

**ASMA MERİSTEM KÜLTÜRÜNDE DONÖR BİTKİNİN  
FİZYOLOJİK GELİŞME DÖNEMİ ve EKSPANT  
ORJİNİNİN, MERİSTEM CANLILIĞI ve GELİŞİMİNE  
ETKİSİ**

**Onur ERGÖNÜL**

**Yüksek Lisans Tezi  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Salih ÇELİK**

**2011**

T.C.  
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ASMA MERİSTEM KÜLTÜRÜNDE DONÖR BİTKİNİN FİZYOLOJİK GELİŞME  
DÖNEMİ ve EKSPANT ORJİNİNİN MERİSTEM CANLILIĞI ve GELİŞİMİNE ETKİSİ

Onur ERGÖNÜL

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Salih ÇELİK

TEKİRDAĞ-2011

Her hakkı saklıdır.

Prof.Dr. Salih ÇELİK danışmanlığında, Onur ERGÖNÜL tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof.Dr. Salih ÇELİK

Üye : Prof.Dr. İ.Hakkı İNAN

Üye : Prof.Dr. Saadettin GÜRSÖZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç.Dr. Fatih KONUKÇU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans tezi

ASMA MERİSTEM KÜLTÜRÜNDE DONÖR BİTKİNİN FİZYOLOJİK GELİŞME  
DÖNEMİ ve EKSPLANT ORJİNİNİN MERİSTEM CANLILIĞI ve GELİŞİMİNE ETKİSİ

Onur ERGÖNÜL

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Salih ÇELİK

Bu çalışma ile, asmada meristem kültürü çalışmalarını etkileyen faktörlerden donör bitkinin fizyolojik gelişim dönemi ve eksplantın donör bitki üzerindeki pozisyonlarının(orijininin) meristem canlılığı ve gelişimine etkileri incelenmiştir. Bu kapsamda üç farklı çeşidin (Gamay, Trakya İlkeren ve İtalia), üç değişik fizyolojik gelişim dönemi (çiçeklenme başlangıcı, tane tutumu ve tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönem) ile eksplantın bitki üzerindeki pozisyonu olarak ana sürgün uçları ve koltuk sürgünlerinin uçlarından izole edilen meristemler kullanılmıştır. İzole edilen meristemler *in vitro* koşullarda MS yapay besin ortamında kültüre alınmışlar ve bunların üç hafta sonraki canlılık ve gelişim düzeyleri değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda asmada, meristem canlılığı ve meristem gelişimi açısından en uygun meristem alım döneminin tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönem olduğu ve bitki üzerinde koltuk sürgünlerinden alınan meristematik dokuların ana sürgün ucundan alınan meristematik dokulara oranla daha yüksek değerler verdiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Meristem kültürü, *in vitro*, fizyolojik gelişim dönemi, eksplant, koltuk sürgünü.

## ABSTRACT

Master Thesis

### THE EFFECT OF PHYSİOLOGİCAL DEVELOPMENT PERİOD OF DONOR PLANT AND EXPLANT ORİGİN ON THE SURVİVAL AND GROWTH OF MERİSTEM FOR GRAPEVİNE

Onur ERGÖNÜL

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Scienses  
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Salih ÇELİK

In this study,two of the important factors that affect meristem culture, the effect of physiological development period of donor plant and the position(origin) of explant on meristem survival and growth were tried to evaluate. Three different physiological growth periods of three different varieties and meristems isolated from main shoot tips and axillary shoots of explants were used. The isolated meristems were cultured in MS in in vitro conditions for three weeks and parameters such as survival and growth levels were evaluated. According to results of this study, it is concluded that in the point of meristem survival and growth the most suitable period for isolation of meristems were found as period when the berries are in size like pea. Besides, meristems isolated from axillary shoots gave more values than meristems isolated from main shoot tips.

**Keywords:** Meristem culture, *in vitro*, physiological growth period, explant, axillary shoot.

2011, 43 pages

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>5</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>14</b>
3.1 Materyal.....	14
3.1.1 Trakya İlkeren.....	14
3.1.2 Gamay.....	14
3.1.3 İtalia.....	15
3.2 Yöntem.....	16
3.2.1 Besin Ortamının Bileşimi ve Hazırlanması.....	16
3.2.2 Sürgün Uçlarının Toplanması ve Dezenfeksiyonu.....	17
3.2.3 Meristemlerin İzolasyonu ve Kültüre Alınması.....	19
3.2.4 Kültür Koşulları.....	21
3.2.5 İncelenen Özellikler ve Denemelerin Değerlendirilmesi.....	21
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	<b>22</b>
4.1 Çeşitlerin Fenolojik Gözlemleri ve Uygulama Tarihleri.....	22
4.2 Meristemlerin Gelişim Düzeyleri.....	23
4.2.1 Fizyolojik Gelişme Dönemleri Bazında Meristem Gelişim Düzeyleri.....	24
4.2.2 Orijin Bazında Meristemlerin Gelişim Düzeyleri.....	26
4.2.3 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristemlerin Gelişim Düzeyleri.....	27
4.3 Meristem Canlılıkları.....	28
4.3.1 Dönem Bazında Meristem Canlılıkları.....	29
4.3.2 Orijin Bazında Meristem Canlılıkları.....	30
4.3.3 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristem Canlılıkları.....	32
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>34</b>
<b>6.KAYNAKLAR.....</b>	<b>38</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>42</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>43</b>

## SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
mm	Milimetre
l	Litre
mg/l	Miligram/litre
°C	Santigrat derece
MS	Murashige-Skoog (1962) ortamı
IBA	Indol-3-bütirik asit
BAP	Benzil Amino pürin
BA	Benzil adenin
IAA	Indol-3-asetik asit
NAA	Naftalen asetik asit
2-4 D	2,4 Diklorofenoksi asetik asit
ZR	Zeatin
GA <sub>3</sub>	Gibberalik Asit
TDZ	Thidiazuron
LS	Linsmaier ve Skoog
NN	Nitsch ve Nitsch (1969) ortamı
ABA	Absizik Asit
C <sub>2</sub> D	Chee ve Pool
UV	Ultra viole
µM	Mikromol
ELİSA	Enzyme Linked Immuno Sobent Assay

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Trakya İlkeren Çeşidi.....	14
Şekil 3.2 Gamay Çeşidi.....	15
Şekil 3.3 İtalia Çeşidi.....	15
Şekil 3.4 Meristem İzolasyonunda Kullanılan Malzemeler.....	16
Şekil 3.5 Gamay Çeşidinde Ana ve Koltuk Sürgünü.....	18
Şekil 3.6 Trakya İlkeren Çeşidinde Ana ve Koltuk Sürgünü.....	18
Şekil 3.7 İtalia Çeşidinde Ana ve Koltuk Sürgünü.....	19
Şekil 3.8 Eksplant Olarak Kullanılan Meristematik Doku.....	20
Şekil 3.9 İklim Odası ve Kullanılan Tüplerin Genel Görünüşü.....	20
Şekil 4.1 İzole Edildikten Sonra ve 3 Haftalık Gelişim Sonrası Meristem Eksplantı.....	23
Şekil 4.2 Çeşitlerin Fizyolojik Gelişme Dönemlerine Ait Meristem Gelişim Düzeyleri (mm).....	25
Şekil 4.3 Orijin Bazında Meristemlerin Gelişim Düzeyleri (mm).....	27
Şekil 4.4 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristemlerin Gelişim Düzeyleri (mm).....	28
Şekil 4.5 Canlılığını Yitirmiş Meristem.....	28
Şekil 4.6 Dönemler Bazında Meristem Canlılıkları (%).....	30
Şekil 4.7 Orijin Bazında Meristem Canlılıkları (%).....	32
Şekil 4.8 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristem Canlılıkları (%).....	33



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Meyve ve Asma Fidanı ile Üretim Materyallerinde Bitki Sağlığı Standartları Talimatı'nda Yeralan Asma Virüs Hastalıkları.....	1
Çizelge 3.1 MS Besin Ortamında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Miktarları.....	17
Çizelge 4.1 Çeşit Bazında 2010 Yılına İlişkin Fenolojik Gözlemler.....	22
Çizelge 4.2 Meristem İzolasyonu ve Kültüre Alım Tarihleri.....	22
Çizelge 4.3 Fizyolojik Gelişme Dönemleri Bazında Meristem Gelişim Düzeyleri (mm).....	24
Çizelge 4.4 Orijin Bazında Meristemlerin Gelişim Düzeyleri (mm).....	26
Çizelge 4.5 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristemlerin Gelişim Düzeyleri (mm).....	27
Çizelge 4.6 Fizyolojik Gelişme Dönemleri Bazında Meristem Canlılıkları (%).....	29
Çizelge 4.7 Orijin Bazında Meristem Canlılıkları (%).....	31
Çizelge 4.8 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristem Canlılıkları (%).....	33

## 1.GİRİŞ

Son yıllarda ülkemizde asma fidanı üretimleri, sertifikalı üretimden çok standart asma fidanı olarak yapılabilmektedir. Oysa yeni kurulacak bağlarda, uzun yıllar boyunca yeterli ve kaliteli ürün elde edilebilmesini sağlamak, sertifikalı yani ismine doğru, sağlıklı, standartlara uygun fidanlarla bağların tesis edilmesi ile mümkün olmaktadır.

Ülkemiz bağcılığında özellikle 3 Temmuz 2009 tarihinde 27277 Sayılı Resmi Gazetede yayınlanarak yürürlüğe giren ‘Asma Fidanı ve Üretim Materyali Sertifikasyonu ile Pazarlanması Yönetmeliği’ sonrasında, sertifikalı asma fidanı üretimi çeşitli koşullara bağlanmıştır. Yönetmelik ile sertifikalı asma fidanı üretiminde kullanılacak damızlıkların sertifikasyona tabi zararlılar açısından ari materyaller olması koşulu getirilmiştir. Asma için sertifikasyona tabi zararlı organizmaları incelediğimizde ise bunların neredeyse yarısını virüs hastalıklarının oluşturduğunu görmekteyiz (Çizelge 1.1).

Virüs hastalıklarının bu kadar önem arz etmesi asmada gelişme, verim ve ürün kalitesini sınırlaması, ayrıca aşı tutma oranında düşümlere, üretim materyallerinde köklenme zorluklarına sebep olmasındandır. Yani virüs hastalıklarının bağcılık açısından olumsuz etkisi, doğrudan ürün kaybı ile olabildiği gibi fidan üretimine yaptığı olumsuzluklar nedeniyle dolaylı bir şekilde de olabilmektedir. Ayrıca virüs hastalığına yakalanmış bitkinin hastalık kontrolü ve tedavi edici hiçbir uygulaması da yoktur. Böyle bir durumda çoğunlukla en etkili hastalık kontrol seçeneği, bulaşık bitki ya da bitkileri sökmektir.

Çizelge 1.1 Meyve ve Asma Fidanı ile Üretim Materyallerinde Bitki Sağlığı Standartları Talimatı’nda Yeralan Asma Virüs Hastalıkları

	<b>Virüs Hastalığının Adı</b>
<b>1</b>	Kısa boğum hastalığı ( <i>Grapevine fanleaf nepovirus</i> )
<b>2</b>	<i>Strawberry latent ringspot sadwavirus</i>
<b>3</b>	Arabis mozik hastalığı ( <i>Arabis mosaic nepovirus</i> )
<b>4</b>	Domates siyah halka hastalığı ( <i>Tomato black ring nepovirus</i> )
<b>5</b>	Ahududu halka leke hastalığı ( <i>Raspberry ring spot nepovirus</i> )
<b>6</b>	<i>Grapevine leafroll associated ampeloviruses 1</i> (GLRaV all types)
<b>7</b>	<i>Grapevine vitivirus A</i> (GVA)
<b>8</b>	<i>Grapevine fleck maculovirus</i> (GFkV)
<b>9</b>	<i>Grapevine rupestris stem pitting associated foveavirus</i> (GRSPV)

Bitkilerin çoğaltılması ve ıslahında yeni bir ıgır aan doku kültürü çalışmalarının sağladığı en önemli yararlardan birisi; asmaların da aralarında bulunduğu pek çok kültür bitkisini kimyasal ve biyolojik yöntemlerle kontrolü mümkün olmayan virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerinden arındırabilmesidir. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan *in vitro* mikro çoğaltma tekniği, meristem kültürüdür (elik ve ark. 2000).

Günümüzde, virüsten ari asma fıdanı üretim materyali elde edilmesinde meristem kültüründen geniş ölçüde yararlanılmaktadır. Yöntemin esası, asma sürgünlerinin 0.1-1.0 mm byklğindeki sürgün ucu meristemlerinin *in vitro* koşullarda aseptik olarak kültüre alınmasıdır. Bu yöntem asmaların virüsten arındırılmasında yalnız başına kullanıldığı gibi, termoterapi ile kombine edilerek de uygulanmaktadır (elik ve ark. 2000).

Bitkiler, meristematik doku sayesinde canlı kaldığı sürece yeni dokular meydana getirerek süresiz gelişme yeteneği göstermektedirler (Brn ve Türkoğlu, 1996). Kültür başlangıcı, herhangi bir bitkinin mikro çoğaltılmasında çok önemli bir aşamadır (Tangolar ve ark. 1999). Meristem kültüründe de izole edilen eksplantların kültür ortamına yerleştirilmesinden sonra canlılıklarını devam ettirmeleri, farklılaşarak yeni sürgünler oluşturup köklenmeleri ve tam teşekküllü bitki meydana getirmelerinde bir takım faktörlerin etkisi söz konusudur. Meristem ucu kültürlerinde başarıyı etkileyen faktörler;

1. Bitki materyali ile ilgili bazı zellikler
2. Kültür ortamının bileşimi
3. Kültür koşulları olarak üç grup altında toplanabilir (Babaoğlu ve ark. 2001).

Bitki materyali ile ilgili olarak eksplantın büyüklüğü, donör bitkinin fizyolojik durumu, eksplantın bitki üzerindeki pozisyonu, donör bitkinin yetiştirilme koşulları ve çeşit faktörleri etkili olmaktadır. Kültür ortamı faktörlerinde ise ortamın içerdiği mineral tuzlar, şekerler, agar ve büyüme düzenleyicilerin konsantrasyonları etkin rol oynamaktadır. Kültür koşulları ise materyallerin gelişim süresi içerisinde maruz kaldığı çevresel faktörler olan ışık, sıcaklık ve fotoperiyottur.

Meristem kültüründe çok kk eksplantlar ile çalışılmaktadır. Böylesine kk eksplantların kesilip çıkarılması oldukça zordur ve bu eksplantların yaşama şansı çok düşüktür; ayrıca, bitkilerin *in vitro* oğaltımı için de pratik değildir (Dodds ve Roberts 1993). Çok kk bir eksplantın kültüre alınması, eksplantın gelişme şansını düşürmekte ve kültürde başarıyı sınırlamaktadır. Bu nedenle meristemin yaprak taslaklarıyla birlikte kültüre alınması başarılı bir kültür için gerekli olmaktadır (Grout 1990).

Mayer ve Roman (1991), Kober 5BB anacının sürgün uçlarını bahar aylarında arazide yetişen asmalardan ve Ağustos-Eylül aylarında serada yetişen asmalardan izole ederek kültüre

almışlardır. Sonuçta sürgün rejenerasyonunda büyük farklar görülmüş olup, sera koşullarında yetiştirilmiş materyallerden alınan eksplantların rejenerasyon kapasitesi bakımından tavsiye edilebilir olduğu belirlenmiştir.

Asma meristemlerinin rejeneratif kapasitelerindeki sapmalar üzerinde yapılan çalışmada, meristemlerin rejeneratif kapasitedeki farklarının genotipe bağlı olduğu, ayrıca bu değişimin kaynağının virüs enfeksiyonuna bağlı olarak da farklılık gösterebildiğini öne sürmüşlerdir (Smerea ve ark. 2010).

Kültür ortamının bileşimi ile ilgili çalışmalara baktığımızda, Berljak ve Koruza (2006)'nın asmada meristem farklılaşmasına ilk kültür ortamının etkisini inceledikleri çalışmada, iki farklı kompozisyonda (a= 2 mg/l BA, b= 1,5 mg/l BA+ 0,2 mg/l IAA) MS ortamı değerlendirilmiş, sonuçta a büyümeyi düzenleyicileri ile desteklenmiş MS ortamında % 21 meristem farklılaşması, b büyümeyi düzenleyicileri ile desteklenmiş MS ortamında ise % 77 meristem farklılaşması elde edilmiştir.

Kültür ortamının bileşimi ile ilgili olarak diğer bir etken, bileşime agar eklenmesidir. Bununla ilgili olarak yapılan bir çalışmada, rejenerasyon aktivitesini artırmak için, aktif gelişme gösteren meristem taslaklarının başlangıç ve devam eden süreci için 2 adım tavsiye edilmiştir. İlk olarak katı ortam üzerinde 3-4 hafta, ikinci adımda ise eksplantların içerisinde sıvı ortam ve filtre kâğıtlarından köprülerin bulunduğu tüplere aktarımları önerilmiştir (Doroshenko (1997)).

Meristem ucu kültürlerinde başarıyı etkileyen faktörlerin üçüncü ana başlığı olan kültür koşulları ile ilgili de çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Sobolev ve Doroshenko (2004) ışıklandırma yoğunluğu ve süresinin, asma meristem eksplantlarının gelişimi üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada, en iyi meristem rejenerasyonunun 1800-2000 lk'lük ışıklandırmada gerçekleştiğini gözlemişler (%100), en uygun aydınlatma süresinin ise 14 ve 16 saat günlük aydınlatma olduğunu belirlemişlerdir. Kartha (1981) ise kültüre alınan materyallerin gelişimi için en uygun çevresel faktörlerin 26<sup>0</sup>C sabit sıcaklık, 16 saat fotoperiyot ve 3000-4000 lüks ışık yoğunluğunun olduğunu belirtmiştir.

Araştırmamız, meristem gelişimi ve canlılığına etki eden faktörler üzerine olduğundan, meristemlerin kültüre alındığı ve üç haftalık gelişim sürecini kapsayan başlangıç döneminde gerçekleştirilmiştir. Daha önceden belirtilen meristem kültürünü etkileyen faktörler, meristemlerin kültüre alındığı ve başlangıç ortamı olarak adlandırılan dönemde de etkindirler.

Donör bitkinin fizyolojik durumu dikkate alınarak meristem gelişim ve canlılıklarının değerlendirildiği çalışmalardan Choi ve ark. (1992) kültüre alım zamanı olarak Haziran ayının

en uygun olduğunu belirlemişlerdir. Diğer taraftan Botti ve ark. (1993)'nın yaptığı çalışmada ise vejetasyon dönemi içerisinde 15 gün ara ile eksplant almışlar ve farklılıkları bu şekilde değerlendirilmiştir. Kebeli ve ark. (1996), NAA kapsamayan 2,0 mg/l' lik BAP dozunun Temmuz döneminde alınan meristem dokular üzerinde en etkili doz olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmaların asmanın fizyolojik gelişim dönemleri üzerinden değil, tarihler bazında yürütüldüğü görülmektedir. Oysa farklı ekolojilerde, bu tarihlerin uygun meristem alım dönemini tespitinde bir anlam taşımadığı bilinmektedir. Bu yüzden bu çalışmada çeşitler bazında üç farklı fizyolojik gelişme dönemi seçilmiş ve bunların sonucunun değişik ekolojilerde de uygulanabilmesi amaçlanmıştır.

Meristem kültüründe kullanılan eksplantların bitki üzerindeki pozisyonunun diğer bir ifadeyle orijininin meristem gelişim ve canlılığına etkileri konusunda yapılan çalışmalarda ise net bir sonucun ortaya konmadığı görülmektedir. Nitekim Corte ve Mendonca (1985), 14 *Vinifera* çeşidi, 11 anaç ve *Vitis rupestris*'in 2 formunun tepe ve koltuk tomurcuklarından alınan meristemler *in vitro*'da kültüre almışlar, materyalin çoğunda meristemin orijini kültürün başarısını etkilemediği görülmüştür. Diğer bir çalışmada (Dan-Hua ve Meredith, 1986) koltuk sürgünü uçlarının, daha fazla ışık alan terminal sürgün uçlarına nazaran yaşama oranının daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Araştırmamızda, koltuk ve ana sürgünlerden alınan meristematik dokuların canlılık oranları ve gelişim düzeyleri üç çeşit üzerinde incelenmiştir.

Bu çalışma ile donör bitkinin fizyolojik gelişim dönemi, eksplantın donör bitki üzerindeki yeri (orijini) ve genotipin, asma için meristem canlılığı ve gelişimine etkileri tek tek ele alındığı gibi, donör bitkinin fizyolojik gelişim dönemi ile eksplantın donör bitki üzerindeki yeri (orijini) arasındaki etkileşimi de değerlendirilmiştir.

## 2.KAYNAK ÖZETLERİ

Gönülşen ve Özcan (1980) tarafından yapılan bir araştırmada, genetik materyalin muhafazasından önceki çoğaltma sorunları incelenmiş, asmanın sürgün ucu ve 6. boğuma kadar olan her bir boğumundan alınan parçalar, Knop, Murashige ve Skoog ile Knudson B ortamlarında kültüre alınmışlardır. Çalışmada en iyi sonuçlar, 5.ve 6. boğumdan alınan parçalarla, Knudson B temel ortamında yapılan kültürlerden sağlanmıştır.

Kartha (1981), meristem farklılaşmasının bir dizi faktör tarafından yönetildiğini belirtmiştir. Bunlar; (1) meristem ucu boyutu, (2) kültür ortamı tipi, (3) Büyüme düzenleyicilerin konsantrasyonları ve çeşitleri, (4) çevresel faktörler (ışık, sıcaklık ve fotoperiyot), (5) diğer faktörlerden mevsimsel değişimler ve kullanılan yetiştirme tüplerinin tipidir. Genellikle meristem boyutu büyük ise rejenere materyal sayısı daha fazla olmakta, ancak daha küçük boyutlu meristemlerinde virüsten arındırılmış olma şansı ise daha fazla olmaktadır. Çoğu bitki türünde MS ortamı meristem kültürü için yeterli bulunmaktadır. Bazı bitkilerde dokularındaki yüksek fenolik bileşik miktarları ortamda toksik etki oluşturabilmektedirler. Buna benzer durumlarda sıvı ortamların kullanımı tercih edilmektedir. Meristemlerin gelişimi, genellikle pH'sı 5,6-5,8 olan asidik ortamlarda desteklenmekte, kültüre alınan materyallerin gelişimi için en uygun çevresel faktörlerin 26<sup>0</sup>C sabit sıcaklık, 16 saat fotoperiyot ve 3000-4000 lüks ışık yoğunluğunun olduğu belirtilmiştir. Donör bitkinin mevsimsel değişimleri, kültüre alınan meristemlerin morfogenetik potansiyelini etkilemektedir.

Asma, domates, karanfil, çilek ve frenk üzümünün meristematik dokularını kültüre almak için besi ortamına NAA, IAA, 2-4 D veya Kinetin ekleyen (Izvorska ve Lilov 1981), büyümeyi düzenleyicilerin her zaman organ farklılaşmasını uyarmadığını, bunun nedeninin muhtemelen içsel oksin ve sitokinin varlığından kaynaklandığını, oksin ve sitokininlerin miktarının her dokuya ve bitki türüne göre değiştiğini belirlemişlerdir.

Meristem kültürü ile çoğaltmada sağlanacak başarı üzerine, bitkilerin genotipi, yaşı ve fizyolojik durumu kadar, kullanılan besi ortamı bileşiminin de önemli derecede etkili olduğu bildirilmektedir (Fidan ve ark. 1984).

Dan-Hua ve Meredith (1986), Chenin blanc, Zinfandel, Pinot noir, White Riesling gibi genotiplerde eksplant kaynağının, ışıklanmanın ve ana bitkinin gelişme kuvvetinin etkilerinin incelendiği çalışmalarında sürgün ortamı olarak 2 mg/l BA katkılı sıvı, alt kültürler için de 6 g/l agar ile katılaştırılmış MS ortamını (pH 5.8) kullanmışlardır. Araştırma bulgularına göre; koltuk sürgünü uçlarının, daha fazla ışık alan terminal sürgün uçlarına nazaran yaşama oranı

daha yüksek olmuştur. Bunun yanısıra, eksplantın alındığı pozisyonun Chenin blanc, Zinfandel gibi çeşitlerde güçlü bir etkisi ortaya çıkmışken; Pinot noir, White Riesling gibi çeşitlerde ise ışıklandırma durumunun daha etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, sürgün gelişme kuvvetinin de dokunun yaşama şansını etkilediği ve daha zayıf gelişme gösteren sürgünlerden alınan meristemlerin çok daha yüksek yaşama şansına sahip olduğu belirlenmiştir. En iyi gelişme gösteren ana sürgün uçlarından en düşük sürgün sayısı elde edilmiş ve bu eksplantlarda kahverengileşmenin yanısıra kallus oluşumu da daha fazla gözlenmiştir. Ayrıca, eksplant kaynağı ya da adventif sürgünlerin etkisi, dokunun fenolik madde içeriği ile negatif ilişkili bulunmuştur.

Corte ve Mendonce (1985), virüssüz asma klonlarının hızlı çoğaltımında meristem kültürünün önemini araştırmışlardır. 14 *Vinifera* çeşidi, 11 anaç ve *Vitis rupestris*'in 2 formunun tepe ve koltuk tomurcuklarından alınan meristemler *in vitro*'da kültüre alınmışlardır. Materyalin çoğunda meristemin orijini kültürün başarısını etkilememiştir. Ancak Sercial, Boal ve Negro çeşitleri ve Jacquez anacında ise sadece koltuk tomurcuklarında başarı sağlanmıştır. 99R, 161-49 ve 420 A anaçları, meristemin orijini ne olursa olsun, düşük çoğaltım oranına sahip genotipler olarak saptanmışlardır. Sercial, Boal, Negro, Jacquez, 99R ve 161-49'da bitki elde etmek için gerekli olan zaman diğer materyaller için gereken zamanın 2 katı düzeyinde bulunmuş (7 aya karşı 14 ay), 420 A'da ise hiç bitki elde edilememiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, gen bankalarının oluşumunda *in vitro* tekniklerinin kullanılabilmesi öne sürülmüştür.

Meristem kültürünün başarısına çeşitli faktörlerin etkili olduğu Gönülşen (1987) tarafından ifade edilmekte, bunlar; çeşit, gıda ortamı, bitki parçasının özelliği, çevre şartları, meristem kültürünün yapıldığı mevsim ve izole edilen meristemin iriliği şeklinde sıralanmaktadır.

Çelik ve ark. (1988) yaptıkları bir araştırmada, Kalecik Karası üzüm çeşidi ile 41B Amerikan asma anacının meristem kültürü ile çoğaltımında besin ortamının mineral yapısını, GA<sub>3</sub> içeriği ve vitamin kompozisyonunun başarısını, oksin-stokinin kombinasyonlarının ise sürgün ve kök gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Yürütülen üç denemenin ikisinde, MS besin ortamının mineral bileşimi; normal, %25 ve %50 oranında üç değişik konsantrasyonda seyreltilerek kullanılmış, ayrıca bu ortamlara değişik konsantrasyonlarda (0.0, 0.1 ve 0.5 mg/l) katılan GA<sub>3</sub>'ün etkileri araştırılmış ve her iki genotip için 'normal dozda MS x 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> kombinasyonunun en elverişli kombinasyon olduğu belirlenmiştir. Aynı araştırmacıların yapmış oldukları ikinci denemede ise, MS ortamının mineral bileşimi normal ve %25 daha konsantre olarak hazırlanmış, bununla kombine halde MS, Morel, 'Thiamine –

İnositol' den oluşan üç farklı vitamin formülasyonunun etkileri incelenmiş ve en iyi sonuç normal MS mineral kompozisyonu ve MS vitamin formülasyonundan elde edilmiştir. Üçüncü denemede ise, ilk iki denemenin sonuçları esas alınarak, normal dozda MS mineral ve vitamin formülasyonuna sahip besin ortamına kombinasyon halinde katılan BAP ve IBA'nın (0.0, 0.5 ve 1.0 mg /l) yine her iki genotipten izole edilen büyüme ucu meristemlerinin sürgün ve kök oluşturma yetenekleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu denemenin sonucunda ise Kalecik Karası üzüm çeşidi için sürgün aşamasında "1.0 mg/l BAP" köklenme aşamasında ise "1.0 mg/l IBA" katkılı MS ortamı en iyi sonucu vermiştir. 41B MG anacında da benzer sonuçlar alınmış, sürgün oluşturma ve köklenme yönünden "1 mg/l BAP" kombinasyonundan iyi sonuç alınmıştır.

Çok küçük bir eksplantın kültüre alınması gelişme şansını düşürmekte ve kültürde başarıyı sınırlamaktadır. Bu nedenle meristemin yaprak taslaklarıyla birlikte kültüre alınması başarılı bir kültür için gerekli olmaktadır ve bu 'meristem ucu kültürü' olarak tanımlanmaktadır (Grout 1990).

*In vivo* ve *in vitro*'da yetiştirilen bitkiciklerden alınan eksplantları kullanan Clog ve ark. (1990) da *in vitro*'da yetiştirilen bitkiciklerden alınan eksplantların *in vitro* koşullarda daha iyi rejenere olduğunu belirtmiş ve bunun nedeninin de *in vivo*'da yetiştirilen bitkilerden alınan eksplantların yüzey sterilizasyonuna tabi tutulması ve doku zararlanmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar Gök Tangolar (2002) da *in vitro* da yetiştirilen bitkiciklerden alınan yaprak eksplantların, bağdan alınanlara göre *in vitro* koşullarda daha başarılı sonuçlar vermesiyle elde edilmiştir.

Yae ve ark. (1990) Rhizamat üzümünün sürgün uçlarının kültür ortamında farklılaşmalarını incelemişler. MS ortamının 0-10 mg/l BA ve 0,01-0,5 mg/l IBA, IAA veya NAA ile desteklenmiş modifikasyonları üzerinde çalışılmış. Optimum BA konsantrasyonu 1 mg/l olarak tespit edilmiş. Ayrıca IBA veya IAA'nın, NAA'dan daha etkili olduğu ve optimum oksin konsantrasyonun 0,05 mg/l olduğu belirlenmiştir. GA<sub>3</sub> ise sürgün uzamasını arttırmaya karşın sürgün çoğalmasını engellemiştir. Çalışmada ayrıca eksplantların ortama yatay yerleştirilmelerinin dikey veya ters yerleştirilmelerine göre daha fazla sürgün üretimi sağladığı da belirtilmiştir.

Sudarsono ve Goldy (1991)'nin dört Muscadine üzüm çeşidinin *in vitro* meristem kültürü ile çoğaltılabilme yeteneklerinin belirlenmesine yönelik yapmış oldukları çalışmada, Chee ile değiştirilen MS besin ortamına değişik oranlarda BA, kinetin ve TDZ ilave edilerek değişik eksplant pozisyonlarının sürgün oluşumuna ve eksplant gelişimine etkileri incelenmiştir. TDZ ile BA veya kinetin kombinasyonlarının kullanıldığı ortamlarda sadece



BA ya da kinetin içeren ortamlara göre daha fazla taze ağırlık elde edilmiştir. Sadece BA veya sadece kinetin içeren ortamlarda tek sürgün oluşurken, TDZ ile BA ya da kinetin kombinasyonlarının denendiği uygulamalarda daha fazla sayıda sürgün elde edilmiştir. Ayrıca, TDZ içeren ortamlarda kallus oluşmamıştır. Araştırmada farklı pozisyonlardan alınan aktif tomurcuklar arasında *in vitro*da sürgün üretimi arasında farklılıklar görülmüştür. Sürgün üzerinde alttaki 10 boğum ile uçtaki 10 boğum üzerinde bulunan aktif tomurcukların *in vitro*daki sürgün oluşturma farklılıkları incelenmiştir. Genellikle sürgün üzerinde alt kısımdaki boğumlardan alınan aktif tomurcuklardan oluşan sürgünlerin sayısı daha yüksek olmuştur.

Gray ve Benton (1991), değişik sitokininlerin farklı konsantrasyonlarının meristem kültüründe başarı üzerine etkilerini incelemek için MS ortamını kullanmışlardır. Daha önceden 5 µM BA içeren MS ortamlarından elde ettikleri apikal meristem eksplantlarını 5, 10 ve 20 µM BA; 10, 20 ve 40 µM kinetin ve 0,5, 1 ve 5 µM TDZ kombinasyonlarında test etmişlerdir. *In vitro* köklenme için sürgünler 1 µM NAA içeren veya içermeyen MS ortamına aktarılmıştır. Farklı sitokinin kombinasyonları içerisinde BA hem kinetin hem de TDZ' ye göre çok daha iyi sonuç vermiştir. 5 ve 20 µM BA iki farklı üzüm çeşidi için de (sırasıyla Carlos ve Fry) en iyi sonucu vermiştir. *In vitro* köklendirme çalışmalarında 1 µM NAA katkılı ortam, köklenme oranını, kök uzunluğunu ve sürgün başına düşen kök sayısını arttırmıştır.

Mayer ve Roman (1991), sürgün ucu kültürü için eksplant orijinlerinin etkilerini tanımladığı çalışmada, farklı asma çeşitleri ile 5BB asma anacı üzerinde çalışmışlardır. Eksplantlar bahar aylarında arazide yetişen asmalardan ve Ağustos-Eylül aylarında serada yetişen asmalardan alınmıştır. Sürgün rejenerasyonunda büyük farklar görülmüş olup sera şartlarında yetiştirilen Kober 5BB anacından alınan eksplantların rejenerasyon kapasitesi bakımından tavsiye edilebilir olduğu belirtilmiştir.

Choi ve ark. (1992), 1986-1988 yılları arasındaki araştırmaları ile meristemlerin kültüre alım zamanı olarak Haziran ayını en uygun zaman olarak belirlemişlerdir. Ayrıca meristemlerin kültüre alımında, yarım güçteki MS ortamının tam güçteki MS ortamından daha olumlu sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir. Kültürlerin oluşturulması ve sürgün oluşumunu başlatmada en iyi yapının, 0,1 mg NAA+ 1,0 mg BA+ 0,5 mg kinetin/litre birleşimi olduğu, sürgün farklılaşması için tam güçteki ortamın daha iyi sonuç verdiği bulunmuştur. Yapılan çalışmada Kyoho üzüm çeşidi için ise en iyi kombinasyon 1,0 mg BA+ 0,1 mg IAA/litre ( 0,5 mg/litre kinetin ile birlikte veya olmadan) olmuştur.

Meristem bölgesi, etil alkol ile silinmiş binoküler stereomikroskobu altında yatay hava akışlı kabinde çalışarak izole edilmelidir. Meristemi ayırmak için kullanılan kesicilerin keskin

olmasını sağlamak bakımından sık sık değiştirilmesi ve sterilize edildikten sonra kullanılmalıdır. Öncelikle dış yapraklar ve yaprak taslakları temizlenmeli ve sonra meristematik bölge alınmalıdır. Meristematik bölge çabuk kuruyabilir ve zarar görebilir. Kurumayı önlemek için sterilize edilen aletlerin sıcak olmamasına dikkat edilmeli ve çalışma bölgesinin aydınlatılmasında ısınmaya meydan verilmemesi gereklidir (Sherwood 1993).

Botti ve ark. (1993), *Vitis* türlerinde *in vitro* çoğalmaya verilen yanıtta, genotipin çok önemli bir faktör olduğu, bitkinin sahip olduğu fizyolojik durumun sürgün çoğalma oranı üzerinde belirgin etkilerinin olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca eksplant boyutu ve fizyolojik yaşın meristem seçimi, onun hayatta kalma oranı ve çoğaltımı için önemli faktörler olduğu tespit edilmiştir.

Birkaç yaprak taslağı ile beraber 1 mm.den küçük eksplantların kültürü 'meristem ucu kültürü' olarak ifade edilmektedir. Bazı kaynaklarda meristem ucu 0,1–0,5 mm olarak belirtilmekte ve uç 0,5 mm'den büyük olduğunda sürgün ucu (0,5–5,0 mm) olarak tanımlanmaktadır (Bürün 2002). Ancak genellikle 1 mm' den küçük eksplantlar virüsten arı bitkileri elde etmek amacı ile kullanılmaktadır ve meristem ucu eksplantlarının optimal büyüklüğü 0.2-1.0 mm arasındadır. Apikal meristem sadece sürgün ucu bölgesini, sürgün ucu ise apikal meristem ile birlikte birkaç yaprak taslağını belirtmektedir. Böylesine küçük eksplantların kesilip çıkarılması oldukça zordur ve bu eksplantların yaşama şansı çok düşüktür; ayrıca, bitkilerin *in vitro* çoğaltımı için pratik değildir (Dodds ve Roberts 1993).

Asmalarda meristem kültüründe çeşit veya türlere göre besin ortamlarından farklı sonuçlar alınabilmektedir. Genel olarak Murashige Skoog ortamı ve bunun modifikasyonlarından olumlu sonuçlar alınmıştır (Uzun ve Sarıkaya 1994).

Benson (1995), soğukta muhafaza sonrasında tüm bitki parçalarının rejenerasyon kabiliyetine sahip, yeni sürgün geliştirme potansiyelinde olduğunu belirttiği araştırmada ayrıca sürgün ucu büyüklüğü ve orijinin (uç veya koltuk sürgünü), dokuların dondurularak hayatta kalma kabiliyetlerini etkileyen kritik faktörlerden olduğunu belirtmişlerdir.

Kebeli ve ark. (1996), Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde gerçekleştirilmiş olduğu çalışmada, Clairette şaraplık üzüm çeşidinin meristem kültürü ile *in vitro* koşullarda sürgün ucu çoğaltımı üzerine, NAA ve BAP'dan oluşturulan sekiz ayrı kombinasyonun etkilerini Mayıs ayının ikinci yarısı, Haziran ayının ilk ve ikinci yarısı ve Temmuz ayının ilk yarısı olmak üzere dört ayrı devrede belirlemeye çalışmıştır. Araştırma sonucunda, NAA kapsamayan 2,0 mg/l' lik BAP dozunun Temmuz döneminde alınan meristem dokular üzerinde en etkili doz olduğu belirlenmiştir.

Bürün ve Türkoğlu (1996), meristem ve sürgün ucu kültürlerine etki eden faktörleri irdelenmişler, buna göre donör bitki üzerinde eksplantın pozisyonunun da etkili bir faktör olduğunu belirtmişlerdir. Güçlü apikal dominansi gösteren bitkilerde terminal uçtan alınan meristemlerin lateral pozisyonlardan alınanlara göre daha iyi *in vitro* cevap vermesine rağmen birçok bitkide uç meristemi kadar yan dalların koltuk altlarından izole edilen meristemlerden de iyi sonuç alınmıştır. *Vitis vinifera* ve *Vitis rupestris* türlerinin apikal ve aksilar tomurcuklarından alınan meristemlerde bazı çeşitlerde sadece aksilar meristemlerin başarılı olduğu belirtilmektedir.

Abdallah ve ark. (1997), meristemlerin büyümesinin ve gelişmesinin, başlangıç kültür ortamındaki besin maddelerinin değişkenliği ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca gövde üzerinde meristemlerin pozisyonunun ve boyutunun, örnekleme döneminin, rejenere olmuş bitkiciklerin büyüme ve kaliteleri üzerinde çalışılmıştır.

Doroshenko (1997)'nin yaptığı bir çalışmada *Vitis vinifera*'nın bazı çeşitlerinin meristem dokuları, küçük (0,17-0,25) ve ekstra küçük (0,075-0,1) boyutlarda 1-2 yaprak taslağı ile birlikte izole edilerek sıvı ve katı MS ortamlarda farklı BAP konsantrasyonlarında (0,5, 1, 2 ve 3 mg/l) kültüre alınmışlardır. Araştırmada rejenerasyon aktivitesini artırmak için, aktif gelişme gösteren meristem taslaklarının başlangıç ve devam eden süreci için 2 adım tavsiye edilmiştir. İlk olarak katı ortam üzerinde 3-4 hafta, ikinci adımda ise eksplantların içerisinde sıvı ortam ve filtre kâğıtlarından köprülerin bulunduğu tüplere aktarımlarıdır. Her iki süreçte de optimum gelişim 1 mg/l BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir.

Meristem kültürünün ilk uygulandığı yıllarda White ortamı en sık kullanılan besi ortamıydı (Hatipoğlu 1997). Daha sonra Murshige ve Skoog ortamının (MS) daha uygun olduğu bulunmuştur (Bürün ve Türkoğlu (1996). Murashige ve Skoog (MS) veya Linsmaier ve Skoog (LS) ortamlarının mineral madde kompozisyonu, özellikle bitki rejenerasyon ortamlarında çok sık kullanılmaktaysa da (Hatipoğlu 1997) halen meristem, sürgün ucu ve tomurcuk kültürü için genel bir ortam mevcut değildir. MS ortamı bazı modifikasyonlar yapılarak en fazla kullanılan ve en başarılı sonuçlar veren besi ortamıdır ancak, Roubelakis-Angelakis ve Katsirdakis (1990) tarafından bildirildiğine göre; kültür ortamı ve genotip arasında sıkı bir ilişki bulunduğu da unutulmamalıdır.

Meristem kültürü, sürgün ucundaki meristematik büyüme konisi ile hemen altındaki birkaç yaprak taslağını içeren kısmın binoküler mikroskop altında kesilerek çıkarılması ve *in vitro* koşullarda yapay besin ortamlarında kültüre alınarak bunlardan tam ve sağlıklı bitkiler elde edilmesini kapsamaktadır (Hatipoğlu 1997, Çelik ve ark. 1998).

Kebeli ve ark. (1999), Yapıncak, Hafızali, Papazkarası, Bozcaada Çavuşu, Kozak Beyazı, Gamay, Clairette, Semillon üzüm çeşitleri ve 99R, Kober 5BB, Rupestris du Lot anaçlarının sürgünlerinden alınan meristematik dokuları kullanarak bazı virüslerden arındırılmış bitkiler elde edilmesine yönelik olarak meristem kültürü yönteminin kullanıldığı bu çalışmada, besin ortamı olarak Murashige Skoog (1962) ortamı kullanılmıştır. Başlangıç ve sürgün oluşturma aşamasında büyümeyi düzenleyici maddelerden çeşide göre değiştirilen dozlarda (1-2 mg/l) olmak üzere BAP, köklendirme aşamasında ise oksin grubundan IBA 1 mg/l dozunda kullanılmıştır.

Tangolar ve ark. (1999) Perlette üzüm çeşidi ile Harmony, Salt Creek, Rupestris du Lot, 41 B ve 5BB Amerikan asma anaçlarının sürgün uçlarındaki toplam fenolik bileşik miktarları, vejetasyon periyodu boyunca yaklaşık üçer hafta aralıklarla alınan örneklerde incelenmiştir. Bunun yanı sıra sürgün uçları 2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında da kültüre alınmış ve besi ortamındaki canlılıkları ve ortamda oluşturdukları kahverengileşme ile toplam fenol miktarları arasındaki ilişkiler de araştırılmıştır. Sonuçta, toplam fenol miktarının tüm çeşit ve anaçlarda vejetasyon periyodu boyunca arttığı gözlenmiştir. Besi ortamına dikilen sürgün uçlarının canlılıklarında ve ortamda meydana getirdiği kahverengileşmede ise düzensiz değişimler saptanmıştır. Eksplant canlılığı ile ortam kahverengileşmesi arasında negatif bir korelasyon belirlenmiştir. Ayrıca, güneş etkisindeki çeliklerden elde edilen sürgün uçlarının gölgedekilere kıyasla daha yüksek miktarlarda toplam fenol içerdiği saptanmış, ancak eksplant canlılığı bakımından aralarında önemli farklılıklar saptanmamıştır.

Dokular ana bitkiden ayrılıp eksplant hazırlanması sırasında yaralanırlar; bu durum çoğunlukla hava tarafından okside edilen, peroksidazlar tarafından okside edilen, veya polifenoloksidazlar tarafından okside edilen ve hem dokuda, hem de kültür ortamında kahverengileşme veya kararma ile sonuçlanan çeşitli bileşiklerin açığa çıkmasına neden olur. Eksplant hazırlama sırasında eksplanta az zarar verme, antioksidanların kültür ortamında kullanımı, ortamdaki mineral tuzların azaltılması, ön ortam kullanılması, büyüme düzenleyici maddelerin kontrolü, aktif kömür kullanımı, ışık düzeyinin azaltılması, eksplantları çeşitli çözeltilerde bekletme ve hızlı transferin, dokulardan zararlı bileşiklerin açığa çıkmasını önlemede ve dolayısıyla dokulardaki kararmaları engelleyebilecek çözüm yolları olduğu belirtilmektedir (Ellialtıoğlu, 1999).

Göktürk Baydar ve ark. (2003) vejetasyon süresince 15 gün aralıklarla 4 farklı üzüm çeşidinden alınan sürgün uçlarında İndol asetik asit (IAA), Gibberellik Asit (GA<sub>3</sub>), zeatin ve absisik asit (ABA) ile fenolik bileşiklerde meydana gelen değişiklikler ile bu değişikliklerin

asma sürgün ucu kültürü üzerine olan etkilerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Gerek sürgün ucu kültürü gerekse toplam fenolik madde, içsel hormon ve fenolik bileşikler bakımından elde edilen başarının örnek alım tarihlerine ve çeşitlere göre değiştiğinin belirlendiği araştırmada, toplam fenolik madde miktarı ile büyüme gösteren eksplant oranı arasında negatif bir ilişkinin bulunduğu tespit edilmiştir. Araştırmada ayrıca içsel hormonların birbirlerine olan oranlarının, özellikle de büyümeyi uyarıcı/engelleyci hormon (U/E) oranının yükselmesiyle büyüme gösteren eksplant oranının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca fenolik madde miktarlarının çeşitlere göre değiştiği ve başta gallik asit, kateşin ve kateşol olmak üzere bazı fenolik bileşiklerin büyüme gösteren eksplant oranı üzerinde negatif etkilerinin bulunduğu da tespit edilmiştir.

Sobolev ve Doroshenko (2004) ışıklandırma yoğunluğu ve süresinin, asma meristem eksplantlarının gelişimi üzerindeki etkilerin incelendiği çalışmada, en iyi meristem rejenerasyonunun 1800-2000 lüks'lük ışıklandırmada gerçekleştiği gözlenmiş (%100). En uygun aydınlatma süresinin ise 14 ve 16 saat günlük aydınlatma olduğu belirlenmiştir.

Asma sürgün uçlarında bulunan fenolik bileşiklerin vegetasyon dönemi içinde göstermiş oldukları değişimin incelendiği araştırmalarda (Göktürk Baydar ve ark. 2006; Göktürk Baydar ve ark. 2003), mayıs, haziran, temmuz ve ağustos aylarında alınan sürgün uçlarında en düşük toplam fenolik madde içeriği, mayıs ayında alınan örneklerde tespit edilirken; temmuz ve ağustos aylarında yükseldiği tespit edilmiştir.

Berljak ve Koruza (2006) asmada meristem farklılaşmasına ilk kültür ortamının etkisini inceledikleri araştırmada, iki farklı asma çeşidi ve iki farklı kompozisyonda (a= 2 mg/l BA, b= 1,5 mg/l BA+ 0,2 mg/l IAA) MS ortamı değerlendirilmiş. Sonuçta a büyümeyi düzenleyicileri ile desteklenmiş MS ortamında % 21 meristem farklılaşması, b büyümeyi düzenleyicileri ile desteklenmiş MS ortamında ise % 77 meristem farklılaşması elde edilmiştir.

Perez-Tornero ve ark. (2006) 4 kayısı çeşidinin *in vitro* başlangıç ve gelişimleri üzerine eksplant orijininin (meristem veya koltuk sürgünü) etkilerini incelenmişlerdir. *In vitro* kültür başlangıcında koltuk sürgünleri kullanıldığı zaman bulaşma oranlarının önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur, meristemlerin kullanılmasına göre. Ancak başlangıç ortamında, koltuk sürgünleri kullanıldığı zaman eksplantların hayatta kalma oranlarının daha iyi olduğu ve gelişmiş sürgünler üretmek için gerekli zamanın daha kısa olduğu belirtilmektedir. Meristemler ve koltuk sürgünlerinden elde edilen sürgünlerin köklenme kabiliyetleri arasında fark bulunmamıştır.

Sultanin ve Sahebi asma çeşitlerinin *in vitro* rejenerasyonu için sürgün ucu meristemlerinin kullanıldığı araştırmada, MS ortamının 4 farklı büyüme düzenleyici ile

modifiye edilmiş halleri değerlendirilmiştir. Bunlar, 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)'dir. Araştırma sonucunda, eksplant başına üretilen sürgün sayısı bakımından en yüksek ortalamayı B ve C kültür ortamlarının (3,8-5,4) verdiği tespit edilmiştir (Aazami 2010).

Shatnawi ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, Salty Kodari üzüm çeşidinin sürgün uçlarını yarım güçteki MS ortamında kültüre almışlar ve sürgün farklılaşması üzerine BAP ve Kinetinin etkilerini incelemişlerdir. Bunun için değerlendirdikleri parametreler, eksplant başına yeni oluşan sürgün sayısı, sürgün uzunlukları ve eksplant başına yeni oluşan yaprak sayılarıdır. En yüksek *in vitro* çoğalma oranını 0,8 mg/l BAP vermiştir (eksplant başına 5,25 adet sürgün ve 9,75 oluşan yaprak sayısı ile). En yüksek uzama oranına ise Kinetinin 0,2 mg/l'lik konsantrasyonunda ulaşılmıştır (28,5 mm ile).

Smerea ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada meristemlerin rejeneratif kapasitelerindeki sapmalar üzerinde yoğunlaşmışlardır. Buna göre meristemlerin rejeneratif kapasitedeki farklarının genotipe bağlı olduğu, ayrıca bu değişimin kaynağının virüs enfeksiyonuna bağlı olarak ta farklılık gösterebildiğini öne sürmüşlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Araştırmada, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü arazisinde Kober 5BB anacı üzerine aşılı olarak tesis edilmiş Trakya İlkeren, Gamay ve İtalia üzüm çeşitlerinin ana (yazlık) ve koltuk sürgünleri üzerindeki büyüme konilerinden izole edilen 0.1-0.4 mm çapındaki meristematik dokular kullanılmıştır. Araştırmaya konu çeşitlerin özellikleri kısaca şöyledir:

**3.1.1 Trakya İlkeren:** 1993 yılında tescil edilen çeşit Alphonse Lavallée X Perlette melezidir. Yumuşak çekirdekli, çok erkenci bir çeşittir. Koyu kırmızı, iri (6-7 g) tanesi olup salkımlarda iridir (400-500 g). Omcaların gelişmesi ve verimi iyi olup karışık ve uzun budama önerilir (Anonim 2005). Sürgün ucu tüylülüğü yok veya çok seyrek, sürgün gelişmesi yarı dik yönlüdür.



Şekil 3.1 Trakya İlkeren Çeşidi

**3.1.2 Gamay:** Sinonimleri Gamay noir, Gamay beaujolais ve Petit gamai'dir. Mavi-siyah tane rengine ve 2-3 adet çekirdeğe sahip şaraplık bir çeşittir. Taneleri yuvarlak ve küçüktür. Orta-erken dönemde olgunlaşmakta ve uzun budama önerilmektedir (Çelik 2006). Sürgün ucu tüylülüğü az, sürgün gelişimi diktir.



Şekil 3.2 Gamay Çeşidi

**3.1.3 İtalia:** Bicine X Muscat Hamburg melezidir. İri taneli (6-7 g), aromalı, kalın kabuklu, çekirdekli (1-3), iri salkımlı (400-500 g), beyaz sofralık bir çeşittir. Orta mevsimde (Eylül sonu) olgunlaşır. Kısa budamaya uygundur (Anonim 1990). Sürgün ucu tüylülüğü seyrek, sürgün gelişmesi yatay yönlüdür.



Şekil 3.3 İtalia Çeşidi



Laboratuar alışmaları, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü M¼d¼rl¼đ¼ Doku K¼lt¼r¼ Laboratuarında gerçekleştirilmiştir.

### 3.2 Y¼ntem

#### 3.2.1 Besin Ortamının Bileşimi ve Hazırlanması

Araştırmada besin ortamı olarak Barlass ve ark. (1982) tarafından ¼nerilen, asma için standart ¼l¼lerde vitamin ve mineral kompozisyona sahip Murashige ve Skoog (1962) ortamı kullanılmıştır. Bu ortamın içerdiği vitamin ve mineraller ile konsantrasyonları izelge 3.1'de verilmiştir.

Başlangıç ortamı olarak tanımlanan meristem k¼lt¼r¼n¼n bu aşamasında besin ortamına, b¼y¼meyi d¼zenleyici maddelerden 1.5 mg/l BAP eklenmiştir. Ayrıca ortam elik (2002)'de olduğu gibi 6 g/l ile yarı katı hale getirilmiştir. Besin ortamının pH'sı agar eklendikten sonra 5,8 olarak ayarlanmış, uzunluğu 100 mm, çapı 25 mm olan t¼plerin içerisine 10 ml doldurulmuştur. Çalışmada kullanılacak diğer malzemeler (bisturi, pens vs.) ile içerisinde besin ortamının bulunduğu t¼pler, içerdikleri besin ortamı miktarına uygun olarak 121<sup>0</sup>C'de 15 dakika s¼reyle sterilizasyona tabi tutulmuşlardır (şekil 3.4) .



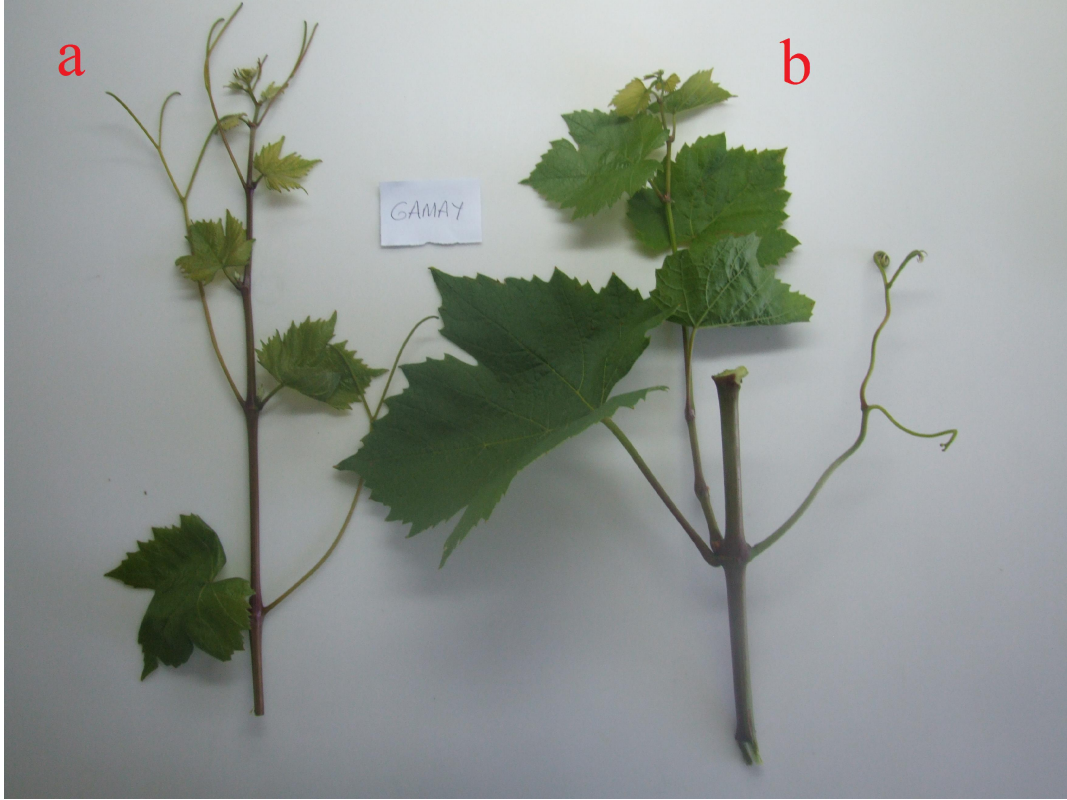
şekil 3.4 Meristem İzolasyonunda Kullanılan Malzemeler

Çizelge 3.1 MS Besin Ortamında Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Miktarları

Ortam Bileşenleri	Kullanılacak Miktar (mg/l)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
MnSO <sub>4</sub> .4 H <sub>2</sub> O	22.3
ZnSO <sub>4</sub> .7 H <sub>2</sub> O	8.6
KI	0.83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2 H <sub>2</sub> O	0.25
CuSO <sub>4</sub> .5 H <sub>2</sub> O	0.025
CoCl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O	0.025
FeSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	27.85
Na <sub>2</sub> EDTA	37.25
Nicotinic Acid	0.5
Pyridoxin HCl	1
Thiamine HCl	0.1
KNO <sub>3</sub>	1900
Sakkaroz	30000
<b>Agar</b>	6000

### 3.2.2 Sürgün Uçlarının Toplanması ve Dezenfeksiyonu

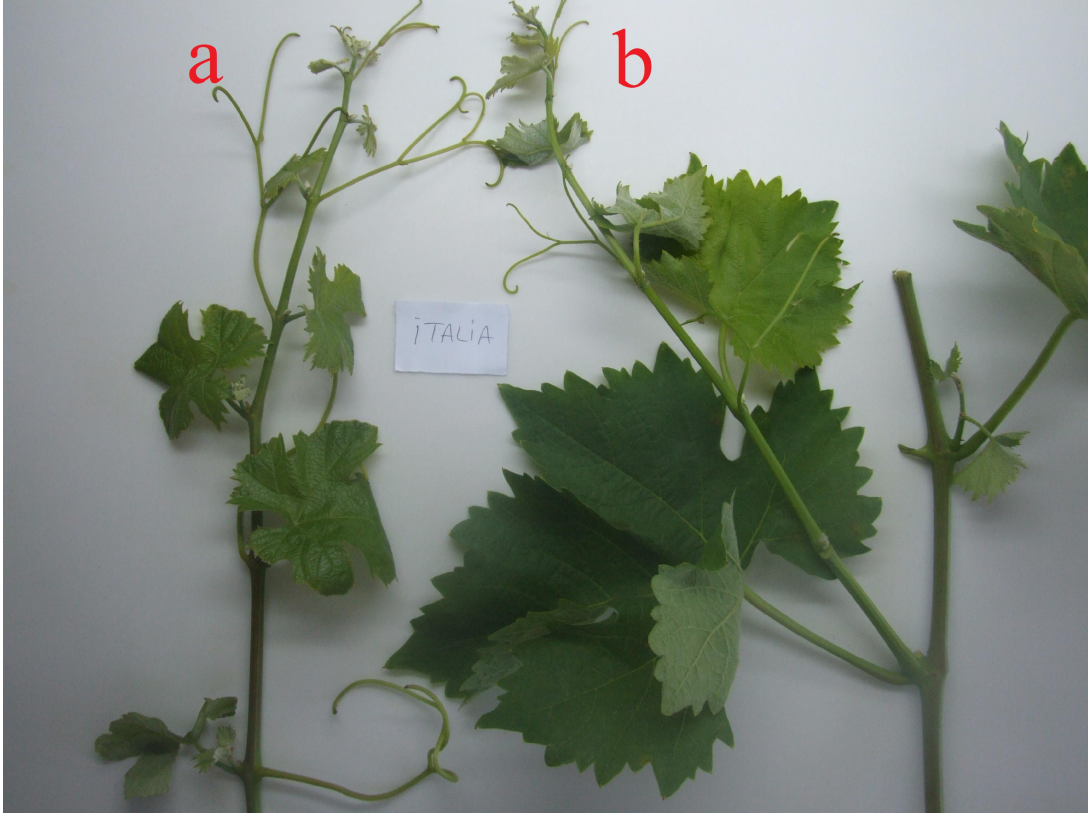
Meristematik dokuları kullanılacak sürgün uçları, herhangi bir su kaybına uğramamaları için içerisinde su bulunan kaplarla laboratuara taşınmıştır. Laboratuvara getirilen sürgün uçları, % 15'lik sodyumhipoklorit içerisinde 15 dakika bekletilmiş, ardından 3 kez 5'er dakika süre ile steril saf su ile çalkalanarak yıkanmıştır. Tüm bu işlemler, steril kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. Laminar hava akışlı steril kabin, her çalışma öncesi %96'luk etil alkol ile temizlenmiş ve 30 dakika UV ışıktaki bırakılmıştır.



Şekil 3.5 Gamay Çeşidinde Ana Sürgün (a) ve Koltuk Sürgünü (b)



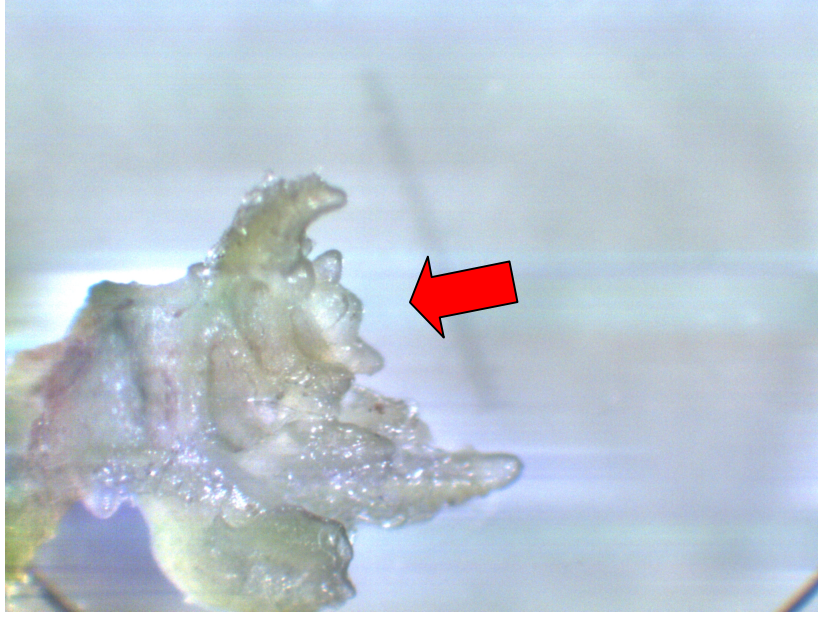
Şekil 3.6 Trakya İlkeren Çeşidinde Ana Sürgün (a) ve Koltuk Sürgünü (b)



Şekil 3.7 İtalia Çeşidinde Ana Sürgün (a) ve Koltuk Sürgünü (b)

### 3.2.3 Meristemlerin İzolasyonu ve Kültüre Alınması

Sürgün uçları, ince uçlu enjektör ve pens kullanılarak dıştan içe doğru yaprak taslakları, sülük taslakları, pullar ve tüylerin alınması ve uçta 1-2 yaprak taslağı ile apikal meristem kısmı kalacak şekilde 0.1-0.4 mm büyüklüğünde eksplantlar izole edilmiştir (Şekil 3.8). Bu büyüklükte olan meristem dokusu ile birlikte iki yaprak taslağının bulunması, eksplantların *in vitro* koşullarda gelişme şansını daha da yükseltmektedir (Kara 1992). Çok küçük materyaller ile çalışıldığından bu işlemler binoküler stereomikroskopta ve herhangi bir bulaşmanın önüne geçmek amacıyla laminar hava akışlı kabinde gerçekleştirilmiştir. İzole edilen meristemler her tüpte bir adet meristem olacak şekilde tüplere aktarılarak, 3 hafta süreyle kültüre alınmışlardır (Çelik 2002). Su kaybına karşı son derece duyarlı olan bu dokunun kurumaması için izolasyon ve dikim işlemlerinin mümkün olduğu kadar hızlı yapılmasına çalışılmıştır. Aynı zamanda işlemler sırasında kullanılan tüm aletler %96'lık etil alkole daldırılıp aleve tutularak, eller ise yine bu alkolle yıkanarak dezenfekte edilmişlerdir.



Şekil 3.8 Eksplant Olarak Kullanılan Meristematik Doku



Şekil 3.9 İklim Odası ve Kullanılan Tüplerin Genel Görünüşü

### 3.2.4 Kültür Koşulları

İzole edilen dokuların geliştirilmesinde Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde bulunan iklim odası kullanılmıştır (Şekil 3.9). Burada iklim koşulları  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyotta, 4000 lüks aydınlatma ile sağlanmıştır.

### 3.2.5 İncelenen Özellikler ve Denemelerin Değerlendirilmesi

Çalışmada üç değişik gelişme periyodunda (çiçeklenme başlangıcı, tane tutumu, tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemi) ve bunlardan da 2 değişik eksplant kaynağından (yazlık ve koltuk sürgünü) materyaller alınmıştır. Dolayısıyla 6 değişik uygulama söz konusudur. Bu 6 uygulamanın her biri 3 tekrardan oluşturulmuş ve tekrarlarda 10'ar materyal ile çalışılmıştır. Burada bahsi geçen kavramların açıklaması;

*Çiçeklenme Başlangıcı Dönemi:* Salkım sapına yakın kısımlardaki çiçeklerin açılmaya başladığı dönemdir.

*Tane Tutum Dönemi:* Döllenen tanelerin perikarpında hızlı bir büyümenin gerçekleştiği ve tanelerin yaklaşık 3-4 mm çapına eriştiği dönemdir.

*Tanelerin Bezelye Büyüklüğü Aldığı Dönem:* Salkımlardaki tanelerin bezelye (iri saçma) büyüklüğünü aldığı ve salkımların aşağıya doğru iyice sarktığı dönemdir.

*Ana(yazlık, terminal) Sürgün:* Vejetasyon döneminin başlamasıyla primer tomurcuğun kabarması ve patlaması sonucu oluşan sürgünlerdir.

*Koltuk Sürgünü:* Asmanın kısa sürgünleri olup, olduğu vejetasyon döneminde süren aktif tomurcuğun patlaması sonucunda yaprak koltuklarından çıkan sürgünlerdir.

Veriler Tesadüf Parsellerinde Faktöryel Deneme Desenine göre JMP programı kullanılarak değerlendirilmiş, oluşan farklılık düzeyleri de LSMeans Student's t testine göre belirlenmiştir. Araştırmada uygulamalar içerisinde ve arasında şu özellikler incelenmiştir:

1. Meristem Canlılık Oranı (%)
2. Meristem Gelişim Düzeyi (mm)

Meristem canlılık oranları, 3 haftalık gelişimden sonra canlı materyal sayılarının yüzde oranları hesaplanmasıyla bulunmuştur. Bunun yanında binoküler mikroskop altında ve kadranlı lam üzerinde en ve boy ölçümleri yapılmış, ilk ölçüm ile üç haftalık gelişim sonrası yapılan ölçüm arasındaki fark, eksplantlardaki gelişme farklarını oluşturmuştur. Elde edilen en ve boy fark değerlerinin toplamının ikiye bölünmesiyle eksplant başına gelişim düzeyleri hesap edilerek veriler istatistikî değerlendirilmeye tabi tutulmuştur.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Çeşitlerin Fenolojik Gözlemleri ve Uygulama Tarihleri

Tez çalışmamızın uygulama zamanlarına ilişkin olarak tespit ettiğimiz fenolojik gözlemlere ait veriler Çizelge 4.1’de verilmiştir. Bu tarihler baz alınarak meristem izolasyonu ve kültüre alım uygulamaları, Çizelge 4.2’de gösterilen tarihlerde gerçekleştirilmiştir. Tarihlere baktığımızda en erken çiçeklenen ve tane tutumuna ulaşan çeşit Gamay olmuştur. Trakya İlkeren çeşidi hasat tarihi olarak Gamay çeşidinden daha önce olgunlaşmasına karşın, çiçeklenme başlangıcı, tam çiçeklenme ve tane tutumu dönemleri Gamay çeşidinden daha geç, ancak tanelerin bezelye büyüklüğünü aldığı dönemi Gamay çeşidine göre daha erken gerçekleştirmiştir. Bu üç çeşit arasında tüm dönemler bazında İtalia çeşidi daha geççi bir görünüm çizmiştir.

Çizelge 4.1 Çeşit Bazında 2010 Yılına İlişkin Fenolojik Gözlemler

	<b>Gamay</b>	<b>Trakya İlkeren</b>	<b>İtalia</b>
<b>Çiçeklenme Başlangıcı</b>	24.05.2010	26.05.2010	30.05.2010
<b>Tane Tutumu</b>	03.06.2010	06.06.2010	07.06.2010
<b>Tanelerin Bezelye Büyüklüğü Aldığı Dönemi</b>	25.06.2010	23.06.2010	28.06.2010

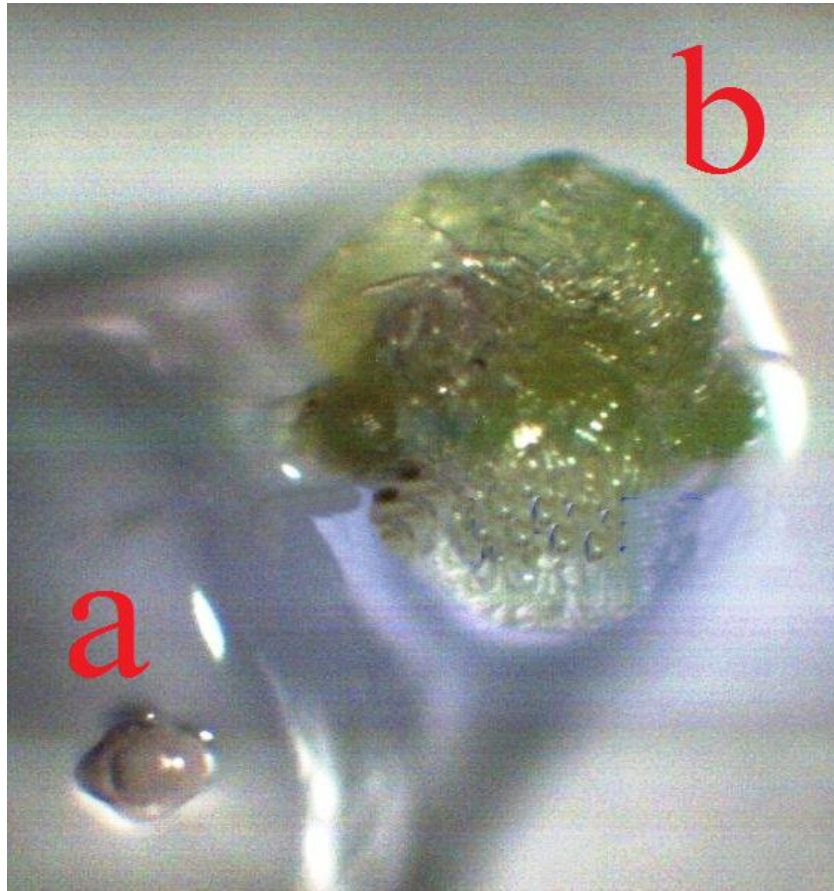
Çizelge 4.2 Meristem İzolasyonu ve Kültüre Alım Tarihleri

	<b>Gamay</b>		<b>Trakya İlkeren</b>		<b>İtalia</b>	
	Ana Sürgün	Koltuk Sürgünü	Ana Sürgün	Koltuk Sürgünü	Ana Sürgün	Koltuk Sürgünü
<b>Çiçeklenme Başlangıcı</b>	24.05.2010	25.05.2010	27.05.2010	27.05.2010	31.05.2010	01.06.2010
<b>Tane Tutumu</b>	03.06.2010	04.06.2010	07.06.2010	07.06.2010	08.06.2010	08.06.2010
<b>Bezelye Dönemi</b>	25.06.2010	25.06.2010	23.06.2010	24.06.2010	28.06.2010	29.06.2010

Meristemlerin izole edilerek besin ortamlarında kültüre alınmalarından 3 hafta sonra eksplantların canlılıkları ile doku gelişimleri en ve boy olarak ölçülmüştür. Bu ölçümler binoküler mikroskop altında, 0,01 mm hassasiyetli kadrana sahip lam üzerinde gerçekleştirilmiştir.

#### 4.2 Meristemlerin Gelişim Düzeyleri

Meristem izolasyonu sırasında, izole edilen meristemlerin en ve boyları binoküler mikroskop altında, 0,01 mm duyarlılıktaki lam üzerinde ölçümleri yapılan materyaller üç haftalık gelişim süresi sonrasında öncelikle canlılıkları kontrol edilmek suretiyle daha sonra yine binoküler mikroskop altında ve kadranlı lam üzerinde en ve boy ölçümleri yapılmıştır. İlk ölçüm ile üç haftalık gelişim sonrası yapılan ölçüm arasındaki fark, eksplantlardaki gelişme farklarını oluşturmuştur. Elde edilen en ve boy fark değerlerinin toplamının ikiye bölünmesiyle eksplant başına gelişim düzeyleri hesap edilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye alınmışlardır.



Şekil 4.1 İzole Edildikten Sonra (a) ve 3 Haftalık Gelişim Sonrası (b) Meristem Eksplantı



#### 4.2.1 Fizyolojik Gelişme Dönemleri Bazında Meristem Gelişim Düzeyleri

Çalışılan toplam 540 eksplant verileri göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede, eksplant başına meristem gelişim düzeyinin en yüksek değeri tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde (0.116 mm), en düşük değeri ise çiçeklenme başlangıcı döneminde (0.039 mm) verdiği görülmüştür (Çizelge 4.3).

Gelişim düzeylerinin dönemler ortalamasına baktığımızda çiçeklenme başlangıcı döneminden tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı döneme doğru ilerleyen fizyolojik gelişim sürecinde, dönemler ilerledikçe izole edilen meristemlerin gelişim düzeylerinin de arttığı, bu artışın istatistikî olarak ta anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan istatistikî gruplandırmada ise tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemin diğer iki döneme göre anlamlı bir farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.3 Fizyolojik Gelişme Dönemleri Bazında Meristem Gelişim Düzeyleri (mm)

	<b>Çiçeklenme Başlangıcı</b>	<b>Tane Tutumu</b>	<b>Tanelerin Bezelye Büyüklüğü Aldığı Dönem</b>	<b>Çeşitler Ortalaması</b>
<b>GAMAY</b>	0.027 b	0.039 b	<b>0.116 a</b>	0.061
<b>TRAKYA İLKEREN</b>	0.054	0.086	0.092	0.078
<b>İTALİA</b>	0.035 b	0.056 b	<b>0.139 a</b>	0.077
<b>Dönemler Ortalaması</b>	0.039 B	0.060 B	<b>0.116 A</b>	

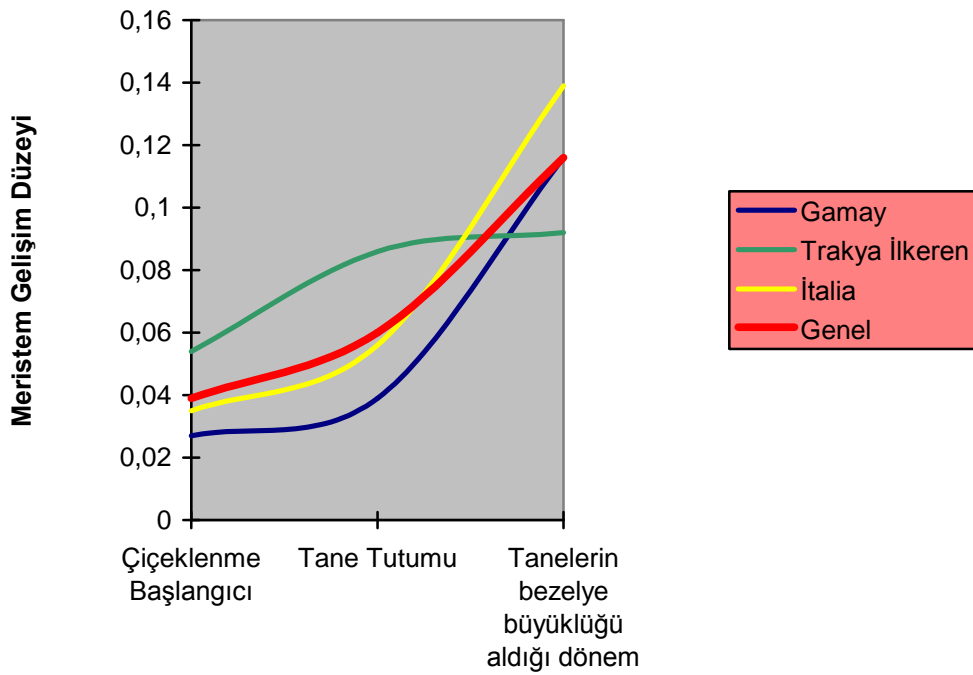
(LSD= % 5)

Meristem gelişim düzeylerinin çeşitler ortalamasının karşılaştırılmasında istatistiksel bir farklılık belirlenmemesine karşın, Gamay çeşidinde elde edilen gelişim düzeyinin (0.061 mm) diğer iki çeşide oranla düşük olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.3). İtalia (0.078 mm) ve Trakya İlkeren (0.077 mm) çeşitlerinde ise gelişim düzeyleri birbirine çok yakın bulunmuştur.

Çalışılan üç çeşidin gelişim düzeylerini kendi içlerinde incelediğimizde, üç çeşidin de çiçeklenme başlangıcı döneminde alınan materyallerinin gelişim düzeyleri, diğer dönemlere

nazaran en düşük değerleri vermiş, bu çeşitlerin tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde izole edilen materyalleri ise en yüksek değerleri göstermiştir.

Yapılan istatistiki değerlendirmeye göre Gamay ve İtalia eşitlerinde tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde izole edilen meristemlerin gelişim düzeyleri diğer dönemlere nazaran önemli derecede yüksek bulunmuştur. Trakya İlkeren eşidinde ise tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde izole edilen meristemlerin gelişim düzeyleri diğer dönemlere oranla yüksek bir değer vermesine karşın burada istatistiki açıdan bir fark tespit edilmemiştir.



şekil 4.2 çeşitlerin Fizyolojik Gelişme Dönemlerine Ait Meristem Gelişim Düzeyleri (mm)

#### 4.2.2 Orijin Bazında Meristemlerin Gelişim Düzeyleri

Meristem gelişim düzeylerinin orijin ortalamaları açısından yapılan değerlendirmede koltuk sürgününden izole edilen meristem eksplantlarının (0.081 mm), ana (yazlık)sürgünden izole edilen meristem eksplantlarına (0.062 mm) göre daha iyi bir gelişim gösterdiği tespit edilmiştir.

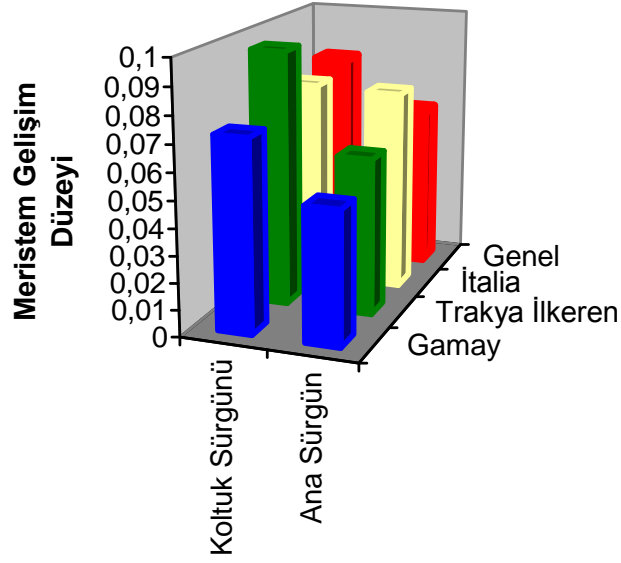
Koltuk sürgünlerinden izole edilen meristematik dokuların ana (yazlık) sürgünden izole edilen meristematik dokulara oranla daha iyi sonuç verdiği istatistiksel olarak da doğrulanmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Orijin Bazında Meristemlerin Gelişim Düzeyleri (mm)

	<b>Koltuk Sürgünü</b>	<b>Ana (Yazlık) Sürgün</b>
<b>GAMAY</b>	<b>0,076 a</b>	0,046 b
<b>TRAKYA İLKEREN</b>	<b>0,096 a</b>	0,059 b
<b>İTALIA</b>	0,077	0,076
<b>Orijinler Ortalaması</b>	<b>0,081 A</b>	0,062 B

(LSD= % 5)

Çizelge 4.4'de çeşitleri tek tek değerlendirdiğimizde tüm çeşitlerin koltuk sürgününden alınan eksplantlarda meristem gelişim düzeylerinin ana sürgünden alınan eksplantlara göre daha yüksek bir değerde olduğu, bu durumun İtalia çeşidi dışında Trakya İlkeren ve Gamay çeşitlerinde istatistiki olarak anlamlı bir farklılığa işaret ettiğini söylemek gerekir. İtalia çeşidinde iki orijin arasındaki meristem gelişim düzeyi farklılığı yok denecek kadar azdır.



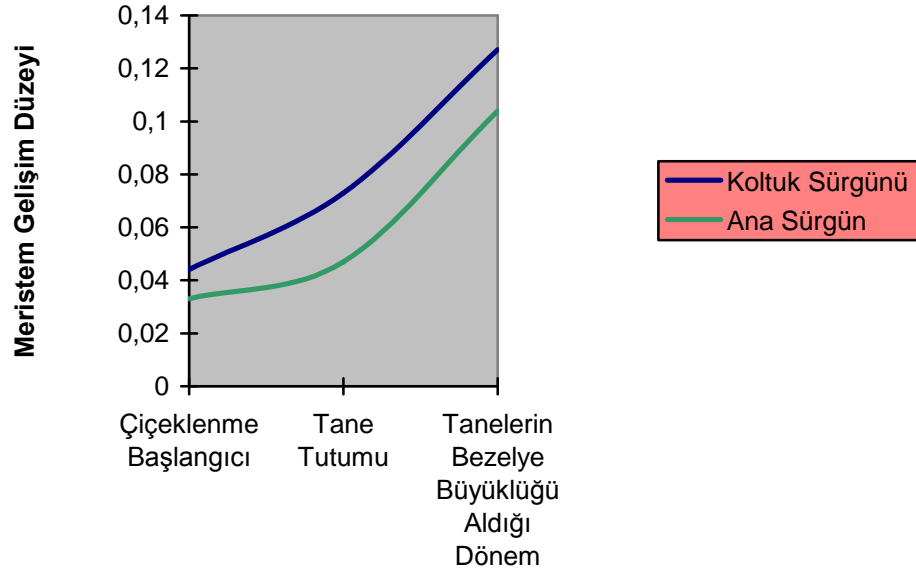
Şekil 4.3 Orijin Bazında Meristemlerin Gelişim Düzeyleri

#### 4.2.3 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristemlerin Gelişim Düzeyleri

Meristemlerin gelişim düzeylerinin orijin-dönem etkileşimine baktığımızda, koltuk sürgününden izole edilen eksplantlardaki gelişim düzeylerinin tüm dönemlerde ana sürgünden izole edilen eksplantlara göre yüksek olduğu görülse de bu durum istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristemlerin Gelişim Düzeyleri (mm)

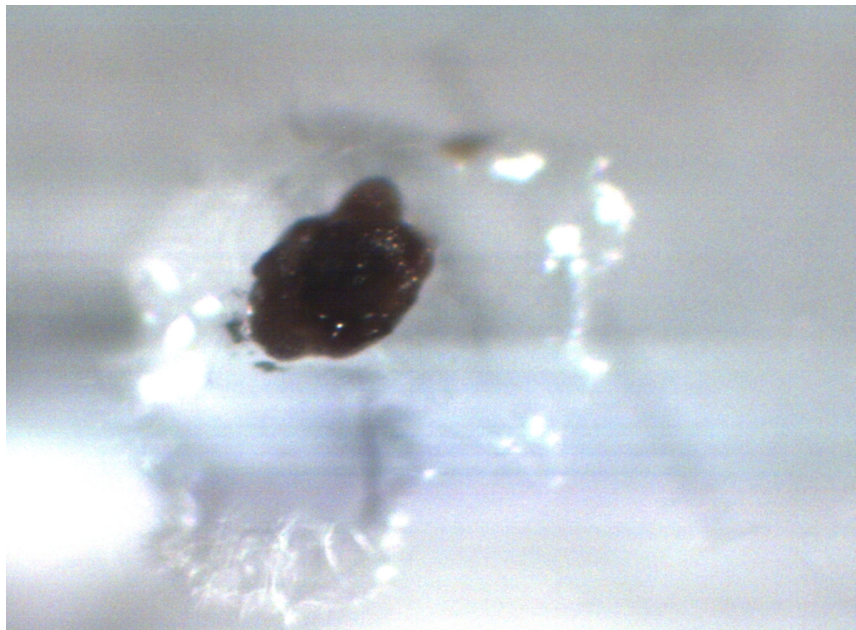
	Koltuk Sürgünü	Ana (Terminal) Sürgün
<b>Çiçeklenme Başlangıcı Dönemi</b>	0.044	0.033
<b>Tane Tutumu Dönemi</b>	0.073	0.047
<b>Tanelerin Bezelye Büyüklüğü Aldığı Dönem</b>	0.127	0.104



Şekil 4.4 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristemlerin Gelişim Düzeyleri

### 4.3 Meristem Canlılıkları

Denemenin bu aşamasında kültüre alınan meristem eksplantlarının, üç haftalık gelişim süreci sonrasındaki canlılıkları gözlenmiştir. İşlem yine binoküler mikroskop altında gerçekleştirilmiş olup, canlılığını devam ettiren materyaller tespit edilmiştir.



Şekil 4.5 Canlılığını Yitirmiş Meristem

#### 4.3.1 Dönem Bazında Meristem Canlılıkları

Meristem canlılıklarının dönem ortalamaları incelendiğinde, tane tutumu (% 45.53) ve tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde (% 48.86) izole edilen eksplantların çiçeklenme başlangıcına (% 37.56) göre daha yüksek değerler verdiği görülmektedir. Burada da tıpkı meristem gelişim düzeylerinde olduğu gibi, dönemler ilerledikçe meristem canlılıklarında artış olduğu göze çarpmaktadır. Bu çalışmada genel olarak elde edilen meristem canlılık oranlarının düşük olduğu söylenebilir. Bunun nedeninin izole edilen meristem dokuların kısa da olsa bir müddet ölçüm için bekletilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

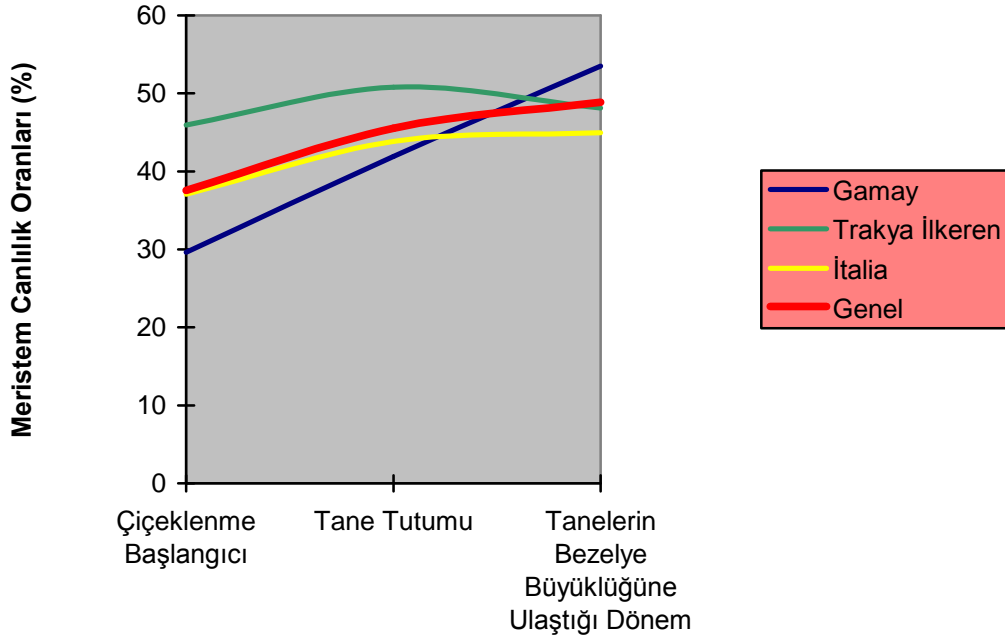
Yapılan istatistikî değerlendirme sonucunda tane tutum dönemi ve tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde izole edilen meristem dokuların çiçeklenme başlangıcı döneminde izole edilen dokulara oranla meristem canlılığı açısından anlamlı bir farklılık oluşturduğunu görmekteyiz(Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Fizyolojik Gelişme Dönemleri Bazında Meristem Canlılıkları (%)

	<b>Çiçeklenme Başlangıcı</b>	<b>Tane Tutumu</b>	<b>Tanelerin Bezelye Büyüklüğü Aldığı Dönemi</b>	<b>Çeşitler Ortalaması</b>
<b>GAMAY</b>	29.64 b	41.92 ab	<b>53.50 a</b>	41.69 b
<b>TRAKYA İLKEREN</b>	45.96	50.81	48.12	<b>48.30 a</b>
<b>İTALİA</b>	37.08	43.85	44.96	41.96 b
<b>Dönemler Ortalaması</b>	37.56 b	<b>45.53 a</b>	<b>48.86 a</b>	

(LSD= % 5)

Meristem canlılıklarına çeşitler ortalamaları dikkate alınarak baktığımızda Trakya İlkeren çeşidinin diğer iki çeşide oranla daha yüksek değerler verdiği Çizelge 4.6'da görülmektedir. Trakya İlkeren'nin meristem canlılığındaki bu farklılık istatistiksel olarak da diğer çeşitlere göre anlamlı bulunmuştur. Gamay ve İtalia çeşitleri arasında ise meristem canlılık değerleri birbirine yakındır.



Şekil 4.6 Dönem Bazında Meristem Canlılıkları (%)

Çalışılan üç çeşit kendi içlerinde fizyolojik gelişme dönemlerine göre meristem canlılıkları açısından incelendiğinde, üç çeşidin de çiçeklenme başlangıcı döneminde izole edilen materyallerinin canlılık oranları, diğer dönemlere nazaran en düşük değerleri vermiş, bu çeşitlerin tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı döneminde izole edilen materyalleri ise en yüksek değerleri(Trakya İlkeren hariç) göstermiştir (Çizelge 4.6). Bu durumu istatistiksel açıdan değerlendirdiğimizde, sadece Gamay çeşidinin tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde tespit edilen meristem canlılıkları diğer dönemlere nazaran önemli derecede farklı bulunmuştur. Diğer iki çeşitte ise istatistiki açıdan dönemler arasında bir fark tespit edilememiştir.

#### 4.3.2 Orijin Bazında Meristem Canlılıkları

Meristem canlılıklarının orijin ortalamaları dikkate alınarak incelendiğinde, koltuk sürgününden (% 47.06) izole edilen materyallerin ana sürgünden (% 40.90) izole edilen materyallere göre daha iyi sonuçlar verdiği saptanmıştır. Orijin ortalamaları bazında meristem canlılıkları arasındaki fark yapılan istatistiksel analiz ile de anlamlı bulunmuştur(Çizelge 4.7).

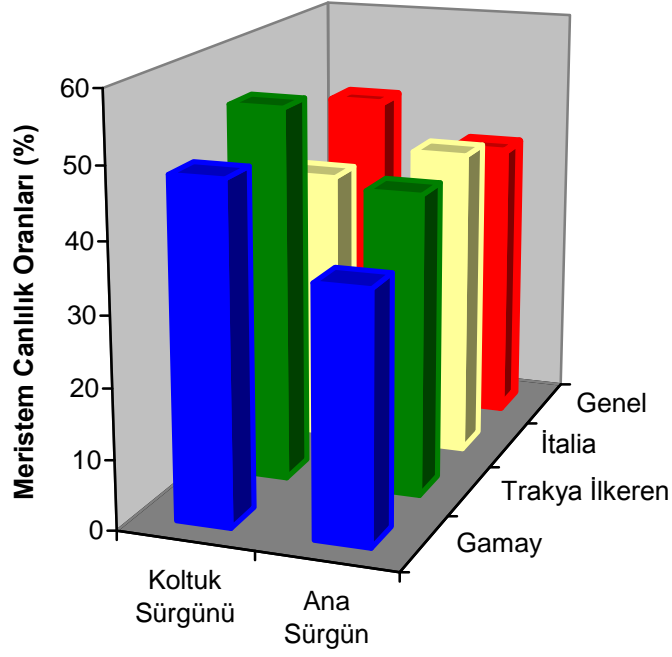
Çizelge 4.7 Orijin Bazında Meristem Canlılıkları (%)

	<b>Koltuk Sürgünü</b>	<b>Ana (Terminal) Sürgün</b>
<b>GAMAY</b>	<b>48.02 a</b>	35.36 b
<b>TRAKYA İLKEREN</b>	<b>53.57 a</b>	43.02 b
<b>İTALIA</b>	39.59	44.33
<b>Orijinler Ortalaması</b>	<b>47.06 a</b>	40.90 b

(LSD= % 5)

Çeşitleri kendi içlerinde meristem canlılık oranları açısından orijinleri dikkate alarak değerlendirdiğimizde, Trakya İlkeren ve Gamay çeşitlerinde koltuk sürgünlerinden izole edilen meristem dokuların ana sürgünden izole edilen dokulara göre yüksek değerler verdiği (sırasıyla % 53.57 ve % 48.02) tespit edilmiştir. Bu farklılık istatistiksel analiz sonucunda da anlamlı bulunmuştur. Bunun yanında İtalia çeşidinde ana sürgünden alınan dokuların meristem canlılık oranları (% 44.33) koltuk sürgünlerinden alınanlara göre (% 39.59) yüksek olduğu, ancak bu durumun yapılan istatistiki değerlendirmede önemli olmadığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.7).





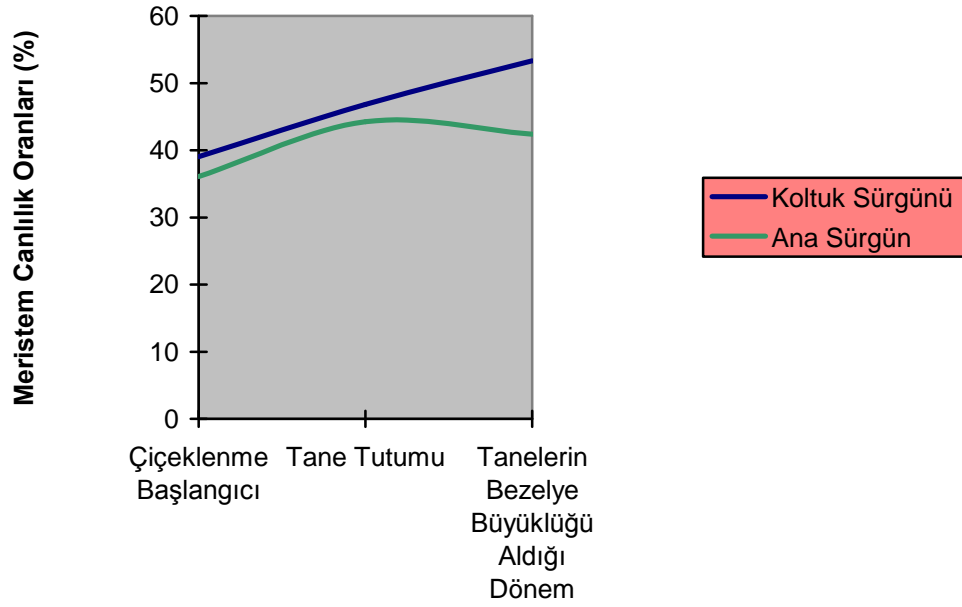
Şekil 4.7 Orijin Bazında Meristem Canlılıkları (%)

#### 4.3.3 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristem Canlılıkları

Son olarak fizyolojik gelişim dönemi ile orijinin meristem canlılıkları bakımından etkileşimi değerlendirilmiştir. Burada yapılan istatistiki değerlendirmede incelenen iki özelliğin (Fizyolojik gelişim dönemi ve eksplant kaynağı) meristem canlılığı bakımından birbirleriyle etkileşim içinde bulunmadıkları tespit edilmiştir. Buna rağmen tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönemde koltuk sürgünlerinden alınan materyallerin daha yüksek canlılık gösterdikleri (53.31), çiçeklenme başlangıcında ana sürgünden alınan materyallerin ise düşük canlılık gösterdikleri (36.07) görülmektedir (Çizelge 4.8). Ayrıca dikkat çeken bir diğer konu, incelenen üç dönemin tümünde koltuk sürgünlerinden alınan materyallerin, ana sürgünden alınan materyallere oranla canlılık oranlarının yüksek olduğudur.

Çizelge 4.8 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristem Canlılıkları (%)

	<b>Koltuk Sürgünü</b>	<b>Ana (Terminal) Sürgün</b>
<b>Çiçeklenme Başlangıcı</b>	39.05	36.07
<b>Tane Tutumu</b>	46.83	44.23
<b>Tanelerin Bezelye Büyüklüğü Aldığı Dönem</b>	53.31	42.41



Şekil 4.8 Orijin-Dönem İnteraksiyonunda Meristem Canlılıkları (%)

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Asma meristem kültüründe 0.2-0.5 mm boyutlarında çok küçük dokular ile çalışılmaktadır. Bu dokuların canlılıklarını korumaları ve farklılaşmaları ile birlikte öncelikle sürgünler, daha sonra bu sürgünlerin köklenmeleri ile de tam bitkiler elde edilmektedir. Dolayısıyla çalıştığımız bu küçük materyallerin ilk olarak yaşamlarını sürdürebilmelerini, daha sonrada gelişmelerini sağlamak büyük önem arz etmektedir. Meristematik dokuların hayatta kalma oranları ve gelişimleri Giriş bölümünde de kısaca değinildiği gibi birçok etmene bağlıdır.

Çalışmamızda, meristem gelişim düzeyi ve canlılıkları bakımından, donör bitkinin fizyolojik gelişme dönemi, eksplantın donör bitki üzerindeki yeri (orijini) ile bu etmenlerin birbiri arasındaki interaksiyonu incelenmiştir.

Meristem gelişim düzeyleri ile canlılıklarının donör bitkinin fizyolojik gelişme dönemleri bakımından yapılan değerlendirmeye göre çiçeklenme başlangıcı döneminden, tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı döneme doğru gidildikçe değerlerde artışların olduğu saptanmıştır. Her iki ölçüt dikkate alındığında tanelerin bezelye büyüklüğüne ulaştığı dönemde izole edilen meristem eksplantlarının daha iyi gelişim gösterdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, tane tutum döneminde izole edilen meristematik dokuların en az tanelerin bezelye büyüklüğüne ulaştığı dönemdeki kadar meristem canlılığına sahip oldukları istatistiksel değerlendirmede ortaya çıkmıştır. Tanelerin bezelye büyüklüğü aldığı dönem, deneme yılı olan 2010 yılında Çizelge 4.1'de görüldüğü üzere Haziran ayı sonuna denk gelmektedir. Bu tür çalışmalar tarih bazında yürütüldüğünde sonuçları değişik ekolojilere uyarlamakta zorluklar yaşanabileceği göz önüne alınmalıdır. Kebeli ve ark. (1996) Tekirdağ ekolojisinde yaptıkları araştırmada Clairette üzüm çeşidinden Mayıs, Haziran 1. dönem, Haziran 2. dönem ve Temmuz dönemlerinde meristem izole ederek kültüre almışlardır. Burada meristem yaşama oranları açısından en iyi sonucu Temmuz döneminde alınan eksplantların verdiği tespit edilmiştir. İkinci olarak haziran ayının 2. döneminde alınan materyallerin yüksek yaşama oranına sahip oldukları belirlenmiş olup, bu sonuçlar tez çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile benzerdir. Diğer bir çalışmada ise meristemlerin kültüre alım zamanı olarak Haziran ayı en uygun zaman olarak bulunmuştur (Choi ve ark. 1992). Konuyla doğrudan ilgili çok fazla çalışma olmadığından, çalışmamızın sonuçlarını sürgün ucu kültürü ile ilgili çalışmalarla kıyaslama gereği duyulmuştur. Sürgün uçlarının vejetasyon dönemi içerisinde 3'er haftalık aralıklar ile izole edilmesiyle sürgün ucu kültürünün uygulandığı bir diğer çalışmada (Tangolar ve ark. 1999), vejetasyon dönemi

ilerledikçe toplam fenollerin miktarı yükselmesine karşın eksplant canlılıklarında düzensiz değişimler görülmüştür. Dolayısıyla bu çalışmada toplam fenol miktarı ile eksplant canlılığı arasında doğrudan bir ilgi kurulamamıştır. Bu sonuçlara karşılık, bir başka çalışmada ise vejetasyon süresi içerisinde 15'er gün aralıklar ile dört farklı üzüm çeşidinden alınan sürgün ucu eksplantlarının gelişimleri incelenmiştir. Gerek sürgün ucu kültürü gerekse toplam fenolik madde, içsel hormon ve fenolik bileşikler bakımından elde edilen başarının örnek alım tarihlerine ve çeşitlere göre değiştiği belirlenmiştir. Ancak, bu çalışmada vejetasyon dönemi ilerledikçe eksplantlardaki fenolik madde miktarlarının arttığı, içsel hormonların uyarıcı/engelleme oranının ise bu süreçte azaldığı dolayısıyla büyüme gösteren eksplant oranının ise azaldığı tespit edilmiştir (Baydar ve ark. 2003). Ancak sürgün ucu kültürü ile ilgili yapılan bu iki çalışmanın meristem kültürü ile karşılaştırılmasının ne kadar doğru olduğu tartışılır. Nitekim meristem kültüründe sürgün ucu kültürüne oranla çok daha küçük materyaller ile çalışıldığı ve bunların hayatta kalma oranlarının sürgün ucu eksplantlarına göre düşük olduğunu belirtmek gerekir.

Donör bitki üzerinde eksplantın alındığı yer ile ilgili olarak elde edilen bulgulara baktığımızda hem meristem gelişim düzeyi hem de meristem canlılığı bakımından koltuk sürgünlerinden alınan materyaller daha başarılı sonuçlar vermiştir. Benzer çalışmalarda, örneğin Corte ve Mendonca (1985) 14 vinifera çeşidi, 11 anaç ve 2 *V. rupestris* formunun tepe ve koltuk sürgünlerinden alınan meristemleri *in vitro*'da kültüre almışlardır. Materyallerin çoğunda meristem orijini kültürün başarısını etkilememiş olmasına karşın, 3 çeşit ve 1 anaçta sadece koltuk sürgünlerinde başarı sağlamışlardır. Diğer bir araştırma (Dan-Hua ve Meredith 1985) bulgularına göre ise koltuk sürgünlerinden alınan sürgün ucu eksplantlarının daha fazla ışık alan terminal sürgünlerden alınan sürgün ucu eksplantlarına nazaran yaşama oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Burada yaşama oranları bakımından eksplant pozisyonunun etkisi ışığın etkisinden daha fazla bulunmuştur. Ancak bu etki bazı çeşitlerde (Zinfandel ve Chenin Blanc) güçlü bazı çeşitlerde zayıf bulunmuştur. Perez-Tornero ve ark. (2006) 4 kayısı çeşidinin *in vitro*da başlangıç ve gelişimleri üzerine eksplant orijininin etkilerini incelemişlerdir. Başlangıç ortamında koltuk sürgünleri kullanıldığı zaman eksplantların hayatta kalma oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalar çeşitler bazında değerlendirildiğinde, meristem gelişim düzeyleri açısından herhangi bir fark görülme de meristem canlılıkları açısından Trakya İlkeren çeşidinin diğer iki çeşide oranla daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Burada meristem gelişim düzeyleri bakımından Trakya İlkeren çeşidine ait değerlerin diğer çeşitlere oranla yüksek olduğu, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığını belirtmek

gerekmektedir. Çalışmamızın meristem canlılığı ile ilgili sonuçlarına benzer olarak, çeşit etmeninin meristem gelişimleri üzerine etkili olduğunu vurgulayan araştırmalar çoğunluktadır (Fidan ve ark. 1984, Gönülşen 1987, Botti ve ark. 1993, Smerea ve ark. 2010).

Bunun yanında çalışılan üç çeşidin koltuk sürgününden izole edilen eksplantlarında meristem gelişim düzeylerinin ana sürgünden izole edilen eksplantlara göre daha yüksek bir değerde olduğu, bu durumun İtalia çeşidi dışında Trakya İlkeren ve Gamay çeşitlerinde istatistiki olarak anlamlı bir farklılığa işaret ettiğini söylemek gerekir. İtalia çeşidinde iki orijin arasındaki meristem gelişim düzeyi farklılığı yok denecek kadar azdır. Benzer sonuçlar meristem canlılığı verilerinde de söz konusudur. Nitekim Gamay ve Trakya İlkeren çeşitlerinin koltuk sürgünlerinden izole edilen dokuların meristem canlılık oranları ana sürgünden izole edilen dokuların meristem canlılık oranlarına göre yüksek çıktığı görülmektedir.

Meristem gelişim düzeyi ve meristem canlılığı özelliklerinin fizyolojik gelişim dönemi ile orijin interaksiyonuna baktığımızda, incelenen bu iki özellik açısından da etkileşimin söz konusu olmadığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak asma meristem kültürü çalışmalarının başlangıç aşamasında, alınacak meristem dokuların meristem gelişim düzeyi değerlendirmesine göre tanelerin bezelye büyüklüğüne ulaştığı dönemde, meristem canlılığı değerlendirmesine göre ise hem tane tutumu hem de tanelerin bezelye büyüklüğüne ulaştığı dönemde izole edilerek kültüre alınmasının diğer dönemlere oranla olumlu sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç, tarihler bazında yürütülen çalışmalardan farklı olarak fizyolojik gelişme dönemleri üzerinden yürütülmesi ve anlamlı sonuçlar vermesi itibarıyla de pratiğe aktarımı etkin olabilecektir. Ayrıca alınacak meristem dokuların ana (yazlık) sürgünlerden değil koltuk sürgünlerinden alınmasının hem meristem gelişim düzeyi hem de meristem canlılığı bakımından daha iyi sonuçlar verdiği çalışmamız ile ortaya konmuştur. Ancak incelenen dönem ve orijin özellikleri arasında meristem gelişim düzeyi ve meristem canlılığı açısından bir etkileşim bulunmamıştır.

Tez çalışması sırasında yapılan gözlemler neticesinde bundan sonraki çalışmalara ışık tutması açısından bazı önerilere de dikkat çekmek gerekmiştir. Vejetasyon süreci içerisinde diğer fizyolojik gelişim dönemleri üzerinde de çalışılması, örneğin tam çiçeklenme ve ben düşme döneminde de bu çalışmaların yürütülmesi, ayrıca çalışmalara amerikan asma anaçlarının da eklenmesinin uygun olacağı öngörülmektedir. Ayrıca bu tip çalışmalarda meristem dokuların dönemler ve orijinler bazında içerdikleri fenolik bileşikler ile içsel

hormon miktarları tespitinin, elde edilecek sonuçların yorumlanmasında etkili olacağı düşünülmektedir.

## 6.KAYNAKLAR

- Aazami M A (2010). Effect Of Some Growth Regulators On *In Vitro* Culture Of Two *Vitis Vinifera* L. cultivars. Romanian Biotechnological Letters. 15 (3): 5229-5232.
- Abdallah B, Fnayou F, Ghorbel A (1997). Preservation of Authochthone Tunisian Grapevines by Using *In Vitro* Tecnique. Progres Agricole et Viticole. 114 (15-16): 343-347. Montpellier.
- Ağaoğlu Y.S (1999). Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık Cilt 1 Asma Biyolojisi. Kavaklıdere Eğitim Yayınları. No:1 Ankara.
- Ağaoğlu Y.S (2002). Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık Cilt 2 Asma Fizyolojisi 1. Kavaklıdere Eğitim Yayınları. No:5 Ankara.
- Altmayer B, (1987). The *In Vitro* Propagation of Grapevines. Gesunde Pflanze. 29 Jahrg., Heft.8.
- Anonim (1990). Standart Üzüm Kataloğu. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Mesleki Yayınlar Seri No: 15, Ankara, 91 s.
- Anonim (2005). Sofralık Yeni Üzüm Çeşitlerimiz Tanıtım Broşürü, Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Tekirdağ.
- Babaoğlu M, Gürel E, Özcan S (2001). Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü Uygulamaları.
- Barlass M, Skene K.G.M, Clingeletter P.R (1982). Studies On The Fragmented Shoot Apex Of Grapevine III. A Scanning Elektron Microscope Study Of Adventitious Bud Formation In Vitro. Hort. Abstr. 52 (3):138.
- Batur M (1989). Kalecik Karası Üzüm Çeşidi Ve 41 B M.G. Anacının Meristem Kültürü İle Çoğaltılmasında Değişik Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Sürgün Oluşumu Ve Köklenme Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Berljak J, Koruza B (2006). Effect Of The Culture Media On Meristem Differentiation, Shoot And Root Development In Grapevine. 4th Slovenian Symposium on Plant Biology. 121-122, 5-P8.
- Benson E E (1995). Cryopreservation Of Shoot Tips And Meristems. Methods in Molecular Biology. 38: 121-132.
- Botti C, Garay L, Reginato G (1993). The Influence Of Culture Dates, Genotype, Size And Type Of Shoot Apices On *In Vitro* Shoot Proliferation Of *V. Vinifera* Cvs. Thompson Seedless, Ribier And Black Seedless. Vitis 32, 125-126.
- Bürün B, Türkoğlu G (1996). Meristem Ve Sürgün Ucu Kültürleri (I) Meristem Ve Sürgün Ucu Kültürlerine Etki Eden Faktörler. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi. 6(3): 103-111.
- Choi S.Y, Oh J.Y, Kim J.S, Pak D.M, Lee S.B, Choi D.U (1992). 1. Factors Affecting Culture Establishment And Shoot Proliferation On Kyoho And S.9110 Grape Varieties By Meristem Culture *In Vitro*. Research Reports Of The Rural Development Administration, Biotechnology 34(2). 1-9.
- Clog E, Bass P, Walter B (1990). Plant Regeneration By Organogenesis In Vitis Rootstock Species. Plant Cell Reports. 8(12), 726-728.
- Corte G, Mendonca A (1985). İmportance Of Meristem Culture For Rapid Propagation Of Grape Clones Free Of Virus. Bulletin-de L'OIV. 58:650-651, 396-402.
- Çelik S (2007). Bağcılık (Ampeloloji). Cilt 1. Tekirdağ, 428 s.
- Çelik H, Abak K, Batur M, Sakin Ş (1988). Asmaların Meristem Kültürü İle Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Türkiye III. Bağcılık Sempozyumu, 31 Mayıs-3 Haziran, Bursa, s:12.
- Çelik H, Ağaoğlu Y.S, Fidan Y, Marasalı B, Söylemezoğlu G (1998). Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi, 100-102 s. Ankara.

- Çelik H, Marasalı B, Söylemezoğlu G, Gürsoy Y.Z, Baydar N.G, Yüksel İ, Gökçay E, İlbaý A.K, İlhan İ (2000). Türkiye’de Virüssüz Sertifikalı Asma Fidan Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi. Euraka EU 679 Vitis. Proje no: Toag.1108.
- Çelik H, İlbaý A.K (2002). Bazı Asma Genotiplerinde Meristem Kültürü Yoluyla Elde Edilen Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılması Aşamasında Başarının Artırılması Üzerinde Araştırmalar. Proje no: 98-11-01-08, T.C. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu, Ankara.
- Çelik H (2006). Üzüm Çeşit Kataloğu. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi:3.
- Dalal M.A, Sharma B.B, Gupta N (1993). Seasonal Variation In Phenol Level Of Shoot Tips And Its Relation With Explant Survival In Grapevine (*Vitis Vinifera*) Culture Initiated *In Vitro*. Indian Journal of Agri. Sci. 63 (2): 75-9.
- Dan-Hua Y, Meredith C.P (1986). The Influence Of Explant Origin On Tissue Browning And Shoot Production In Shoot Tip Cultures Of Grapevine. Journal Of The American Society For Horticultural Science. 111. 972-975.
- Dodds J.H, Roberts L.W (1993). Experiments In Plant Tissue Culture. Second Edition, Cambridge University Press. USA.
- Doroshenko N.P (1997). Enhancement Of The Regenerative Ability Of Meristems During The Production Of Virus-Free Grapevine Planting Material. Vinogradı Vıno Rossii. (2). 6-9.
- Ellialtıoğlu Ş (1999). Doku Kültürü Yoluyla Vegetatif Çoğaltmada Doku Kararması Sorunu, Nedenleri Ve Çözüm Yolları. Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi, Cilt 24, Sayı: 1, s: 37-47.
- Fidan Y, Abak K, Çelik H (1984). Asmalarda Meristem Kültürü İle Çoğaltma. Türkiye II. Bağcılık Ve Şarapçılık Sempozyumu Bildiri Özetleri. Manisa.
- Gök Tangolar S (2002). Asmalarda Somatik Embriyogenesis Ve Organogenesis Yoluyla Bitki Elde Edilmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. 165 s. Adana.
- Göktürk Baydar N, Ülger S, Çetin S, Ertoy N (2003). Asma Sürgün Uçlarında İçsel Hormon Ve Fenolik Madde Değişimleri İle Bu Değişimlerin Sürgün Ucu Kültüründe Başarı Üzerine Etkileri. Tübitak TOGTAG-2598. Isparta.
- Göktürk Baydar N, Ülger S, Çetin S (2006). Effects of Phenolic Compounds and Endogenous Hormones on the *in vitro* Shoot Tip Culture of Grapevine. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 81, 3, 429–434.
- Gönülşen N, Özcan Ö (1980). Asma (*Vitis Spp.*)’nın Doku Kültürü İle Üretilmesi Üzerinde Araştırmalar. Tübitak VII. Bilim Kongresi. Tarım Ve Ormancılık Araştırma Grubu. Adana.
- Gönülşen N (1987). Bitki Doku Kültürleri Yöntemleri Uygulama Alanları. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayınları. No:78. İzmir.
- 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. s: 7-14.
- Grout B.W.W (1990). Meristem Tip Culture. Plant Cell And Tissue Culture-Methods In Molecular Biology. The Humana Press. 6. s: 81-91.
- Hatipoğlu R (1997). Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No:190. Adana.
- Izvorska N, Lilov D (1981). Influence Of Gibberalic Acid (GA3) On İnduction Of Morphogenesis In Tissues İsolated From Various Organs Of Grapevine. Hort. Abstr. 51 (11). S:785.



- Kara S (1992). Asmaların Meristem Kültürü Yoluyla Çoğaltılması Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İzmir.
- Karaca N (2006). Kalecik Karası'nın 4 Ve 23 Nolu Klonunda Baz Materyal Elde Edilmesine Yönelik Olarak Yapılan Meristem Kültürü Yönteminin Optimizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- Kartha K.K (1981). Meristem Culture and Cryopreservation Methods and Applications. Academic Press. S: 187-193.
- Kebeli N, Özen T, Boz Y (1996). Clairette Üzüm Çeşidinin Meristem Kültürü İle Çoğaltılmasında Uygun Oksin-Sitokinin Kombinasyonunun Araştırılması. Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı, TAGEM, Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Tekirdağ.
- Kebeli N, Boz Y, Gürsoy Y.Z (1999). Klon Seleksiyonuyla Elde Edilen Elit Asma Materyalinin Meristem Kültürü Yoluyla Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı, TAGEM, Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Tekirdağ.
- Mayer G, Roman H (1991). Investigations Into The Regeneration Ability Of Different Vine Cultivars In *In Vitro* Cultures. Mitteilungen Klosterneuberg, Rebe Und Wein, Obstbau Und Fruechteverwertung. 41. s: 143-145.
- Murashige T, Skoog F (1962). Revised Medium For Rapid Growth And Bio Assays With Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant. 15. s: 473-497.
- Perez-Tornero O, Lopez J.M, Burgos L (2006). Influence Of Explant Type (Meristem Vs. Axillary Shoots) On The Introduction And Establishment *In Vitro* Of Four Apricot Cultivars. XIII. International Symposium On Apricot Breeding And Culture.
- Rouhelakis-Angelakis K.A, Katsirdakis K.C (1990). *In Vitro* Micromultiplication Of Grapevine. Effect Of Age, Genotype And Culture Conditions On Induction Of Callus *Vitis Spp.* Leaf Segments. Plant Aging: Basic And Applied Approaches. S: 89-95. Plenum Pres, New York.
- Smerea S, Andronic L, Grigonov T, Bujoreanu V (2010). *In Vitro* Regenerative Genotypic Specificity Of Meristems From Virus Infected Grapevine Cultivars. Romanian Biotechnological Letters. 15 (2). S: 19-25.
- Shatnawi M, Anfoka G, Shibli R, Al-Mazra'awi M, Shahrour W, Arebiat A (2009). Clonal Propagation And Cryogenic Storage Of Virus-Free Grapevine (*V.vinifera L.*) Via Meristem Culture. Turk J. Agric. For 34 (2010). Tübitak.
- Sherwood J.L (1993). Applied aspects of plant regeneration. In: Sixon DA and Gonzales RA (eds), Plant Cell Culture-A Pratical Approach, pp.135-138. New York.
- Sobolev A.A, Doroshenko N.P (2004). Light Biotecnology In Isolated Vine Tissue Cultures. Vinodelje Vinogradarsrvo. (6). S:27-29.
- Sudarsono R, Goldy R.G (1991). Growth Regulator And Axillary Bud Pozition Effects On *In Vitro* Establishment Of *Vitis rotundifolia*. Hortscience, 26(3). S:304- 307.
- Tangolar S, Büyüктаş N.F, Gök S, Ergenoğlu F (1999). Fenolik Bileşiklerin Asma Sürgün Uçlarında Vejetasyon Dönemindeki Dağılımı Ve Sürgün Ucu Kültüründeki Etkisi. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. S:383-388.
- Thomas P (2001). Leaf Number And Position Effects On The Survival And Performance Of Grape Microcuttings *In Vitro*, And The Sensitivity Of The Cut Nodal Region To The Medium. Plant Cell Tissue And Organ Culture. 65. s: 129-139.
- Uzun H.İ, Sarıkaya İ (1994). Bağcılıkta Biyoteknoloji Alanındaki Son Gelişmeler. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7. s:53-72. Antalya.
- Yae B.W, Shin Y.U, Kang D.S, Lee D.K, Choo K.S, Moon J.Y, Hwang J.S (1990). Factors Affecting Lateral Shoot Proliferation In Grapevine Cv. Rhizamat *In Vitro*. Research Reports Of The Rural Development Administration Horticulture. 32(3). S:34-41.

- Yurtsever N (1984). Deneysel İstatistik Metotlar. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları. Ankara.
- Yüksel B (2007). Avrupa Birliği'nde Asma Ve Meyve Sertifikasyon Sistemi. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve Avrupa Birliği Koordinasyon Dairesi Başkanlığı. AB Uzmanlık Tezi. Ankara.

## TEŞEKKÜR

Araştırmam boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarımı titizlikle takip eden Danışman Hocam Prof. Dr. Salih ÇELİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda teknik bilgisine danıştığım Dr. Cengiz ÖZER ve Ziraat Yüksek Mühendisi Ayça KARAUZ'a, tecrübesiyle bilgilerini benden eksik etmeyen oda arkadaşım Dr. Levent TAŞERİ'ye, istatistiki konularda yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Ziraat Yüksek Mühendisi Mehmet Ali KİRACI'ya ve Ziraat Yüksek Mühendisi Rasim ÜNAN'a, konu seçiminde bana destek veren ve çalışmalarımı Kurum içerisinde yapmama imkan tanıyan Müdürüm Dr. Yılmaz BOZ'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatıma varlıklarıyla değer katan sevgili eşim Selma ERGÖNÜL ve biricik kızım İlke ERGÖNÜL'e en içten sevgilerimle.

Onur ERGÖNÜL

Tekirdağ, Aralık 2011

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Uzunköprü’de doğdu. İlköğretimini Edirne’nin değişik ilçelerinde tamamladıktan sonra Aydın Söke Ziraat Teknik Lisesi’nden de 1998 yılında Ziraat Teknisyeni unvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünü kazandı. 2000 yılında Üniversite eğitimine devam ederken TKB tarafından Balıkesir İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğüne Ziraat Teknisyeni olarak atandı. 2003 yılında üniversiteyi bitirip Ziraat Mühendisi unvanını aldı. Aynı yıl Bayburt Tarım İl Müdürlüğüne atandı. Bayburt Tarım İl Müdürlüğünde, ÇKS İl Sorumlusu ve Proje İstatistik Şube Müdür Vekilliği görevlerinde bulundu. Bu süre içerisinde, bir dönem Ziraat Mühendisleri Odası İl Temsilciliği görevini yürüttü. 2009 yılında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne tayin oldu. Halen bu kurumda Doku Kültürü çalışmalarında araştırmacı olarak çalışmaktadır. Evli ve bir kız çocuğu babasıdır.