakkale, Yayın No: 139, 60-68 s.

- 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.Vol. 5(12), 24-27.
- Dev, R., Singh, S.K., Dayal, V., Kumar, K., Singh, T. (2019). Standardization of *in vitro* Hardening Strategies for Tissue Cultured Wine Grape (*Vitis vinifera* L) Genotypes. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences .
- Devrim, B. (2019). Bazı Üzüm Çeşitlerinin *In Vitro* Rejenerasyonuna Işık Yoğunluğu Ve Eksplant Tipinin Etkisi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Diyarbakır.
- Diab, A.A., Khalil, S.M., Ismail, R.M. (2011). Regeneration and Micropropagation of Grapevine (*Vitis Vinifera* L.) Through Shoot Tips And Axillary Buds. International Journal of Advanced Biotechnology and Research.
- Ekbiç Bilir, H., Yılmaz, G.Ş., Ciğerli, S. (2015). Isabella (*Vitis Labrusca*) Üzüm Çeşidinin *In vitro* Sürgün Ucu Kültürü İle Çoğaltılması. Akademik Ziraat Dergisi 4(2):65-70.
- FAO (2018). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi: 06/04/2020)
- Fidan, Y. (1985). Özel Bağcılık. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Yayın No:930, Ders Kitabı No:265, Ankara, s. 401
- Galzy R., Haffner V, Compan D. 1990. Influence of three factors on the growth and nutrition of grapevine microcuttings Journal of Experimental Botany 41, 295–301.
- 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
- 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.
- Gürsöz, S. (2005) Özel Bağcılık ve Ampelografi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Şanlıurfa, s. 213
- Han, D.S., Nummy, I., Wu, J.Y. (2003). Micropropagation of *Vitis amurensis* Rupr.: An improved protocol. Vitis 42 (3), 163–164 (2003)
- Hashımı, S.A.A. (2011).Studies on Tissue Culture of Grape Cultivars ‘Gulabf And ‘Thompson Seedless. Division of Horticulture University of Agricultural Sciences. Master of Science in Pomology. Bangalore.
- Hatipoğlu R. (2015). Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel yayın No:190, Ders Kitapları Yayın No: A-58
- Jaskani, M.J., 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 .Pak. J. Bot., 40(1): 105-109
- Karaca, N.(2006). Kalecik Karası'nın 4 Ve 23 No'lu Klonunda Baz Materyal Elde Edilmesine Yönelik Olarak Yapılan Meristem Kültürü Yönteminin Optimizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara
- 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
- Keskin, N. (2017). Elazığ İlinde Yetiştirilen Bazı Yerli Üzüm Çeşitlerinde Verim ve Kalite Özellikleri Arasındaki İlişkilerin Belirlenmesi.Türkiye Teknoloji ve Uygulamalı Bilimler Dergisi,1(1): 25-30.

- Kinfe B., Feyssa ,T., Bedada, G. (2017).In vitro micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. *African Journal of Biotechnology*.Vol. 16(43), pp. 2083-2091.
- Koç, H., Sağlam, H. Yağcı, A., Ernim, C., Çalkan Sağlam, Ö., Yılmaz, M. ve Kebeli, F. (2015). “Banazı karası üzüm çeşidinde klon seleksiyonu (I. Aşama)”, Selçuk Üniversitesi, Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, A27 (Türkiye 8. Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu Özel Sayısı): ISSN: 1309-0550, Konya.
- Lewandowski, V.T. (1991). Rooting and Acclimatization of Micropropagated *Vitis labrusca* ‘Delaware .Hortscience 26(5):586-589McCown, B.H., Lloyd, G., (1981). Woody Plant Medium(WPM) –a Medium Nutrient Formulation for Microculture for Woody Plant Species, Hort. Sci. 16:453.
- Melyan, G, Sahakyan, A., Harutyunyan, A. (2015). Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. *Vitis* 54 (Special Issue), 253–255
- Mhatre, M., Salunkhe, C.K., Rao, P.S. (2000). Micropropagation of *Vitis vinifera* L.:towards an improved protocol. *ELSEVIER, Scientia Horticulturae* 84 ., 357-363.
- Mostafa, F. M.A.; Shaaban, M. M., Elazab, D.S, Kamel, M.T. (2015). *In vitro* Propagation of Four Grape Cultivars. *Assiut J. Agric. Sci.*, (46) No. (4) 2015 (65-76) ISSN: 1110-0486
- Mozafari, A., Ghoraişh, O., Ghaderi, N., Javadi, T. (2016). Micropropagation of Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.) on Different Basal Media Supplemented with Benzyl Adenine. *Agriculturae Conspectus Scientifi cus* . Vol. 81 (2016) No. 3 (123-129).
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Onay, A., Kılınç, F.M., Yıldırım, H. (2019). Bitki Doku Kültürü (Bitki Biyoteknolojisinde Güncel Yaklaşımlar // Palme Yayınevi, Editörler: Özden-Çiftçi, Y., Altinkut-Uncuoğlu A. // 5. Bölüm S:73-94)
- Oraman, M.N. (1965a. Yeni Bağcılık. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:253, Ders Kitabı No:89, Ankara, s. 347
- Oraman, M.N. (1970b). Bağcılık Tekniği 1. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No:145, Ders Kitabı No:142, Ankara, s. 283
- Osman, M.G.E. (2004). In vitro clonal Propagation of grapevine (*Vitis* spp.) Department of Horticulture Faculty of Agriculture University of Khartoum.
- Schenk, R.U.& Hildebrandt, A.C. (1972). Medium and Techniques for İnduction and Growth of Monocotyledonous And Dicaotyledonous Plant Cell Cultures. *Can. J. Bot.*50:199-204.
- Solarova, J., Posposilova, J., (1997). Effect of carbon dioxide enrichment during *in vitro* cultivation and acclimatization to ex. *Biologia Plantarum* 39 : 23-30
- Singh, A. (2014). Studies On *In Vitro* Propagation Of Promising Grape (*Vitis Vinifera* L.) Rootstocks. Punjab Agricultural University .Department of Fruit Science College of Agriculture.
- 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

- Skiada, F. G., Grigoriadou, K., Eleftheriou, E. P. (2010). Micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. 'Malagouzia' and 'Xinomavro'. *Central European Journal of Biology*. 5(6) 839-852.
- Pedro, T.S., Peiró, R., Villanova, J., Olmos, A., Gisbert, C. (2017). *In vitro* propagation of *Vitis vinifera* L. cv. 'Monastrell'. *Electronic Journal of Biotechnology* 27 . 80–83
- Paudel, R.P., Kataoka, I., Mochioka, R. (2005). Effect of plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Vitis ficifolia* var. Ganebu and its interspecific Hybrid Grape. *Asiian journal of plant sciences* 4 (5):466-471, ISSN 1682-3974.
- Pe' ros, J., Torregrosa, L., Berger, G. (1998). Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 49, No. 319, pp. 171–179
- Park, H., Lee, H., Pyee, J., Cha, H. (2001). Regeneration of Grape (*V. s labruscana* cv. Kyoho) by Shoot-Tip Culture . *Journal of Plant Biology*, December 44(4) : 185-192
- Quoirin, M., Lepoivre, P. (1977). Etude De Milieux Adaptes Aux Cultures In Vitro De Prunus. *Acta Horticulturae*, (78) 437:42
- TÜİK (2019). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>(Erişim tarihi: 06/04/2020)
- Türkben, C. (2010). Sofralık Üzümlerin Muhafazası. Hasad Yayıncılık, İstanbul, s.48
- Türk Patent (2008). <https://www.ci.gov.tr/cografi-isaretler/detay/37976>. (Erişim tarihi: 13/04/2020)
- Vavilov, N.I (1951). The Origin Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants *Chron Bot* 13: 1-136
- Yerbolova, L.S., Ryabushkina, N.A., Oleichenko, S.N., Kampitova, G.A., Galiakparov, N.N. (2013). The Effect of Growth Regulators on *in vitro* Culture of Some *Vitis vinifera* L. Cultivars .*World Applied Sciences Journal* 23 (1): 76-80
- Yıldırım, H., Özdemir, G., Çalar, N., (2015). Öküzgözü ve Boğazkere Üzüm Çeşitlerinde *In vitro* kültür başlatma üzerine eksplant tipinin etkisi. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri. Bahçe Özel Sayı (2):607- 611
- Yılmaz, G. 2018. Kokulu Üzümün (*Vitis labrusca* L.) Tek Boğumlu Mikro Çelik Kültürü İle *In vitro* Çoğaltımı. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Ordu.
- Winkler, A.J. (1974). Development and composition of grapes. *General viticulture*, 138-196

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Canan KARAKUŞ

Doğum Yeri ve Tarihi: PÜTÜRGE/ MALATYA - 1995

Adres: YEŞİLYURT /MALATYA

E-Posta: canankrks95@gmail.com

Lisans : İnönü Üniversitesi/ Ziraat Fakültesi / Bahçe Bitkileri Bölümü/ 2013 -2017

Yüksek Lisans: Malatya Turgut Özal Üniversitesi/Lisansüstü Eğitim Enstitüsü/ Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı/ 2017-

Görev Aldığım Projeler

Malatya Yöresi Meyve Genetik Kaynaklarının Doku Kültürüyle Çoğaltım Yöntemlerinin Geliştirilmesi (Araştırmacı) 2018-2020

Uluslararası Kongre Sunum:

Karakuş C., Kaya M., Yıldırım H., Onay A., (2019). Bitkisel Materyal Üretimine Yönelik Bölgesel Doku Kültürü Laboratuvarlarının Oluşturulması. 5.International Regional Development Conference, 26-28 Eylül, MALATYA

Yıldırım H., **Karakuş C., Kaya M. (2019).** Bahçe Bitkileri Tohumluk Materyali Üretiminde Mevcut Durum ve Biyoteknolojik Yaklaşımlar. 5.International Regional Development Conference, 26-28 Eylül, MALATYA

Kaya M., **Karakuş C., Öksüztepe S., Yıldırım H. (2019).** Bitki Üretim ve Islahında Kullanılan Biyoteknolojik Yöntemler ve Uygulama Alanları. 5.International Regional Development Conference, 26-28 Eylül, MALATYA

Karakuş C., Kutsal K., Altuntaş Ö. (2019). The Effects of Some Rhizobacteria Species on Melon Plant Development and Yield. 5. International Eurasian Congress on Natural Nutrition Healthy Life and Sport. ANKARA.