YYÜ TAR BİL DERG
(YYU J AGR SCI)
2018, 28(1): 86-91

Geliş tarihi (Received): 04.12.2017
Kabul tarihi (Accepted): 23.03.2018
doi: 10.29133/yyutbd.360907

Araştırma Makalesi/*Research Article (Original Paper)*

Kokulu Kara Üzümün (V*itis labrusca* L.) Mikro Çelik Kültürü ile Mikro Çoğaltımı

Hatice BİLİR EKBİÇ[1*] Gül YILMAZ[2]

[1] Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ordu, Türkiye
[2] Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Bitkisel Üretim Müdürlüğü, Ankara, Türkiye
*e-posta: haticebilirekbic@gmail.com

Özet: Bu çalışma 2015-2016 vejetasyon döneminde Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yer alan doku kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bitkisel materyal olarak, Balıkçı Siyahı üzüm tipinin (*Vitis labrusca* L.) aktif büyüme dönemindeki sürgünlerinden alınan tek boğum içeren 2-4 cm uzunluğundaki mikro çelikleri kullanılmıştır. Mikro çelikler yüzey sterilizasyonları yapıldıktan sonra sürgün oluşturması amacıyla Benzil Adenin' in 0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l dozları ve 30 mg/l sukroz bulunduran MS (Murashige and Skoog 1962) besin ortamı içinde kültüre alınmıştır. Değişik dozlarda BA içeren ortamda kültüre alınan mikro çeliklerden süren sürgünler köklendirme aşamasında beş farklı IBA dozunu (0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l) içeren MS besin ortamına transfer edilmiştir. Deneme kapsamında uygulamaların karşılaştırılması amacıyla sürgünlerde sürgün oluşturan eksplant oranı (%), sürme süresi (gün), boğum ve yaprak sayısı (n), uzunluğu (cm) ile yaş ve kuru ağırlık (g) incelemeleri ile köklerde; köklenme süresi (gün), köklü eksplant oranı (%), kök sayısı (n) ve Uzunluğu (cm) incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre Balıkçı Siyahı tipinin tek boğumlu mikro çeliklerinin sürgün gelişimi açısından en uygun BA dozunun 1 mg/l olduğu ve 4 mg/l BA dozunda hiperhidrasyonun meydana geldiği belirlenmiştir. Sürgünlerin köklenmesi açısından ise en uygun IBA dozunun ise 2 mg/l olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Balıkçı Siyahı, Boğum kültürü, *V. labrusca* L.

Micropropagation of Fox Grape Type (*Vitis Labrusca* L.) by Node Culture

Abstract: This study was carried out in tissue culture laboratory of Ordu University Faculty of Agriculture Department of Horticulture in 2015-2016's vegetation period. As a material, 2-4 cm long micro-cutting containing a single node from shoots of the active growth period of Balikci Siyahi grape type in *V. labrusca* L. were used. Microcuttings were cultured after surface sterilization was performed in MS nutrient medium (Murashige and Skoog 1962) with 0, 0.5, 1, 2 and 4 mg l^{-1} BA (Benzyl Adenine) and 30 mg l^{-1} sucrose to form shoots. Cultured microcuttings at medium containing different doses BA, were transferred to MS medium with IBA (0, 0.5, 1, 2 and 4 mg l^{-1}) at the rooting stage. In order to compare the applications, Explant ratio that generate the shoot (%), duration of shooting (days), duration of rooting (days), rooting explant ratio (%), root number plantlets^{-1} (n), root length (cm) n), number of node and leaf (n), shoot length (cm), shoot fresh, shoot dry weight, root fresh and root dry weight (g) were determined. According to the results it was determined that the most suitable BA dose was 1 mg l^{-1} and hyperhydration was occurred in 4 mg l^{-1} BA treatment in single-stranded microcuttings of Balikci Siyahi type. It was determined that the most appropriate IBA dose was 2 mg l^{-1} for rooting of shoots.

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

Giriş

Ülkemiz bağcılık kültürünün oldukça eskiye dayanmasıyla beraber yabani ve kültür formlarının çeşit ve tip potansiyeli bakımından da genetik kaynak zenginliğine sahiptir. Mevcut olan bu genetik potansiyel üzüm ıslahı çalışmalarında değerli birer kaynak olarak kullanılmaktadır. Kültür asması tohum, çelik, daldırma, aşı ve doku kültürü yöntemleriyle çoğaltılabilmektedir. Asmalarda tohumla çoğaltma tekniği daha çok ıslah çalışmalarında kullanılan generatif bir yöntem olup konvensiyonel olarak vegetatif çoğaltma yöntemlerinden olan çelikle çoğaltma yöntemi kullanılmaktadır. Çelikle çoğaltmanın avantajları yanında zaman alıcı bir yöntem olması ve hastalıkların taşınımına izin vermesi gibi bazı olumsuzlukları bulunmaktadır. Çelikle çoğaltılan bir asmanın dikimden itibaren çelik üretimi yapılabilecek duruma gelmesi için uzun süreye ihtiyacının olması ise bu açıdan

büyük problem olarak görülmektedir (Winkler 1974). Doku kültürü ile çoğaltma ise kullanılan bitki türü ve kültürel koşullara bağlı olarak genetiksel olarak homojen popülasyonların oluşturulmasına, güçlü ve verimi normal olan sağlıklı bitkilerin üretimine olanak sağlamaktadır (Murashige 1974; Blazina ve ark. 1991). Klasik yöntemlerden farklı olarak, doku kültürünü steril şartlar altında, yapay bir besin ortamı içerisinde bitkinin, hücre, doku veya organ gibi parçalarını kullanarak yeniden doku, bitki ya da bitkisel olan metabolitlerin üretilmesi şeklinde tanımlamak mümkündür (Babaoğlu 2001).

Doku kültürü ile çoğaltma, daha kısa süreye ihtiyaç duyulması, çoğaltmanın yılın herhangi bir döneminde yapılabilmesi ve böylece hızlı üretimin sağlanması açısından çelikle çoğaltma yöntemine göre daha avantajlı durumdadır. Doku kültürü teknikleri dihaploid bitkilerin üretimi, genetik kaynakların korunması ve ıslah amacıyla kullanılması, somaklonal varyasyon oluşturulması, yeni bitki çeşitlerinin çoğaltılması, kaybolma tehlikesi altında olan bitki türlerinin korunumu, çoğaltılması zor olan bitki türlerinin üretimi, ikincil ürünlerin ve transjenik bitkilerin üretimi gibi amaçlarla kullanılabilmektedir. Ayrıca doku kültürü tekniklerinin moleküler teknikler ile kombine edilmesiyle başarılı bir şekilde gen transferleri gerçekleştirilebilmektedir. Asmalarda klonal üretimin *in vitro* yöntemlerle gerçekleştirilmesi amacıyla meristem, sürgün ucu, yan gözler ve mikro çelikler materyal olarak kullanılmaktadır. Mikro çoğaltmada çok fazla sayıda alt kültüre alma ve bitki büyümeyi düzenleyici maddeler (yüksek dozda sitokinin) somaklonal varyasyona neden olabilmektedir. Bunun yanında özellikle boğum kültüründe yüksek dozda sitokinin kullanılmasından kaynaklı olduğu düşünülen hiperhidrasyon olayının da gerçekleştiği değişik araştırıcılar tarafından bildirilmiştir (Banilas ve Korkas 2007; Mukherje ve ark 2010). Yapılan bu çalışmayla yüksek miktarda yağış alan Karadeniz bölgesinde mantari hastalıklara dayanımı yüksek olan Kokulu Kara üzüm tipinin (Balıkçı Siyahı) *in vitro* koşullarda mikro çoğaltımın sağlanması amacıyla tek boğumlu mikro çelik kültürü gerçekleştirilmiştir. Tek bir boğum içeren yeşil mikro çelikler değişik dozlarda BA (Benzylaminopurine) (0, 0.5, 1, 2, 4 mg/l) ilavesi yapılan MS temel besin ortamında kültüre alınıp tomurcuğun sürmesi teşvik edilmiş ve sonrasında gene aynı ortamdan BA çıkarılıp değişik dozlarda IBA (0, 0.5, 1, 2 ile 4 mg/l) ilave edilip besin ortamında oluşan sürgünlerden köklenme teşvik edilerek bitkicik oluşturulmaya çalışılmıştır.

Bu araştırmayla daha önce *V. vinifera* L. türü içinde yer alan çeşitlerde kullanılan mikro çelik kültürü yöntemi çalışmalarında karşılaşılan hiperhidrasyon probleminin gerçekleşip gerçekleşmeyeceği takip edilmiş ve Kokulu kara üzüm tipinden biri olan Balıkçı Siyahı' nın mikro çelik kültürü için en uygun BA ve IBA dozu belirlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Çalışma, Karadeniz Bölgesinde yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan kokulu kara üzüm olarak isimlendirilen *V. labrusca* L. türüne ait Balıkçı Siyahı tipinde gerçekleşmiştir; Balıkçı Siyahı üzüm tipi koyu kırmızı-mor renkli, taneleri yuvarlak şekillli ve yoğun bir pus tabakası ile örtülü, küçük veya orta büyüklükte, dış kabuğu oldukça kalın olup içerisinde ortalama 1-3 adet çekirdek bulundurmaktadır. Dalı silindirik formdaki salkımları ise küçük ve oldukça dolgun yapılıdır. Bu üzüm çeşidinin tadı ise çilek aromalıdır. Ordu Üniversitesine bağlı Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma bağında yer alan Balıkçı Siyahı üzüm tipinin aktif büyüme dönemindeki sürgünlerinden alınan tek boğum içeren 2-4 cm uzunluğundaki mikro çelikleri kullanılmıştır. Mikro çelikler öncelikle yüzey sterilizasyonu amacıyla sodyum hipoklorid (% 20) ile 1-2 damla Tween 20 bulunduran çözelti içinde 15 dakika muamele edilmiş ve ardından steril kabin içinde steril saf su ile 3 kez durulanmıştır. Araştırmada MS temel besin ortamı (Murashige ve Skoog 1962) hazırlanırken makro elementler olarak 370 mg/l $MgSO_4.7H_2O$, 170 mg/l KH_2PO_4, 1900 mg/l KNO_3, 1650 mg/l NH_4NO_3, 332.2 mg/l $CaCl_2$; mikro elementler olarak 6.2 mg/l H_3BO_3, 0.83 mg/l KI, 8.6 mg/l $ZnSO47H_2O$, 0.025 mg/l $CoCl_26H_2O$, 0.025 mg/l $CuSO_45H_2O$, 37.26 mg/l Na_2EDTA, 27.8 mg/l $FeSO_47H_2O$, 16.9 mg/l $MnSO_4H_2O$, 0.25 mg/l $Na_2MoO_42H_2O$; organik madde olarak 100 mg/l Myo-inositol; vitamin olarak 0.5 mg/l nicotinic acid, 0.5 mg/l pyridoxineHCl ve 0.1 mg/l Thiamine; 2 mg/l Glycine; 30 g/l sucroz; 8 g/l agar kullanılmış (Çizelge 1) besi ortamının pH'sı 5.7-5.8'e ayarlanmıştır. Kullanım öncesinde ortamlar 121ºC ve 1.05 atm basınçta ki otoklavda 15 dakika tutularak steril edilmiştir. Mikro çelikler yüzey sterilizasyonları yapıldıktan sonra sürgün oluşturulması amacıyla BA (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l (Benzyladenin) içeren MS (Murashige and Skoog 1962) besi ortamında 15 cm x 2.5 cm boyutlarındaki 16 ml ortam içeren deney tüplerinde kültüre alınmıştır. Farklı dozlarda BA ilave edilmiş MS ortamında kültüre alınan mikro çeliklerden yaklaşık 2 hafta sonrasında süren sürgünler kesilmiş ve en uygun köklendirme ortamının belirlenmesi için sürgünler mümkün olduğunca eşit büyüklükte olacak şekilde uygulamalar için dağıtılmıştır. En uygun köklendirme ortamının belirlenmesi amacıyla sürgünler, MS ortamından BA çıkarılarak, farklı IBA (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) konsantrasyonlarını içeren aynı besin ortamına aktarılmışlardır. Transferi yapılan bitkiler sıcaklığı 26±2 °C, fotoperyodu 16 saat ve ışıklanma şiddeti 3000-4000 lüks olan beyaz LED ışıkların yer aldığı büyütme kabininde tutulmuştur.

Deneme kapsamında BA konsantrasyonlarını içeren MS besin ortamında sürgün oluşturan eksplant sayısının toplam dikilen eksplant sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla elde edilen Sürgün Oluşturan Eksplant Oranı (%) belirlenmiştir. Mikro çeliklerin BA eklenmiş MS besin ortamında dikimini takiben boğumda ki gözün patladığı süre patlama süresi ve en az 1 boğum bulunduran sürgün oluşturana kadar geçen zaman ise sürme süresi (gün) olarak tespit edilmiştir (Bilir Ekbiç 2010). Farklı IBA konsantrasyonları ilave edilen MS besi ortamına köklenmeleri amacıyla dikilen sürgünlerin dikimini takiben ilk köklenmenin görüldüğü zamana kadar olan geçen süre ilk köklenme süresi (gün) olarak kaydedilmiştir (Tangolar ve ark. 1995). Ayrıca köklenen eksplant oranı (%) ise farklı IBA konsantrasyonlarını içeren MS besi ortamında kök oluşturan eksplant sayısının toplam dikilen eksplant sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuştur. Bitkiciklerin farklı IBA ortamından çıkarılıp her bir bitkiciğin oluşturduğu köklerin sayılmasıyla kök sayısı/bitkicik oranı (n); oluşturdukları köklerin uzunluklarının cetvel yardımıyla ölçülmesiyle ise kök uzunluğu (cm); her bir bitkiciğin taşıdığı boğumun ve yaprağın sayılmasıyla boğum miktarı (n) ve yaprak miktarı (n) belirlenmiştir. Her bir bitkiciğin oluşturduğu sürgünün uzunluğu ise cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Bitkiciklerin oluşturdukları sürgün ve kökler 0.001 g hassasiyetteki teraziyle tartılarak sürgün ve kök yaş ağırlıkları (g) belirlenmiştir. Bitkiciklerin oluşturdukları kök ve sürgünler 65ºC'deki etüvde 72 saat tutulması sonrasında 0.001 g hassasiyetteki teraziyle tartılarak sürgün ve kök kuru ağırlıkları da saptanmıştır.

Deneme planlanması 3 tekerrürlü, her tekerrürde 15 adet bitki materyali kullanılarak Tesadüf Parselleri Deneme desenine göre yapılmıştır. Gruplar arası farklılıklar % 5 önem seviyesinde LSD testi kullanılarak JMP 10.0.0. istatistiki paket programında değerlendirilmiştir. Yüzde (%) ile belirtilen özelliklerin istatistiki analizinde açı transformasyon değerleri kullanılmış ve farklılıklar buna göre belirlenmiştir.

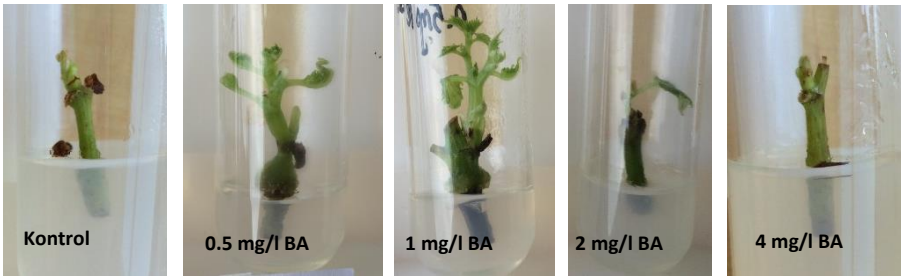
Bulgular

Farklı BA dozları ilave edilmiş MS ortamındaki tek boğumlu çeliklerin patlama ve sürme süresi ile bitki canlılık oranına ait sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Balıkçı siyahı tipi için bu üç özellik açısından elde edilen ortamlar arası farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Buna göre patlama süresi çizelgeden incelendiğinde en kısa sürede patlama 1 mg/l BA; en geç patlama ise 2 mg/l BA eklenmiş MS besin ortamında tespit edilmiştir. Patlama süresi sonuçları sürme süresiyle hemen hemen benzerlik göstermiş olup en kısa sürede sürme 0.5 mg/l BA eklenmiş MS besin ortamından elde edilmiştir. En geç sürme ise 2 veya 4 mg/l BA eklenmiş MS besin ortamında belirlenmiştir. Mikro çeliklerin farklı dozdaki BA' lı ortamdaki sürgün gelişimleri Şekil 1'de gösterilmiştir.

Bitki Canlılık oranı değerleri bakımından en yüksek canlılık oranı değeri 1 mg/l BA ilave edilen ortamdan sağlanmış olup (% 77.7) bu ortamı 0.5 mg/l BA eklenilen MS besin ortamı (% 66.1) izlemiştir. Diğer ortamlarda belirlenen daha düşük orandaki canlılık, mikro çeliklerdeki boğumdan sürgün oluşmaması ve sonrasında bitkilerin belli bir süre sonrasında kuruması ile özellikle 4 mg/l BA ilave edilen ortamda ki bitkilerin bazılarında gözlenen hiperhidrasyon olayından kaynaklanmıştır.

Çizelge 1. Mikro çeliklerin farklı dozdaki BA içeren MS ortamındaki patlama ve sürme süreleri (gün) ve bitki canlılık oranı (%)

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



Şekil 1. Mikro çeliklerin farklı dozdaki BA içeren MS ortamındaki gelişimleri

Farklı dozdaki IBA eklenen MS ortamındaki bitkiciklerin sürgün gelişim özelliklerine dair veriler Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde; köklenme oranı diğer IBA dozları arasında nispeten düşük olan 2 mg/l IBA ilave edilen ortamında gelişen bitkilerin sürgün gelişimini gösteren sürgünde bulunan boğum ve yaprak sayısı (7 adet), uzunluğu (3.29 cm), yaş ağırlığı (0.233 g) ile kuru ağırlığı (0.022 g) özelliklerinde en üstün sonuçlar elde edilmiştir. Köklenmenin gerçekleşmediği kontrol uygulamasında ise en az sürgün gelişimi elde edilmiştir. Ayrıca tüm IBA ilavesi yapılan ortamların sürgün gelişiminin kontrole göre daha iyi olduğu da belirlenmiştir.

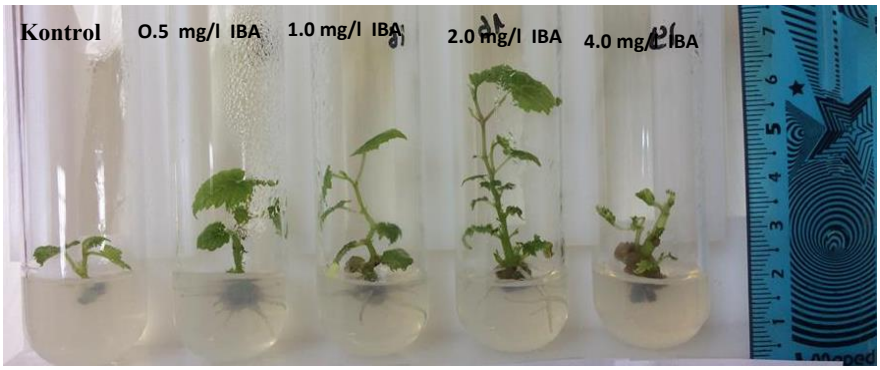
Çizelge 2. Farklı dozlarda IBA eklenmiş MS ortamında bitkiciklerin sürgün gelişimleri

IBA DOZLARI	Boğum sayısı (adet)	Yaprak Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Sürgün yaş ağırlığı (g)	Sürgün kuru ağırlığı (g)
0 mg/l	4 cd	4 b	1.30 c	0.064 e	0.005 c
0.5 mg/l	5 bc	6 a	2.32 b	0.140 c	0.010 b
1 mg/l	6 ab	6 a	2.54 b	0.166 b	0.012 b
2 mg/l	7 a	7 a	3.29 a	0.233 a	0.022 a
4 mg/l	3 d	3 b	1.44 c	0.104 d	0.006 c
LSD % 5	2	1	0.54	0.023	0.002

Balıkçı Siyahı tipinin farklı dozlarda IBA eklenen MS ortamındaki kök gelişimi üzerine farklı IBA dozlarının etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.005$). IBA eklenmeyen kontrol uygulamasında köklenmenin gerçekleşmediği buna karşın en yüksek köklenme oranının litreye 0.5 mg (% 71.6), 1 mg (% 77.8) ve 4 mg IBA (%71.6) ilave edilen ortamdan elde edilmiştir. 2 mg/l IBA ilave edilen ortamda % 61.2' lik köklenme oranı gözlenmesine karşın en fazla kök sayısı (11 adet), kök uzunluğu (1.25 cm), kök yaş (0.073 g) ve kök kuru ağırlığı (0.004 g) elde edilmiştir. Köklenme süresi açısından en erken köklenme 15 gün ile 0.5 mg/l IBA eklenen ortamdan; en geç köklenme ise 23 gün ile 4 mg/l IBA ilave edilmiş olan ortamdan elde edilmiştir (Çizelge 3) (Şekil 2).

Çizelge 3. Farklı dozlarda IBA eklenmiş MS ortamında bitkiciklerin kök gelişimleri

IBA Dozları	Köklenme oranı (%)	Kök sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)	Köklenme süresi (gün)	Kök yaş ağırlığı (g)	Kök kuru ağırlığı (g)
0 mg/l	0.0 c	0 c	0.00 c	-	0.000 d	0.000 c
0.5 mg/l	71.6 a	6 b	0.73 b	15 a	0.021 c	0.001 bc
1 mg/l	77.8 a	6 b	0.75 b	18 b	0.048 b	0.002 b
2 mg/l	61.2 b	11 a	1.25 a	20 c	0.073 a	0.004 a
4 mg/l	71.6 a	7 b	0.90 b	23 d	0.039 b	0.002 b
LSD % 5	9.2	2	0.21	2	0.014	0.001



Şekil 2. Farklı dozdaki IBA'lı köklendirme ortamlarında bulunan bitkiciklerin görünümü.

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada Balıkçı Siyahı üzüm tipinin boğum kültürüyle çoğaltılması sağlanmıştır. Bunun için çalışmanın ilk safhasında farklı dozlardaki BA dozları (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l) MS besin ortamına ilave edilmiştir. Çalışmanın ikinci safhasında ise oluşan sürgünlerin köklenmesinin sağlanması açısından değişik dozlardaki IBA (0, 0.5, 1, 2 ve 4 mg/l)'nın MS besin ortamına ilavesi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ilk safhası olan boğumdan sürmenin gerçekleştirilmesi ve sürgün oluşumu açısından en üstün sonuç MS ortamına 1 mg/l BA ilavesinden elde edilmiştir. Ancak kontrol hariç diğer ortamlarda da iyi denilebilecek sonuçlar gözlenmiştir. Ortama BA ilavesi

sonucu elde edilen bu üstün sonuçlar Lee ve Wetztein (1990), Mhatre ve ark. (2000), Norton ve Skirvin (2001), Banilas ve Korkas (2005), Gök Tangolar ve ark. (2008), Wong (2009), Bilir Ekbiç (2010), Kinfe (2010), Mukherjee ve ark. (2010)'nın yaptıkları araştırma sonuçlarında da bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda optimum BA dozu kullanılan çeşitlere göre farklılıklar göstermiştir. Ayrıca yüksek dozda sitokininin meydana getirebileceği hiperhidrasyon sorunu Banilas ve Korkas (2005) ve Bilir Ekbiç (2010) tarafından da bildirilmektedir. Bu çalışmada da 2 ve 4 mg/l BA ilave edilen ortamlarda belirlenen daha düşük orandaki canlılık, mikro çeliklerdeki boğumdan sürgün oluşmaması ve sonrasında bitkilerin belli bir süre sonrasında kuruması veya 4 mg/l BA dozunun bazı bitkilerde hiperhidrasyona yol açmasından kaynaklanmıştır. Boğumların kısa sürede sürmüş olması, kullanılan yöntemin ıslah çalışmalarında kullanımının uygun olduğunu göstermiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ise oluşan sürgünlerin köklü bitkicik oluşturabilme oranı belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla ortama IBA ilavesiyle kök gelişimi teşvik edilebilmiştir. IBA'in kök gelişimi açısından bu olumlu etkisi Roubelakis-Angelakis ve Zivanovitc (1991), Verghese ve Smita (2004), Banilas ve Korkas (2005), Bilir Ekbiç ve ark. (2015)'nın araştırmalarında da bildirilmiştir.

Çalışmadan sonuç olarak Balıkçı Siyahı tipi için tek boğumlu mikro çeliklerinin sürgün gelişimi açısından en uygun BA dozunun 1 mg/l; sürgünlerin köklenmesi bakımından ise 2 mg/l IBA olduğu belirlenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışmayı TF-1607 no'lu proje ile destekleyen Ordu Üniversitesi BAP birimine ve bu tip ile üniversite bağının kurulmasında gösterdiği materyal desteğinden dolayı Sayın Prof. Dr. Hüseyin ÇELİK hocaya teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Babaoğlu M, Gürel E, Özcan S (2001). Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları 1, S. Ü. Vakfı Yayınları, Konya.

Banilas G, Korkas E (2005). Rapid micropropagation of grapevine cv. Agiorgitiko through lateral bud development. e-Journal of Science & Technology (e-JST). 31-38.

Barlass M, Skene KGM (1980). Studies on the fragmented shoot apex of grapevine. J. Exp. Bot. 31: 483-488.

Bilir Ekbiç H (2010). Trakya İlkeren ve Flame Seedles Üzüm Çeşitlerinde Co^{60} ve Kolhisin Kullanılarak Mutasyon ve Poliploidi Oluşturma Olanakları. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 131s, Adana.

Bilir Ekbiç H, Yılmaz GŞ, Ciğerli S (2015). Isabella (*Vitis labrusca L.*) üzüm çeşidinin *in vitro* sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. Akademik Ziraat Dergisi. 4(2): 65-70.

Blazina I, Korosec-Koruza Z, Ravinkar M, Gogala N (1991). Regeneration and micropropagation of the grapevine (*Vitis vinifera* L.'Zelen') from shoot tip meristem. Acta Horticulturae. 300: 123-126.

Das DK, Reddy MK, Upadhyaya KC, Sopory SK (2002). An efficient leaf disc culture method for the regeneration via somatic embryogenesis and transformation of grape (*Vitis vinifera* L.). Plant Cell Rep. 20: 999-1005.

Gök Tangolar S, Ünlü G, Tangolar S, Daşgan Y, Yılmaz N (2008). Use of *in vitro* method to evaluate some grapevine varieties for tolerance and susceptibility to sodium bicarbonate-induced chlorosis. *In Vitro* Cell. Dev. Biol.-Plant. 44: 233–237.

Gray DJ, Fisher LC (1985). *In vitro* shoot propagation of grape species, hybrids and cultivars. Proceedings of the Florida State Hort. Soci. 98: 172-174.

Jean PP, Torregrosa L, Gilles B (1998). Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. J. Exp. Bot. 49(319): 171–179.

Kinfe B. (2010). Multiple shoot regeneration study on three varieties of grapevine (*Vitis vinifera L.*) from shoot tip and nodal culture. Addis Ababa University. School of Graduate Studies. Department of Biology. Applied Genetics Stream. Master of Science. 44p. , Ethiopia.

Lee N, Wetzstein HY (1990). *In Vitro* Propagation of Muscadine Grape by Axillary Shoot Proliferation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(2): 324-329.

Martinelli L, Gribaudo I (2001). Somatic Embryogenesis in Grapevine. Pp. 327-352, In: K. A. Roubelakıs-Angelakıs (eds.): Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London.

Mauro MC, Nef C, Fallot J (1986). Stimulation of somatic embryogenesis and plant regeneration from anther culture of *Vitis vinifera* cv. Cabernet- Sauvignon. Plant Cell Rep. 5:377–380.

Mhatre M, Salunkhe CK, Rao PS (2000). Micropropagation of *Vitis vinifera* L.: towars an improved protocol. Sci. Hort. 84: 357-363.

Mukhrerjee P, Husain N, Misra SC, Rao VS (2010). *In vitro* propagation of a Grape Rootstock, de Grasset (*Vitis Champinii Plansh*.): Effects of medium compositions and plant growth regulators. Scientia Horticulturae. 126: 13-19.

Murashige T, Skoog F (1974). Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 135-165.

Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Nakajima I, Matsuta N (2003). Somatic embryogenesis from filaments of *Vitis vinifera* L. and *Vitis labruscana* B. Vitis. 42: 53–54.

Nakano M, Watanabe Y, Hoshino Y (2000). Histological examination of callogenesis and adventitious embryogenesis in immature ovary culture of grapevine (*Vitis vinifera* L.). J. Hort. Sci. Biotechnol. 75: 154–160.

Norton MA, Skirvin RM (2001). Micropropagation of _Norton wine grape. HortTechnology. 11(2): 206-208.

Roubelakis-Angelakis KA, Zivanovitc SB (1991). A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (V*itis spp.)* genotypes. Hortscience. 26(12): 1551-1553

Salunkhe CK, Rao PS, Mhatre M (1997). Induction of somatic embryogenesis and plantlets in tendrils of *Vitis vinifera* L. Plant Cell Rep. 17: 65-67.

Stamp JA, Meredith CP (1988). Proliferative somatic embryogenesis from zygotic embryos of grapevines. J. Am. Soc. Hort. Sci. 113: 941–945.

Tangolar S, Gök S, Çetiner S (1995). Bazı Amerikan asma anaçlarının *in vitro* sürgün ucu kültürüyle çoğaltılması. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Cilt II (Sebze-Bağ-Süs Bitkileri), Ekim 13-16, Adana, Türkiye, 544-549.

Verghese R, Smita (2004). Comparison of micropropagation efficiancy among different grape hybrids with special reference to Shweta Seedless. IIHR Abstracts PG Education. 37-38.

Winkler AJ, Cook JA, Kliewer WM, Lloyd AL (1974). General Viticulture, p. 710

Wong KI (2009). *In Vitro* Culture of 'Dog Ridge' Grapevine. Undergraduate Research Scholar. The Office of Undergraduate Research Texas A&M University, 24.