



## Bazı Üzüm Çeşitlerinin Doku Kültürü Yöntemiyle Mikroçoğaltımı Üzerine Bir Araştırma

Elif Ahsen Balı<sup>1</sup>

Onur Sinan Türkmen<sup>2\*</sup>

Gülhan Baytekin<sup>2</sup>

Alper Dardeniz<sup>1</sup>

Esra Şahin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ÇOMÜ Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü. 17100/Çanakkale.

<sup>2</sup>ÇOMÜ Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü. 17100/Çanakkale.

\*Sorumlu yazar: onurturkmen@comu.edu.tr

### Özet

Asmanın (*Vitis vinifera* L.) virüsten arı sağlıklı ve hızlı çoğaltımı, asma fidancılığı yönünden önemlidir. Bu çalışmada, 'ÇOMÜ Dardanos Yerleşkesi Ziraat Fakültesi Çiftliği Bitkisel Üretim ve Araştırma Birimi' 'Sofralık Üzüm Çeşitleri Uygulama ve Araştırma Bağı'nda yer alan 'Yalova İncisi' ve 'Yalova Çekirdeksizi' üzüm çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Besi ortamı olarak Murashige Skoog temel besin ortamı kullanılmıştır. Öncelikle, üzüm çeşitleri sterilize edilerek mikroçoğaltımı gerçekleştirilmiştir. Bu bitkilerden elde edilen eksplantların en iyi geliştiği besi ortamı tespit edilmiştir. Bu amaçla 4 farklı dozda (0,0 mg/L BA, 0,5 mg/L BA, 1,0 mg/L BA ve 2,0 mg/L BA) benzilaminopürin (BA) büyüme düzenleyicisi içeren ortamlar değişken olarak kullanılmıştır. Denemeler üç tekerrürlü olacak şekilde planlanmış ve her ortama 3 adet eksplant yerleştirilmiştir. Araştırmanın sonucunda, her iki üzüm çeşidinde de kök boğazı sürgün sayısı (adet) bakımından en yüksek değerlerin, en yüksek hormon uygulaması olan 2,0 mg/L BA dozu içerikli ortamdan elde edildiği saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Vitis vinifera* L., Yalova Çekirdeksizi, Yalova İncisi, Doku kültürü, 6–Benzil amino pürin.

### Abstract

## A Research on Micropropagation by Tissue Culture Method of Some Grape Varieties

The virus-free, aseptic and micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) is highly effective in term of vine nurseries. In this research, 'Yalova İncisi' and 'Yalova Cekirdeksizi' grape varieties which are included in 'Research Vineyard of Table Grape Varieties' 'Faculty of Agriculture's Plant Production and Research Farm' in Dardanos Campus of COMU were used as plant material. Murashige Skoog basic nutrient medium was used as the nutrient medium. Primarily, grape varieties were sterilized and micropropagated. The best growing medium of explants obtained from these plants was determined. For this purpose, media containing growth regulators of in 4 different doses of (0.0 mg / L BA, 0.5 mg / L BA, 1.0 mg / L BA and 2.0 mg / L BA) benzylaminopurine (BA) were used as variables. The trials were planned as three replications and 3 explants were placed in each medium. As a result of the research, it was determined that the highest values in terms of root collar shoot number (number) in both grape varieties were obtained from the medium containing 2.0 mg / L BA dose, which is the highest hormone application.

**Keywords:** *Vitis vinifera* L., Tissue culture, Yalova Cekirdeksizi, Yalova Incisi, 6–Benzylaminopurine.

## Giriş

Asma (*Vitis vinifera* L.), dünya üzerinde kültürü yapılan en eski meyve türlerinden biridir. Dünya üzerinde geniş bir coğrafyada yayılış göstermektedir. Bağcılık, Anadolu'da oldukça eski bir kültüre sahiptir. Ülkemiz, asmanın anavatanı olması yanında, gerek üretim miktarı gerekse çeşit zenginliği açısından sayılı ülkeler arasındadır (Bilir Ekbiç ve ark., 2015). Ülkemizin 2018 yılı bağcılık verilerine göre; bağ üretim alanı 4.170.410 da, toplam üretim miktarı 3.933.000 ton olup, bunların 1.945.262 tonunun sofralık, 1.524.091 tonunun kurutmalık ve 463.647 tonunun ise şaraplık çeşitler olduğu görülmektedir (TÜİK, 2018). Elde edilen bu verilere göre; sofralık üzüm üretim miktarı toplam üzüm üretim miktarının yaklaşık %50'sine karşılık gelmektedir.

Kültür asması (*Vitis vinifera* L.), generatif (tohum) ve vejetatif (çelik, daldırma, aşı ve doku kültürü) yöntemlerle başarılı şekilde çoğaltılmaktadır. Çelikle çoğaltımda asmanın yıllık dallarından alınan çelik ve kalemler ile üretim sağlanmakta, bu vejetatif kısımlarla yapılan üretimde tohum gibi açılma görülmediğinden bu yöntem, pratikte bağcılıkta halen yaygın şekilde kullanılmaktadır (Dardeniz, 2001). Asma çeşitlerinde daldırma ve çelikle çoğaltım yapılabilirken, filoksera zararlısı önemli bir sorundur. Doku kültürleriyle çoğaltımda klonal çoğaltım genetik açıdan yeknesak plantasyon oluşmasını sağlarken meristem kültürü yöntemiyle virüs, hastalık ve zararlıdan arı bitkilerin üretimine olanak sağlanabilmektedir (Murashige ve Skoog, 1962; Blazina ve ark., 1991; Erkoyuncu ve Yorgancılar., 2015).

Asma virüsler, bakteriler, funguslar ve filoksera gibi çeşitli hastalık ve zararlı etmenlerine karşı hassasiyeti olan bir bitki türüdür. Bu hastalık ve zararlıların çoğaltım materyalleriyle bulaşma ve taşınmaları söz konusu olabilir. Bitkilerin çoğaltımında doku kültürü yönteminin sağladığı en önemli yararlarından birisi; asmaların da aralarında bulunduğu pek çok kültür bitkisinin kimyasal ve biyolojik yöntemlerle kontrolü mümkün olmayan virüs ve virüs benzeri hastalık etmenlerinden arındırılabilmesidir (Ergönül ve Çelik, 2018). Asmalarda sürgün ucu, anter, ovul, meristem, sülük, yaprak ayası ve sapı, boğum arası parçacıkları gibi kısımlar, eksplant kaynağı olarak farklı mikroçoğaltım çalışmalarında kullanılmaktadır (Babalık ve ark., 2008).

Bu araştırma, Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinin 4 farklı BA(6-Benzil amino pürin) dozunda en iyi gelişim gösterdikleri besi ortamının (MS; Murashige Skoog) tespit edilmesi amacıyla yürütülmüştür.

## Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada bitki çoğaltım materyali olarak 'ÇOMÜ Dardanos Yerleşkesi Ziraat Fakültesi Çiftliği Bitkisel Üretim ve Araştırma Birimi' 'Sofralık Üzüm Çeşitleri Uygulama ve Araştırma Bağı'nda yer alan Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitleri kullanılmıştır. Bitki örnekleri, bu üzüm çeşitlerinin ilkbaharda yeni gelişen yazlık sürgünlerinden elde edilmiştir. Alınan bitki örnekleri, Ziraat Fakültesi Bitki Doku Kültürü Laboratuvarı'na getirilerek sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş ve steril besi ortamına aktarılmıştır. Sterilizasyon işlemi uygulaması sürecinde 30 sn %70'lik etil alkol ve Tween 20 ilaveli %20'lik ticari çamaşır suyu (sodyum hipoklorit) ilave edilerek 20 dakika süreyle muamele edilen meristem içeren koltuk altı sürgün parçaları, steril ortam altında 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Steril bitkicikler denemeler için gerekli eksplant sayısına ulaşıncaya kadar hormon içermeyen ortamda alt kültüre alınmıştır. Besi ortamı olarak B5 ilaveli Murashige ve Skoog (MS) besi ortamı, 30 g/l sukroz ve %8 agar katılaştırıcı olarak kullanılmıştır (Murashige ve Skoog, 1962). 14 x 14 Magenta GA-7 besi ortam kaplarına yer verilmiş, denemeler 3 tekerrürlü olarak ve her bir Magenta kaptaki 3'er bitkicik olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kaplara 60 ml besi ortamı eklenip 0,0-0,5-1,0 ve 2,0 mg/L oranlarında BA hormon ilavesi ile pH 5,7-5,8 ayarlanıp 121°C'de 20 dakika otoklavlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Çoğaltım kabı olan her bir Magenta kaba 60 ml besin çözeltisi yerleştirilerek pens, büstri ve diğer malzemelerle sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

Bitki gelişimleri 16/8 fotoperiyot ve sıcaklık kontrollü yetiştirme odasında takip edilmiştir. Aydınlatma 30.000 lüks beyaz floresan şartlarından oluşmuş, bitkicikler 40 gün sonunda hasat edilerek sürgün uzunluğu (cm), sürgün ağırlığı (mg), kök boğazı sürgün sayısı (adet), koltuk altı sürgün sayısı (adet) ve kök sayısına (adet) ait değerler not edilmiştir. Elde edilen veriler SAS paket programında (LSD<sub>0,05</sub>) (Prog GLM) istatistikî analize tabi tutulmuştur.

### Bulgular ve Tartışma

Farklı BA dozunda en iyi gelişim gösterdikleri besi ortamının belirlenmesi amacıyla yürütülen bu araştırmadan elde edilen bulgular Çizelge 1. ile Şekil 1., Şekil 2., Şekil 3., Şekil 4. ve Şekil 5.'te sunulmuştur.

### Araştırmaya Ait Varyans Analiz Sonuçları

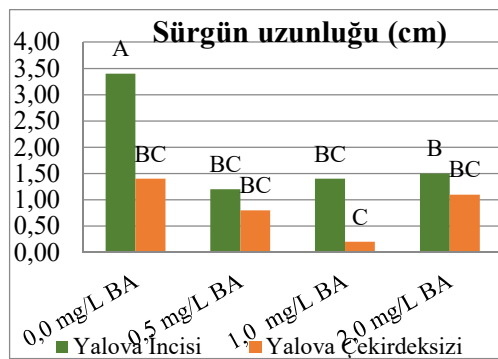
Yapılan analiz sonuçlarında iki farklı üzüm çeşidi ve 3 tekerrürle yürütülen araştırmada, çeşitler ve tekerrürlerin kendi içerisindeki farklılıkları istatistikî açıdan önemsiz bulunmuş, ancak uygulamalar arasındaki farklılığın önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 1.).

Çizelge 1. Araştırmaya ait varyans analiz sonuçları

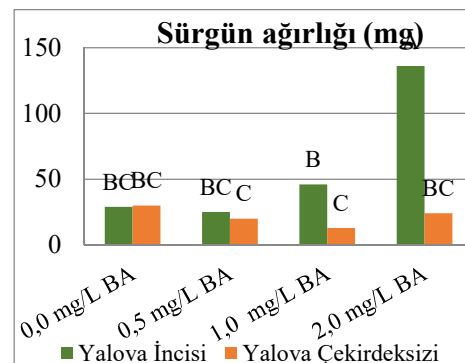
Varyans kaynağı	SD	Kareler ort.	Pr>F
Çeşit	1	1,77	0,1277
Uygulama	3	5,91	0,0011
Tekerrür	2	0,41	0,5623

Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinde en yüksek sürgün uzunluğu değerini Yalova İncisi üzüm çeşidinde (3,40 cm) 0,0 mg/L BA dozu, en kısa sürgün uzunluğu değerini ise Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşidinde (0,20 cm) 1,0 mg/L BA dozu içeren besi ortamı oluşturmuştur (Şekil 1.). En yüksek sürgün ağırlığı 2,0 mg/L BA ihtiva eden ortamdaki Yalova İncisi üzüm çeşidinde (136,0 mg), en düşük sürgün ağırlığı ise sırasıyla 1,0 mg/L ve 0,5 mg/L BA içeren Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşidinde (13,0 mg ve 20,0 mg) belirlenmiştir (Şekil 2.)

Asma bitkisinde kallus rejenerasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, LS ortamında oluşturulan kallustan 2,0 mg/L BA + 0,5 mg/L NAA ilaveli ½ MS ortamında en yüksek sürgün ağırlığına ulaşılmıştır (Chowdhury ve ark., 2012). Yürütülmüş olan bu araştırmadan elde edilen sürgün ağırlığı bulguları, Chowdhury ve ark. (2012)'nin elde ettikleri sonuçlar ile benzerlikler göstermektedir.



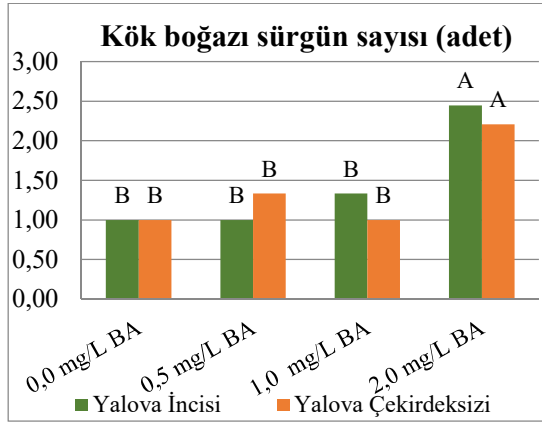
Şekil 1. Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinde sürgün uzunluğuna ilişkin bulgular (LSD; P<0,05)



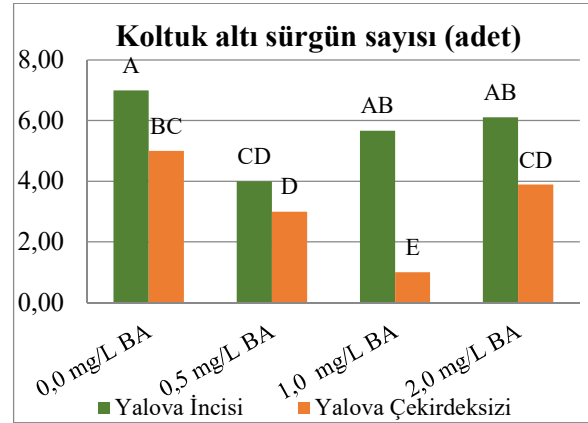
Şekil 2. Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinde sürgün ağırlığına ilişkin bulgular (LSD; P<0,05)

Gelişecek yeni sürgünlerin çoğaltılacak yeni bitkiciklerin eksplantları olarak kullanılacak olmaları, in vitro bitki çoğaltım verimliği açısından sürgün sayısını en önemli parametre haline getirmektedir. Bu çalışmada, kök boğazından rejenere olan koltuk altı sürgünü olarak iki tür parametre üzerinde inceleme yapılmıştır.

Uygulamalar kök boğazı sürgün sayısı açısından incelendiğinde, 2mg/L BA içeren ortamda yetiştirilen Yalova İncisi üzüm çeşidinde 2,40 adet, Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşidinde ise 2,20 adet kök boğazı sürgün sayısı elde edilmiştir. Bu değer, diğer BA konsantrasyonlarından elde edilen kök boğazı sürgün sayılarından istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Bu iki üzüm çeşidinde, diğer BA konsantrasyonlarında 1,5 adedin altında sürgün sayısı elde edilmesi sebebiyle, 2 mg/L'nin altındaki konsantrasyonlarda kök boğazı sürgünleriyle çoğaltımın düşük kalacağı belirlenmiştir (Şekil 3.).



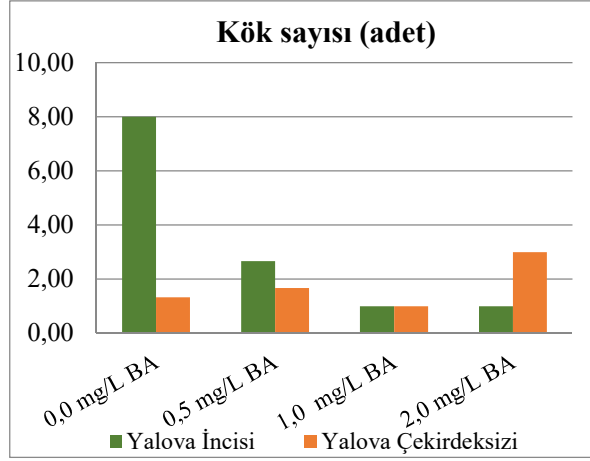
Şekil 3. Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinde kök boğazı sürgün sayısına ilişkin bulgular (LSD; P<0,05).



Şekil 4. Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinde koltuk altı sürgün sayısına ilişkin bulgular (LSD; P<0,05).

Yalova İncisi üzüm çeşidi koltuk altı sürgün sayısı açısından incelendiğinde 0,5 mg/L BA hormon içerikli ortamın (4,0 adet) diğer uygulamalardan istatistikî açıdan düşük olduğu, 0,0 mg/L (7,0 adet), 2,0 mg/L (6,1 adet) ve 1,0 mg/L (5,7 adet) BA konsantrasyonlarındaki koltuk altı sürgün sayısının daha yüksek olduğu görülmektedir. Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşidinin koltuk altı sürgün sayılarının, Yalova İncisi üzüm çeşidinden genel olarak daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.).

Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerine ait kök sayıları bakımından BA konsantrasyonları arasında istatistikî bir farklılık tespit edilememiştir. Yalova İncisi üzüm çeşidinde rakamsal olarak en fazla kök sayısı 0,0 mg/L BA (8,00 adet) dozunda belirlenmiş olup, bunu sırasıyla 0,5 mg/L (2,67 adet), 1,0 mg/L (1,00 adet) ve 2,0 mg/L BA (1,0 adet) dozları takip etmiştir. Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşidinde ise rakamsal olarak en fazla kök sayısı 2,0 mg/L BA (3,00 adet) dozunda tespit edilmiş, ardından sırasıyla 0,5 mg/L BA (1,67 adet), 0,0 mg/L BA (1,33 adet) ve 1,0 mg/L BA (1,00 adet) dozları gelmiştir (Şekil 5.).



Şekil 5. Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinde kök sayısına ilişkin bulgular (LSD; P<0,05).

Ekbiç ve Yılmaz (2018) tarafından Balıkcı Siyahı üzüm çeşidinde yürütülen bir araştırmada, tek boğumlu mikro çeliklerdeki en uygun sürgün gelişiminin 1 mg/L BA ile 4 mg/L BA dozlarında gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Babalık ve Baydar (2008)'ın gövde ve yaprak sapı eksplantlarından adventif sürgün oluşumu üzerine yaptıkları bir araştırmada, en iyi indirekt adventif sürgün gelişiminin 0,2 mg/L BAP+1 mg/L 2,4-D+1 g/L kazein hidrolizat katkılı MS ortamı ile 2 mg/L zeatin NN ortamında olduğu belirtilmiştir. Bu araştırmanın sonucunda ise her iki üzüm çeşidinde de kök boğazı sürgün sayısı (adet) bakımından en yüksek değerlerin, en yüksek hormon uygulaması olan 2,0 mg/L BA dozu içerikli ortamdan elde edildiği saptanmıştır.

## Sonuç ve Öneriler

Bitki türlerinin *in vitro* şartlara adaptasyonları ve *ex vitro* şartlara göre daha küçük organlarla yetiştirilebilmesi için en az üç alt kültür süresine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada tek bir sitokinin hormonu üzerinde deneme yapılmış olsa da Yalova İncisi ve Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşitlerinin steril doku kültürü şartlarına adaptasyonu ve bu şartlarda çoğaltımı başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen eksplantlar ile *in vitro* ortamda mikroçoğaltım yapılarak, eksplantların dört farklı BA dozunda en iyi gelişim gösterdikleri besi ortamının belirlenmesine çalışılmıştır. Araştırmaya konu olan her iki üzüm çeşidinin de 2,0 mg/L BA içerikli MS ortamında koltuk altı sürgün sayıları diğer hormon içerikli ortamlardan daha üstün bulunmuştur. Yalova İncisi üzüm çeşidi, Yalova Çekirdeksizi üzüm çeşidinden daha fazla koltuk altı sürgün sayısına sahip iken, her iki çeşidin de kök boğazı sürgün sayılarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, hedeflenen farklılığın tespiti açısından daha fazla sayıda eksplant ve farklı hormon çeşit ve kombinasyonları üzerinde çalışılmasının yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Makale, araştırma yayın etiğine uygun olarak hazırlanmıştır. Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

## Kaynaklar

- Babalık, Z., Baydar, N.G., 2008. Asmada (*Vitis vinifera* L.) gövde ve yaprak sapı eksplantlarından adventif sürgün oluşumu üzerine bir araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 21 (2): 231–240.
- Bilir Ekbiç, H., Yılmaz, G.Ş., Ciğerli, S., 2015. Isabella (*Vitis labrusca*) 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.
- Chowdhury, M.M.H., Ashrafuzzaman, M., Begum, S.N., Islam, M.M., Dhar, P., 2012. Regeneration of plantlets from grape (*Vitis vinifera* L.) through different explants. Int. J. Sustain. Crop Prod. 7 (2): 12–18.
- Dardeniz A., 2001. Asma Fidancılığında Bazı Üzüm Çeşidi ve Anaçlarda Farklı Ürün ve Sürgün Yükünün Üzüm ve Çubuk Verimi ile Kalitesine Etkileri Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Bölümü. Doktora Tezi. 167s.
- Ekbiç, H., Yılmaz, G., 2018. Kokulu kara üzümün mikro çelik kültürü ile mikro çoğaltımı. YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi. 28 (1): 86–91.
- Ergönül, O., Çelik, S., 2018. Asma meristem kültüründe donör bitkinin gelişim periyodu ve eksplant orijininin, meristem canlılığı ve gelişimine etkisi. Bahçe Dergisi 47 (Özel Sayı 1: Türkiye 9. Bağcılık ve Teknolojileri Sempozyumu): 437–442.
- Erkoyuncu, M.T., Yorgancılar, M., 2015. Bitki doku kültürü yöntemleri ile sekonder metabolitlerin üretimi. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi. 2 (1): 66–76.
- Murashige, T., Skoog, F.A., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology. 15: 473–497.
- TÜİK, 2019. www.TÜİK.gov.tr (Erişim tarihi: 26 Mart 2019).