



## Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<http://dergipark.gov.tr/yyufbed>



Araştırma Makalesi

### Erciş Üzüm Çeşidinin In Vitro Rejenerasyon Potansiyelinin Belirlenmesi\*

Kinem ARSLAN<sup>1</sup>, Adnan DOĞAN\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 65080, Van, Türkiye

Kinem ARSLAN ORCID No: 0000-0002-9440-1344, Adnan DOĞAN ORCID No: 0000-0002-8623-0629

\*Sorumlu yazar e-posta: adnandogan@hotmail.com

#### Makale Bilgileri

Geliş: 30.08.2020  
Kabul: 02.10.2020  
Online Yayınlanma Aralık 2020

#### Anahtar Kelimeler

Asma,  
Erciş üzüm çeşidi,  
In vitro rejenerasyon,  
Kallus

**Öz:** Bu çalışmada, bitkisel materyal olarak ülkemizin zengin asma gen potansiyeli içerisinde Van ilinin ekolojisi ile özdeşleşmiş yerel bir üzüm çeşidi olan Erciş çeşidinin in vitro rejenerasyon potansiyeli belirlenmiştir. In vitro bitkiciklerden elde edilen yaprak ayası eksplantları, 0, 0.05 ve 0.1 5 mg L<sup>-1</sup> NAA (Naftalen asetik asit) ve 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 ve 5 mg L<sup>-1</sup> BAP (6-benzilaminopürin) ile içeren NN ve MS ortamlarında 15 gün karanlık 15 gün ise aydınlık koşullarda kültüre alınmıştır. Araştırma sonucunda kültür ortamlarının içermiş olduğu bitki büyüme düzenleyici maddelerin farklı konsantrasyonları ve kombinasyonlarının rejenerasyon oranı (%), kallus oluşturan eksplant sayısı (adet), kallus kalitesi (%) ve kallus oluşturma oranı (%) üzerine farklı etki yaptığı belirlenmiştir. Rejenerasyon oranı (%), kallus oluşturan eksplant sayısı (adet) ve kallus oluşturma oranı (%) bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenirken, kallus kalitesi (%) bakımından NN ortamının MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen tüm özellikler bakımından en iyi sonuç her iki ortama da ilave edilen 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir.

### Determination of In Vitro Regeneration Potential of Erciş Grape Variety

#### Article Info

Received: 30.08.2020  
Accepted: 02.10.2020  
Online Published December 2020

#### Keywords

Erciş grape variety,  
In vitro regeneration,  
Callus

**Abstract:** In this study, the in vitro regeneration potential of Erciş, a local grape variety identified in the ecology of Van province within the rich gene potential of our country, was determined. Foliar explants obtained from in vitro plants were treated with N, N-dimethylaminopyridine (NA) containing 0, 0.05 and 0.1 5 mg L<sup>-1</sup> NAA (Naphthalene acetic acid) and 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 and 5 mg L<sup>-1</sup> BAP and MS for 15 days in darkness and 15 days in bright conditions. As a result of the research, it was determined that different concentrations and combinations of plant growth regulators in culture media had different effects on regenerated explant ratio (%), number of callus explants (number), callus quality (%) and callus formation rate (%). It was observed that the MS medium gave better results than the NN medium in terms of the ratio of the regenerated explants (%), number of explants forming the callus (number) and callus formation rate (%), whereas NN medium was better than MS medium in terms of callus quality (%). As a result of the study, the best results were obtained from the concentrations of 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP added to both culture medium.

\* Çalışma birinci yazarın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

## 1. Giriş

Türkiye, bağ alanı ve üzüm üretimi yönüyle dünyanın bağcılık açısından söz sahibi ülkelerinden biridir. Ülkemiz, Asma (*Vitis vinifera* L.)'nin anavatanı olmasının yanı sıra bağcılık kültürünün de ilk başladığı yer olması nedeniyle oldukça zengin bir asma gen potansiyeline sahiptir. Ne yazık ki ülkemizde dış pazara ihraç edilecek üzüm çeşidi sayısı oldukça sınırlıdır. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda Türkiye'nin üzüm ihracatı açısından arzulanan seviyede gelir sağlayamamaktadır.

Bağcılıkta pazar değeri ve randımanı yüksek gerek sofralık gerekse şaraplık üzüm çeşitlerin elde edilmesi ıslah çalışmaları neticesinde sağlanabilir. Asma ıslahı çalışmaları, dünyada olduğu gibi ülkemizde de bağcılığın öncelikli konuları arasındadır (İşçi & Altındışli, 2016).

Son yıllarda asma ıslahı çalışmalarında öncelikli konular ise; tane kalite kriterlerinin arttırılması, çekirdeksizlik, abiyotik ve biyotik koşullara dayanıklılığın arttırılması, erkenci/geçci çeşitlerin elde edilmesidir. Bitkisel üretimin ve ürünlerdeki kalitenin arttırılması açısından, ıslah çalışmaları büyük önem kazanmıştır. Kombinasyon ıslahı, melezleme çalışmaları ile başlayan, çok uzun süreç olup arzu edilen çeşitlerin elde edilmesi için geniş popülasyonlar içerisinden seçim gerektirmekte, fazla işgücü istemekte ve etkinliği düşük olmaktadır. Asma gibi çok yıllık bitkilerdeki heterozigotik yapı ise ıslah çalışmalarında amaca uygun hibritlere ulaşmayı zorlaştıran bir diğer faktördür (Keskin & Kunter, 2008). Günümüzde biyoteknoloji alanında yaşanan gelişmeler özellikle ıslah süreçlerinin kısaltılmasında ve erken seleksiyona olanak sunması ile ön plana çıkmaktadır (Keskin & Kunter, 2008).

Doku kültürü, biyoteknolojik metotlar içinde önemli bir yere sahiptir. Aseptik şartlarda, yapay besi ortamı içinde bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünler üretilmesine doku kültürü denilmektedir. Bitki doku kültürlerinde ve genetik iyileştirmelerde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur. In vitro bitki rejenerasyon yöntemlerinin amacı, kallusta meristematik bölgelerin ve meristematik sürgünlerin oluşumu arttırmaktır (Çatal & Bakoğlu, 2018).

Asmada in vitro rejenerasyon kaynağı olarak değişik eksplantlar kullanılmaktadır. Bunlar anter (Lopez-Perez ve ark., 2005; Cutanda ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2009), olgunlaşmamış ovül (Xu ve ark., 2005), olgunlaşmamış çiçek (Lopez-Perez ve ark., 2005; Cutanda ve ark., 2008; Acanda ve ark., 2013), yumurtalık (Lopez-Perez ve ark., 2005), yaprak (Keskin & Kunter, 2007; Keskin & Kunter, 2008), yaprak sapı (Tassoni ve ark., 2005), boğum ve gövde parçaları (Jaskani ve ark., 2008; Chao ve ark., 2015; Bilir Ekbiç ve ark., 2015), sülük (Babalık, 2006) şeklinindedir. Ancak başarı değişkenlik arzelmekte olup çalışmalarda mutlaka kullanılabilir nitelikte bir rejenerasyon sisteminin oluşturulması sağlanmalıdır.

Son yıllarda, moleküler ve hücre tekniklerinin kullanıldığı ıslah metotlarının geliştirilmesi ile kullanılabilirliği artmıştır. Bu yeni ıslah metotları, sadece yeni bir çeşidin geliştirilmesine olanak sağlamamakta; ayrıca, bir çeşidin temel niteliklerini bozmadan istenilen spesifik bir karakterin kazandırılmasına ilişkin modifikasyonlara da imkan sağlamaktadır (Babalık, 2006).

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

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Bu çalışmanın bitkisel materyalini Erciş yerli üzüm çeşidi oluşturmaktadır. Araştırmada kullanılan Erciş üzüm çeşidine ait bazı önemli özellikler görsel şekil 1'de verilmiştir (Keskin & Kunter, 2007).

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



Şekil 1. Erciş üzümü.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Eksplantların elde edilmesi

Erciş üzüm çeşidine ait yaprak ayalarının in vitro rejenerasyon kapasitelerini belirlemek amacıyla, öncelikle eksplantların alınacağı in vitro sürgünlerin elde edilmesine yönelik olarak Erciş üzüm çeşidinden budama dönemi içerisinde temin edilen çelikler 25 °C de 8/16 saat fotoperiyotta sürdürülmüştür (Yıldırım ve ark., 2016).



Şekil 2. Bir yaşlı dalların sürdürülmesi, In vitro bitkicikler ve yaprak parçacıkları.

### 2.2.2. In vitro bitkiciklerin eldesi

In vitro bitkiciklerin eldesinde Keskin (2018) tarafından uygulanmış olan metot kullanılarak in vitro bitkicikler elde edilmiştir (Şekil 2).

### 2.2.3. Rejenerasyon

Rejenerasyon denemelerinde 4 aylık alt kültür uygulamaları sonucunda yeterli bitki sayısına ulaşıldığında, in vitro ortamında gelişen bitkiciklerden yaprak parçacıkları alınarak in vitro ortamda rejenerasyona teşvik edilmişlerdir. Eksplantlar literatür kapsamında belirlenmiş 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mg L<sup>-1</sup> BAP ile 0, 0.05 ve 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA içeren MS ve NN (Çizelge 1) ortamlarında kültüre alınmıştır (Çizelge 2). Hazır ticari besin ortamlarından NN litreye 2.18 g, MS ise 4.4 g tartılarak ilave edilmiştir. NN ortamına 20 g L<sup>-1</sup>, MS ortamına ise 30 g L<sup>-1</sup> sakkoroz eklenmiştir. Her iki ortamın da pH'sı 5.7'ye ayarlanmış, 7 g L<sup>-1</sup> agar eklenerek otoklavda 121 °C'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Eksplantlar 10 tekerrürlü her kültür kabına on yaprak ayası kültüre konulmuştur. Kültürler 25 °C'de 15 gün karanlık ortamda tutulduktan sonra 8/16 fotoperiyot ve 25 °C'de 30 gün inkübe edilmiştir (Keskin, 2018; Yıldırım & Ozdemir, 2018).

Çizelge 1. MS temel besin ortamının bileşimi

MS bileşimi		NN bileşimi	
A.Makro elementler	(mg L <sup>-1</sup> )	A.Makro elementler	(mg L <sup>-1</sup> )
-NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	-KNO <sub>3</sub>	950
-KNO <sub>3</sub>	1900	-NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	720
-CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	440	-MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	185
-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	-CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	166
-MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370	-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	68
-NaFeEDTA	36.7	B.Mikro elementler	(mg L <sup>-1</sup> )
B.Mikro elementler	(mg L <sup>-1</sup> )	-MnSO <sub>4</sub>	25
-MnSO <sub>4</sub>	16.0	-ZnSO <sub>4</sub>	10
-ZnSO <sub>4</sub>	8.6	-Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub>	0.25
-H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	-H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	10
-KI	0.830	-CuSO <sub>4</sub>	0.025
-Na <sub>2</sub> Mo <sub>4</sub>	0.250	C.Demirli bileşik	(g L <sup>-1</sup> )
-CuSO <sub>4</sub>	0.025	-FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.557
-CoCl <sub>2</sub>	0.025	-Disodyumetilendiaminotetraasetat	7.450
1)Vitamin ve amino asitler	(mg L <sup>-1</sup> )	1)Vitamin ve amino asitler	(mg L <sup>-1</sup> )
-Myo-inositol	100	-Myo-inositol	100
-Thiamin HCL	0.1	-Glycine	2
-Pyridoxin HCL	0.5	-Nicotinic acid	5
-Nicotinic acid	0.5	-Pyridoxin HCL	0.5
-Glycine	2.0	-Thiamin HCL	0.5
		-Folic asit	0.5
		-Biotin	0.05

Çizelge 2. Eksplantların dikildiği besin ortamları

Ortamlar	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	NAA (mg L <sup>-1</sup> )	Agar (g L <sup>-1</sup> )	Sakkaroz (g L <sup>-1</sup> )
MS 1	0.5	0	7	30
MS 2	1.0	0	7	30
MS 3	1.5	0	7	30
MS 4	2.0	0	7	30
MS 5	2.5	0	7	30
MS 6	0.5	0.05	7	30
MS 7	1.0	0.05	7	30
MS 8	1.5	0.05	7	30
MS 9	2.0	0.05	7	30
MS 10	2.5	0.05	7	30
MS 11	0.5	0.1	7	30
MS 12	1.0	0.1	7	30
MS 13	1.5	0.1	7	30
MS 14	2.0	0.1	7	30
MS 15	2.5	0.1	7	30
NN 1	0.5	0	7	20
NN 2	1.0	0	7	20
NN 3	1.5	0	7	20
NN 4	2.0	0	7	20
NN 5	2.5	0	7	20
NN 6	0.5	0.05	7	20
NN 7	1.0	0.05	7	20
NN 8	1.5	0.05	7	20
NN 9	2.0	0.05	7	20
NN 10	2.5	0.05	7	20
NN 11	0.5	0.1	7	20
NN 12	1.0	0.1	7	20
NN 13	1.5	0.1	7	20
NN 14	2.0	0.1	7	20
NN 15	2.5	0.1	7	20

#### 2.2.4. İncelenen özellikler

Kültürlerde dikimden sonraki dördüncü haftanın sonunda aşağıdaki özellikler incelenmiştir.

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

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

Kallus kalitesi (%):

1. Tip Kallus: Beyaz, sarı renkli, sert kırılğan yapıda sağlıklı görünümdeki kalluslar.
2. Tip Kallus: Sarımsı/kahve veya kahverenginin tonları, yumuşak, hemen dağılabilen veya beyaz pamuksu sağlıksız yapıdaki kalluslar.



Şekil 3. Kallusların kalite özellikleri a) I tip kallus b) II. Tip kallus. (Kekin & Kunter, 2010)

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

Farklı kallus dereceleri

- 1: Hiç kallus yok, 2: Eksplantın belirli yerlerinde kallus var, 3: Eksplantın tamamında kallus var

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

### 3. Bulgular ve Tartışma

Erciş üzüm çeşidinin rejenerasyon potansiyelini belirlemek amacıyla iki farklı büyüme düzenleyici madde (NAA, BAP) ilave edilmiş iki farklı ortamda (NN ve MS) kültüre alınan yaprak ayası eksplantlarının dikimden sonraki ondört gün içinde hacimlerinin arttığı gözlenmiştir. Dikimi takip eden 18. günden itibaren kalluslar, indirekt (İ) adventif kök oluşumu gösterirken, bir kısmının herhangi bir gelişme göstermeden aynı kaldığı (Şekil 4) ya da kahverengileşerek canlılıklarını kaybettikleri görülmüştür. Değerlendirmeler yaşayan eksplantlar üzerinden yapılmıştır. NAA ilave edilmeyip sadece BAP'ın değişik konsantrasyonlarının ilave edildiği her iki ortamda da kallus, rejenerasyon ve adventif kök oluşumu meydana gelmemiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Herhangi bir gelişme göstermeyen yaprak eksplantları ve adventif kök oluşumu şeklinde rejenere olan kalluslar.

Rejenere eksplant oranı (%): Çizelge 3 incelendiğinde her iki ortam için de en yüksek rejenerasyon oranının (NN ortamında % 31.25; MS ortamında % 58.82) 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP konsantrasyonundan elde edildiği görülmektedir. Rejenerasyon sadece adventif kök oluşumu şeklinde gerçekleşmiş (Şekil 4), adventif sürgün elde edilemediğinden bitkiye dönüşüm elde edilememiştir. Bu durumun genotip etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre rejenere eksplant oranı (%) bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği söylenebilir.

Kallus oluşturan eksplant sayısı (adet): Her iki ortamda da en yüksek kallus oluşturan eksplant sayısı (NN ortamında 80; MS ortamında 85) 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir (Çizelge 3). Bu özellik bakımından MS ortamının NN ortamına göre daha iyi sonuç verdiği görülmektedir.

Çizelge 3. Erciş üzüm çeşidinin rejenere eksplant oranı.

Ortamlar	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	NAA (mg L <sup>-1</sup> )	Yaşayan eksplant sayısı	Rejenere eksplant oranı (%)	Kallus oluşturan eksplant sayısı (n)
NN 1	0.5	0	74	0	0
NN 2	1.0	0	78	0	0
NN 3	1.5	0	77	0	0
NN 4	2.0	0	82	0	0
NN 5	2.5	0	78	0	0
Max			82	0	0
Min			74	0	0
NN 6	0.5	0.05	80	27.63	76
NN 7	1.0	0.05	83	14.29	70
NN 8	1.5	0.05	79	24.19	62
NN 9	2.0	0.05	83	18.46	65
NN 10	2.5	0.05	75	28.57	63
Max			83	28.57	76
Min			75	14.29	62
NN 11	0.5	0.1	81	20.59	68
NN 12	1.0	0.1	85	31.25	80
NN 13	1.5	0.1	80	29.85	67
NN 14	2.0	0.1	72	24.59	61
NN 15	2.5	0.1	81	20.59	65
Max			92	31.25	80
Min			85	20.59	61
MS 1	0.5	0	82	0	0
MS 2	1.0	0	88	0	0
MS 3	1.5	0	90	0	0
MS 4	2.0	0	87	0	0
MS 5	2.5	0	90	0	0
Max			90	0	0
Min			82	0	0
MS 6	0.5	0.05	88	46.67	75
MS 7	1.0	0.05	91	43.04	79
MS 8	1.5	0.05	90	48.78	82
MS 9	2.0	0.05	87	56.41	78
MS 10	2.5	0.05	88	51.32	76
Max			91	56.41	82
Min			88	43.04	75
MS 11	0.5	0.1	85	51.95	77
MS 12	1.0	0.1	92	58.82	85
MS 13	1.5	0.1	86	50.67	75
MS 14	2.0	0.1	88	50.00	70
MS 15	2.5	0.1	91	48.75	80
Max			92	58.82	85
Min			85	48.75	70

Kallus oluşturan explant sayısı açısından ortam ve NAA dozları arasında istatistiki farklılık oluşmuştur. NN ortamı ortamlar içinde öne çıkarken, NAA dozları açısından 0.05 ile 0.1 (mg L<sup>-1</sup>) aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4).

Kallus kalitesi (%): Benzer şekilde her iki ortamda da kallus kalitesi bakımından en iyi konsantrasyon 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP olarak saptanmıştır. NN ortamında I. Tip kallus oluşumu en yüksek % 60 oranında meydana gelirken; MS ortamında %52.94 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). Kallus kalitesi (%) bakımından NN ortamının MS ortamına göre daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır.

Çizelge 4. Erciş üzüm çeşidinin ortamlara göre kallus kaliteleri (%) ve kallus oluşturma oranları (%)

Ortamlar	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	NAA (mg L <sup>-1</sup> )	Kallus Kalitesi (%)		Kallus Oluşturma Oranı (%)		
			I.	II.	I.	II.	III.
NN 1	0.5	0	0	100	0	0	0
NN 2	1.0	0	0	100	0	0	0
NN 3	1.5	0	0	100	0	0	0
NN 4	2.0	0	0	100	0	0	0
NN 5	2.5	0	0	100	0	0	0
NN 6	0.5	0.05	53.95	5.00	13.16	86.84	46.05
NN 7	1.0	0.05	55.71	15.66	7.14	92.86	44.29
NN 8	1.5	0.05	56.45	21.52	11.29	88.71	43.55
NN 9	2.0	0.05	52.31	21.69	9.23	90.77	47.69
NN 10	2.5	0.05	57.14	16.00	6.35	93.65	42.86
NN 11	0.5	0.1	51.47	16.05	5.88	94.12	48.53
<b>NN 12</b>	<b>1.0</b>	<b>0.1</b>	<b>60.00</b>	5.88	3.75	<b>96.25</b>	40.00
NN 13	1.5	0.1	43.28	16.25	10.45	89.55	56.72
NN 14	2.0	0.1	40.98	15.28	8.20	91.80	59.02
NN 15	2.5	0.1	40.00	12.50	8.57	91.43	60.00
MS 1	0.5	0	0	0	100	0	0
MS 2	1.0	0	0	0	100	0	0
MS 3	1.5	0	0	0	100	0	0
MS 4	2.0	0	0	0	100	0	0
MS 5	2.5	0	0	0	100	0	0
MS 6	0.5	0.05	40.00	14.77	8.00	92.00	60.00
MS 7	1.0	0.05	44.30	13.19	11.39	88.61	55.70
MS 8	1.5	0.05	43.90	8.89	4.88	95.12	56.10
MS 9	2.0	0.05	44.87	10.34	7.69	92.31	55.13
MS 10	2.5	0.05	39.47	13.64	7.89	92.11	60.53
MS 11	0.5	0.1	42.86	9.41	7.79	92.21	57.14
<b>MS 12</b>	<b>1.0</b>	<b>0.1</b>	<b>52.94</b>	7.61	1.18	<b>98.82</b>	47.06
MS 13	1.5	0.1	42.67	12.79	9.33	90.67	57.33
MS 14	2.0	0.1	42.86	20.45	14.29	85.71	57.14
MS 15	2.5	0.1	43.75	12.09	12.50	87.50	56.25

Kallus oluşturma oranı bakımından ortamlar açısından farklılık bulunmamıştır. NAA dozları açısından 0.05 ile 0.1 (mg L<sup>-1</sup>) birbirine yakın değerler vermişlerdir. BAP konsantrasyonları arasında da farklılığın olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4).

Çalışmada ilginç bir bulgu NAA ilave edilmeyip sadece BAP'ın değişik konsantrasyonlarının ilave edildiği her iki ortamda da rejenerasyon ya da kallus oluşumunun meydana gelmemesidir. Buna neden olarak kallus oluşumunun teşviki için oksin miktarının sitokinin miktarından fazla olması ile kallus oluşumunun sürekliliği ve gelişimi için belli bir oksin-sitokinin dengesinin sağlanmasının gerekliliği gösterilebilir. Oksin-sitokinin oranı kalluslenme ve kök oluşumu üzerine farklı etkiler gösterebilmektedir.

Asmada in vitro rejenerasyon, moleküler ıslah çalışmalarında neredeyse vazgeçilmez bir yöntemdir. Çeşitten çeşide değişiklik gösterdiği için Asmada kullanılabilir doku kültürü rejenerasyon protokolü bulunmakta, kullanılan protokollerde ise uygulanmasındaki kolaylık nedeniyle yaprak eksplantları öne çıkan eksplant kaynağı olarak bildirilmektedir (Özden ve ark. 2008; Keskin & Kunter,

2010). Asmada in vitro rejenerasyon başarısı genel olarak genotip, eksplant kaynağı, kültür koşulları ve kültür ortamlarına ilave edilen büyümeyi düzenleyici madde (oksin/sitokinin) konsantrasyonlarının etkileşimine bağlıdır (Özden ve ark., 2008). Araştırma sürecinde alınan bulgulara göre kültür ortamlarının bünyesinde bulunan bitki büyüme düzenleyicileri (BA ve NAA) değişik konsantrasyonları ve kombinasyonunun rejenere eksplant oranı (%), kallus oluşturan eksplant miktarı (adet), kallus kalitesi (%) ve kallus oluşturma oranı (%) üzerine farklı etki yaptığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen tüm özellikler bakımından en iyi sonuç her iki ortama da ilave edilen  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  NAA +  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP konsantrasyonundan elde edilmiştir. Benzer şekilde Özden ve ark., (2008), Öküzgözü ve Boğazkere üzüm çeşitlerinde yapmış oldukları rejenerasyon protokolü çalışmasında NAA ve BAP'ın farklı kombinasyonlarını içeren NN besin ortamında dikmiş oldukları yaprak eksplantlarından her iki çeşit için de en yüksek kallus oluşumu (%), kallus oranı (%), ortalama adventif sürgün sayısı (adet/eksplant)'nı  $0.5 \text{ mg/l}$  BA ve  $0.05 \text{ mg/l}$  NAA içeren kültür ortamlarından elde etmiştir.

Kültür ortamı ve içeriği, büyüme düzenleyicileri, eksplant kaynakları ve ortam faktörleri doku kültürü çalışmalarında başarıyı etkileyen önemli faktörlerdir. Yapılan çalışmalarda konsantrasyonları düşük BAP kullanıldığında eksplantların büyük kısmında adventif yapılar oluşmamaktadır. Yüksek dozda (2-3 mg/l) BA kullanımının adventif yapıları teşvik ettiği rapor edilmektedir (Özden ve ark., 2008). Çalışmada her iki ortama da ilave edilen düşük konsantrasyonlu NAA ve BAP konsantrasyonlarından kallus elde edilmiş, sonrasında bu kalluslardan ise indirekt adventif kökler meydana gelmiştir. Benzer şekilde Özden ve ark. (2008), yapmış oldukları çalışmalarında NN ortamına değişik konsantrasyonlarda NAA ve BAP ilave etmiş oldukları eksplantlar üzerinde yoğun kallus oluşumu gözlediklerini belirtmişlerdir.

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

#### 4. Sonuç ve Öneriler

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

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

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

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



Erciş üzüm çeşidinin in vitro rejenerasyon potansiyeli üzerine günümüze kadar çok az çalışma yapılmıştır (Keskin & Kunter, 2007; Keskin & Kunter, 2010). Yapılan bu çalışmanın gelecekte yapılacak in vitro rejenerasyon çalışmalarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2017-5948 nolu proje olarak desteklenmiştir. Çalışmanın yürütülmesinde desteklerinden dolayı BAP birimine ve çalışma boyunca emek harcayan Doç. Dr. Nurhan KESKİN'e katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Acanda, Y., M. J., Prado, M. V., González, & M., Rey, (2013). Somatic embryogenesis from stamen filaments in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Mencía): changes in ploidy level and nuclear DNA content. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 49:276-284.
- Aykanat, A. (2016). *Asma ağlama suyunun in vitro besin ortamı olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi*. (yüksek lisans tezi), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Babalık, Z. (2006). *Asmada farklı eksplantların in vitro rejenerasyonları üzerine bir araştırma*, (yüksek lisans tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, Türkiye.
- Bilir Ekbiç, H., Yılmaz, G. Ş., Çiğirli S. (2015). Isabella (*Vitis labrusca* L.) üzüm çeşidinin in vitro sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. *Akademik Ziraat Dergisi*. 4(2):65-70.
- Büyükdemirci, H. (1997). *In vitro Direct shoot organogenesis and plant regeneration from leaves and axillary buds of grapevine (Vitis spp.)*. (MSc Thesis), Faculte of the Graduate College at the University of Nebraska, United States of America
- Chao, Y., Feng, J. C., Yan, W., Xiao, Y. A. N. G., Jun, Y. Y., & Jun, J. (2015). Effects of exogenous growth regulators on cell suspension culture of "Yinhong" grape (*Vitis vinifera* L.) and establishment of the optimum medium. *Pakistan Journal of Botany*, 47:77-81. [doi: 10.1016/j.carbon.2014.10.034](https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.10.034) 0008-6223.
- Cutanda, M. C., Bouquet, A., Chatelet, P., Lopez, G., Botella, O., Montero F. J., & Torregrosa, L. (2008). Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Vitis vinifera* cultivars 'Macabeo' and 'Tempranillo'. *Vitis*, 47:159-162.
- Çatal, M. İ., & Bakoğlu, A. (2018). In vitro regeneration techniques in the grass pea (*Lathyrus sativus* L.) plant. *Eurasian Journal of Forest Science*, 6(2):56-62. [doi.org/10.31195/ejejfs.424313](https://doi.org/10.31195/ejejfs.424313)
- Gök Tangolar, S. (2002). *Asmalarda somatik embriyogenesis ve organogenesis yoluyla bitki elde edilmesi*. (doktora tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 165 s., Adana, Türkiye.
- İşçi, B., & Altındışli, A. (2016). *Türkiye'de Bağcılık Islah Çalışmaları ve Hedefleri*. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri. Bahçe Özel Sayı (2):632-635.
- 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. *Pakistan Journal of Botany*, 40:105-109.
- Keskin, N., & Kunter, B., (2007). Induction of resveratrol via UV irradiation effect in Ercis callus culture. *Journal of Agricultural Science*, 13:379-384.
- Keskin, N., & Kunter, B. (2008). Production of transresveratrol in 'Cabernet Sauvignon' (*Vitis vinifera* L.) callus culture in response to ultraviolet-C irradiation. *Vitis*, 47:193-196.
- Keskin, N., & Kunter, B. (2010). Asmada (*Vitis vinifera* l.) in vitro I. tip kallus eldesi üzerine çeşit, besin ortamı ve eksplant tipinin etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 20: 100-106.
- Keskin, N., (2018). *Ultraviyole ışını etkisi ile Erciş üzüm çeşidinin kallus kültürlerinde antosiyanin üretiminin uyarılması*. V. Uluslararası Multidisipliner Çalışmaları Kongresi, Antalya, Türkiye, 2 - 03 Kasım 2018, ss.350-363
- López-Pérez, A. J., Carreño, J., Martínez-Cutillas A., & Dabauza, M. (2005). High embryogenic ability and plant regeneration of table grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) induced by activated charcoal. *Vitis*, 44:79-85.

- Özden, M., Demirer, U., & Gürsöz, S. (2008). Öküzgözü ve Boğazkere (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşitlerinin yaprak eksplantlarından organogenesis yoluyla bitki rejenerasyonu. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12:41-49.
- Tassoni, A., Fornalè, S., Franceschetti, M., Musiani, F., Michael, A. J., Perry B., & Bagni, N. (2005). Jasmonates and Na-orthovanadate promote resveratrol production in *Vitis vinifera* cv. Barbera cell cultures. *New Phytologist*, 166:895-905.
- Xu, X., Lu, J., Ren, Z., Wang H., & Leong, S. (2005). Callus induction and somatic embryogenesis in muscadine and seedless bunch grapes (*Vitis*) from immature ovule culture. *International Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 118:260-262.
- Yıldırım, H., Özdemir, G., & Çalar, N., (2016). 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.
- Yıldırım, H., & Ozdemir, G. (2018). Influence of BAP concentrations and nutrient medium composition on in vitro regeneration of “Öküzgözü” and “Boğazkere” (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Erwerbs-Obstbau*, 60 (Suppl1):55-59. [doi.org/10.1007/s10341-018-0393-7](https://doi.org/10.1007/s10341-018-0393-7)
- Zhang, J., Ma, H., Chen, S., Ji, M., Perl, A., Kovacs L., & Chen, S.2009. Stress response proteins' differential expression in embryogenic and non-embryogenic callus of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon-a proteomic approach. *Plant Science*, 177:103-113.