

1-1-1998

Propagation of Some Seedless Grape Cultivars Trough Embriyo Culture

Semih TANGOLAR

Serpil GÖK

Fuat ERGENOĞLU

Selim ÇETİNER

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture>



Part of the [Agriculture Commons](#), and the [Forest Sciences Commons](#)

Recommended Citation

TANGOLAR, Semih; GÖK, Serpil; ERGENOĞLU, Fuat; and ÇETİNER, Selim (1998) "Propagation of Some Seedless Grape Cultivars Trough Embriyo Culture," *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol. 22: No. 1, Article 13. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/agriculture/vol22/iss1/13>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Agriculture and Forestry by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Bazı Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerinin Embriyo Kültüründen Yararlanılarak Çoğaltılması*

Semih TANGOLAR, Serpil GÖK, Fuat ERGENOĞLU, Selim ÇETİNER
Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 26.06.1995

Özet: Bu araştırma, bazı çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılma olanaklarının ortaya konulması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, Perlette, Flame Seedless, Sultani çekirdeksiz, Pembe çekirdeksiz, 2B-56 ve King's Ruby çeşitlerinden, tam çiçeklenmeden itibaren, 3. ve 8. haftalar arasındaki sürede birer hafta aralarla tane örnekleri alınmıştır. Ovül ve embriyoların çimlenmesi üzerine MS, Nitsch ve E20A besi ortamlarının etkisi incelenmiştir.

Çimlenme oranları, çeşitlerin örnek alma zamanlarına ve kullanılan besi ortamına göre farklılık göstermiştir. Genel olarak, en yüksek değerler, tam çiçeklenmeden sonraki 5. haftadan sonra alınan örneklerle, E20A ortamından alınmıştır. Bu ortamda %90.1 (2B-56 çeşidinde) in üzerinde embriyo çimlenmesi kaydedilmiştir.

Sonuçta, bu teknikle, çekirdeksiz çeşit embriyolarından önemli miktarda bitki elde edilmiş ve bu tekniğin çekirdeksiz üzüm ıslahı çalışmalarında kullanılabileceği saptanmıştır.

Propagation of Some Seedless Grape Cultivars Trough Embryo Culture

Abstract: This experiment was carried out to propagate some seedless grape cultivars through embryo culture. Berry samples of Perlette, Flame Seedless, Sultani çekirdeksiz, Pembe çekirdeksiz, 2B-56 and King's Ruby were taken once a week between 3rd and 8th weeks after full blooming.

The effects of media (MS, Nitsch and E20A) were observed on the germination of ovule and embryos. The rate of germination showed some differences due to sampling periods of cultivars and culture media used. In general, the best results were obtained from samples taken after the 5th week after full bloom and on E20A medium. Over 90.1% embryo germination rate (in 2B-56) was found on this medium.

As a results, a good number of plants have been obtained from embryos of seedless grapes by this technique which was proved to be useful for breeding of seedless grape.

Giriş

Ülkemizde ve dünya pazarlarında sofralık olarak çekirdeksiz üzümler genelde tercih edilmektedir. Çekirdeksizlik, üzümlerde pazarlama şansını arttıran önemli bir özelliktir. Buna rağmen dünya ticaretine konu olmuş çok az çekirdeksiz çeşit bulunmaktadır. Türkiye'nin sofralık üzüm ihracında da Sultani çekirdeksiz çeşidinin payı % 60'ların üzerine çıkmıştır (1). Çekirdeksiz sofralık ve kurutmalık üzüme talebin artması (2), Türkiye'nin bu alandaki önemini şüphesiz daha da artıracaktır.

Son yıllarda yeni üzüm çeşitleri elde etmek amacıyla sürdürülen ıslah çalışmalarında çekirdeksiz sofralık ve kurutmalık üzüm çeşitlerinin kullanımına yönelik git-tikçe artan bir ilgi bulunmaktadır. Ancak, çekirdeksiz çeşitlerin geleneksel ıslahında bazı sorunlarla karşılaşmaktadır: 1) Çekirdeksiz çeşitler sadece erkek birey olarak kullanılabilir. 2) Çekirdekli x çekirdeksiz melezlemelerinden elde edilen döller içinde çekirdeksizlerin oranı çok düşüktür. Çekirdeksizliğin bir veya birkaç resesif genle kontrol edildiği değişik araştırmacılar tarafından ifade edilmiş olmakla beraber döl-

*Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

lerdeki çekirdeksizlik frekansı oldukça değişken görülmekte ve normal genetik oranlara uymamaktadır (1,3,4,5,6,7). 3) Çekirdeksizliği kontrol eden genetik ve çevresel faktörler hakkında yeterli bilgi birikimi bulunmamaktadır.

Son yıllarda *in vitro* tekniğinin kullanımı yoluyla stenospERMOKARPIK bir çeşitten aborsiyon öncesinde alınan tohum taslaklarının veya embriyonun çimlendirilebilmesi (8), çekirdeksiz üzümlerin geleneksel melezleme ıslahı çalışmalarında ana ebeveyn olarak kullanılmalarını mümkün kılmaktadır.

Embriyo kültürü, embriyo gelişmesinin zayıf olduğu veya embriyo aborsiyonlarının gözlemlendiği durumlarda önem kazanmaktadır (9). Erken olgunlaşan üzümlerden alınan tohumların zayıf çimlenmesi de muhtemelen zayıf embriyo gelişmesinden kaynaklanmaktadır. Embriyo kurtarma, *Vitis* türlerinin erken olgunlaşan çeşitlerinde de yapılmış ve bunların da dişi birey olarak kullanılmasına olanak sağlamıştır (10). Bu teknikte özellikle tohumun gelişmediği stenospERMOKARPIK üzüm çeşitlerinden alınan embriyolar uygun besi ortamlarında büyütülmekte (5,7,10,11,12,13) ve böylece yeni bireyler elde edilebilmektedir. Bu yöntemle, çekirdeksizliğin resesif olması durumunda, teorik olarak çekirdeksiz x çekirdeksiz üzüm melezlerinden bir dönem içinde elde edilen çekirdeksiz genotiplerin oranının artırılması da mümkün olabilmektedir.

Goldy ve ark. (14,15), *V. vinifera* kalitesinde meyve ve *V. rotundifolia* düzeyinde hastalık ve zararlılara toleranslı bitkiler elde etme amacıyla yapılan melezlemelerde embriyo aborsiyonundan kaynaklanması muhtemel yetersiz üretimin artırılmasında da embriyo kültürünün kullanılmasının mümkün olduğunu belirtmişlerdir.

Bu araştırma, bağıcılığımız açısından da şüphesiz çok önemli ve güncel olan ve artık özellikle türler arası melezleme ve çekirdeksiz üzüm ıslah çalışmalarında kullanılması hemen hemen zorunlu hale gelen "embriyo kültürü" tekniğinin uygulamaya konulması amacıyla

planlanmıştır. Araştırma kapsamında, bazı çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde embriyo kültüründe kullanılmak üzere tohum taslağının en uygun alım zamanı ile tohum taslağı ve embriyo için uygun çimlendirme ortamının saptanmasına çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırma, 1994 yılında Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırmada materyal olarak, aynı Bölümün Araştırma ve Uygulama bağında yetiştirilen Perlette, Flame Seedless, Sultani çekirdeksiz, Pembe çekirdeksiz, 2B-56 ve King'sb Ruby çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin taneleri kullanılmıştır.

Tane örnekleri tam çiçeklenmeden sonra 3. haftadan başlamak üzere, genelde olgunluktan bir hafta öncesine kadar geçen sürede birer hafta aralıklarla alınmıştır (Tablo 1). Tabloda belirtilen her örnek alma tarihinde her çeşitten kesilerek laboratuvara getirilen birer salkımın 1/3'lük orta kısmında bulunan tanelerden örnekler alınmış ve bunlar % 10'luk ticari çamaşır suyu (sodyum hipoklorid içerikli) ve 1-2 damla Tween-20 içeren çözeltide 20 dakika süreyle tutularak dezenfekte edilmiştir. Binoküler mikroskop altında çıkarılan ovüller, 5 cm çapındaki yaklaşık 10 ml ortam içeren petrilere, herbirine 5-7 ovül ve her çeşitten toplam 6 petri olmak üzere yerleştirilmiştir. Kullanılan kültür ortamları da kullanma öncesi otoklavda 121°C sıcaklıkta 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Ovüller, ovül geliştirme ortamında 12 hafta tutulmuştur (13,16). Daha sonra bu ovüllerden çıkarılan embriyolardan canlı olanlar, önce yaklaşık 15 ml embriyo çimlendirme ortamı içeren 9x5 cm boyutlarındaki kavanozlara, 5-6'sı bir kavanoza olacak şekilde yerleştirilmiştir. Burada çimlenenler, daha sonaki büyüme için yaklaşık 12 ml embriyo büyütme ortamı içeren 15x2.5 cm boyutlarındaki deney tüplerine konulmuştur.

Tablo 1. Üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerinin tam çiçeklenme, örnek alma ve olgunluk tarihleri (gün. ay).

Çeşit	Tam çiçeklenme tarihi	Örnek alma tarihleri						olgunluk
		1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta	6. hafta	
Perlette	30.4	21.5	28.5	4.6	11.6	18.6	25.6	2.7
Flame Seedless	7.5	28.5	4.6	11.6	18.6	25.6	-	2.7
Sultani çekirdeksiz	10.5	31.5	7.6	14.6	21.6	28.6	-	5.7
Pembe çekirdeksiz	29.4	20.5	27.5	3.6	10.6	17.6	24.6	6.7
2B-56	9.5	30.5	6.6	13.6	20.6	27.6	-	11.7
King's Ruby	8.5	29.5	5.6	12.6	19.6	26.6	3.7	20.7

Araştırmada MS, Nitsch ve E20A besi ortamları kullanılmıştır. Ovüllerin bulunduğu başlangıç MS (17) ve Nitsch (18) ortamlarına, Spiegel-Roy ve ark. (6)'nın önerileri doğrultusunda 10^{-6} M GA_3 ve 10^{-5} M IAA; E20A'da (19) ise, Sarı (20)'ya göre 10^{-2} mg/l IAA ilave edilmiştir. Embriyo çimlendirme aşamasında, MS ve Nitsch ortamlarına Gray ve ark. (16)'na göre çimlenmeyi teşvik amacıyla 1 μ M BAP (Benzylaminopurine) eklenmiş ve bu ortamlarda çimlenen embriyolar daha sonra MS ve Nitsch'in büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamına aktarılmıştır. Yapılan gözlemlerde bu ortamlardaki bitkiciklerde iyi bir kök gelişiminin olmaması ve sürünlerde düzensiz büyümenin saptanması nedeniyle, bitkiciklerin yeniden başlangıçtaki ovül geliştirme ortamlarına transferi yapılmıştır. E20A ortamında, embriyo çimlendirme aşamasında bir değişiklik yapılmamıştır.

Bütün aşamalarda petri kapları içerisindeki ovüller ile tüp içerisindeki embriyolar, sıcaklığı $26\pm 2^\circ C$, fotoperiyodu 16 saat, ışıklandırması 3000-4000 lüks ($11000-15000$ wat. m^{-2}) şiddetinde olan büyüme odasında tutulmuştur. Işıklanma "Cool daylight" tipi TLD 36 w/54 floresan lambalar ile sağlanmıştır.

Üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerine ait ovül ve embriyoların değişik besi ortamlarında yetiştirilmesi ile elde edilen bulgular olarak; Çimlenen ovül, ovüllerdeki embriyo, çimlenen embriyo ve tam bitkiye dönüşüm (5) oranları incelenmiştir.

Araştırma Bulguları

Perlette çeşidinden elde edilen bulgular Tablo 2'de özetlenmiştir. MS ortamında ilk 4, Nitsch ve E20A ortamında ise 1. ve 2 örnek alma haftalarında alınan ovüllerde çimlenmenin sağlanamadığı görülmektedir. Bu çeşidin ovüllerinde canlı embriyoların, MS ortamında 4., diğer iki ortamda ise 3. örnek alma haftasından itibaren saptandığı belirlenmiş ve embriyo görülen haftaların ortalaması olarak en yüksek değer (%29.8) E20A ortamında elde edilmiştir. Embriyo çimlenme oranı üç ortamda da hayli yüksek bulunmuş ve bu bakımından en yüksek değer (% 97.4) E20A ortamında saptanmıştır. Bu ortamda çimlenen embriyoların tamamına yakını (%98.8) tam bitki oluşturmuştur. MS ve Nitsch ortamlarında çimlenenlerden tam bitki oluşturanların oranı sırasıyla % 21.4 ve % 21.1 olarak bulunmuştur.

Tablo 3'de verilen bulgulardan, Flame Seedless ovüllerinden MS ortamında çimlenen olmadığı; Nitsch ortamında 4. haftada % 13.9; E20A ortamında ise 4.

Tablo 2. Perlette üzüm çeşidinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılması ile ilgili bulgular

Örnek alınan haftalar	Besi ortamı	Çimlenen ovül (%)	Ovüldeki canlı embriyo (%)	Çimlenen embriyo (%)	Tam bitki (%)
1	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
2	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
3	MS	-	-	-	-
	Nitsch	6.9	6.9	-	-
	E20A	4.8	9.5	100	100
4	MS	-	2.6	100	-
	Nitsch	5.7	20.0	100	20.0
	E20A	2.7	8.1	100	100
5	MS	2.0	30.6	100	21.4
	Nitsch	-	19.2	100	-
	E20A	4.3	48.9	95.5	95.2
6	MS	2.1	31.3	66.7	21.4
	Nitsch	1.8	17.5	50.0	22.2
	E20A	24.6	52.6	94.1	100
ORTALAMA	MS	2.1	21.5	88.9	21.4
	Nitsch	4.8	15.9	83.3	21.1
	E20A	9.1	29.8	97.4	98.8

Tablo 3. Flame Seedless üzüm çeşidinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılması ile ilgili bulgular

Örnek alınan haftalar	Besi ortamı	Çimlenen ovül (%)	Ovüldeki canlı embriyo (%)	Çimlenen embriyo (%)	Tam bitki (%)
1	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
2	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
3	MS	-	3.3	-	-
	Nitsch	-	11.1	100	-
	E20A	-	11.5	100	-
4	MS	-	30.3	80.0	12.5
	Nitsch	13.9	48.8	93.3	-
	E20A	2.8	41.7	100	64.3
5	MS	-	11.6	20.0	-
	Nitsch	-	24.3	44.4	-
	E20A	14.3	53.6	90.9	100
ORTALAMA	MS	-	15.1	50.0	12.5
	Nitsch	13.9	28.1	79.2	-
	E20A	8.6	35.6	97.0	82.2

ve 5. örnek alma haftalarında sırasıyla % 2.8 ve % 14.3 oranında ovülün çimlendiği saptanmıştır. Ovüllerin incelenmesinden, üç ortamda da ilk iki örnek alma haftasında canlı embriyo içermedikleri belirlenmiştir. Flame Seedless embriyolarının çimlenmesi genelde başarılı olmuştur. Yalnızca MS'te 3. haftaya ait gelişen çok az sayıda embriyodan çimlenen olmamış, diğer iki haftaya ait embriyolardan ortalama % 50.0'sinin çimlendiği saptanmıştır. Ortalama embriyo çimlenme oranının Nitsch (% 79.2) ve E20A (% 97.0) ortamlarında oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Nitsch ortamında çimlenen embriyolardan hiçbiri tam bitkiye dönüşmemiş, MS'te % 12.5; E20A ortamında ise % 82.2 ortamında tam bitkiye dönüşüm gerçekleşmiştir.

Sultani çekirdeksiz ovüllerinden MS ortamında çimlenen olmamış; Nitsch ortamında ilk 4; E20A ortamında ise son 4 örnek alma haftasında alınan ovüllerde çimlenme saptanmıştır (Tablo 4). Aynı Tabloda görüldüğü gibi MS ortamında 4., Nitsch'te 1-4., E20A'da ise bütün haftalarda alınan ovüllerde, gelişen embriyo saptanmıştır. E20A ortamındaki 1., 2. ve 4., Nitsch'teki 3. ve 4.; MS'te ise 4. örnek alma haftalarında alınan embriyolardan tamamına yakını çimlenmiştir. Çimlenme oranları MS'te ve E20A'da %100.0, Nitsch'te % 83.4 olarak belirlenmiştir. Tam bitki oluşumu yalnızca 4. örneklerin E20A ortamında çimlenen embriyolarında gerçekleşmiştir.

Tablo 5'te verilen bulgulara göre Pembe çekirdeksiz çeşidinde, MS ve Nitsch ortamında 5. ve 6.; E20A'da

Tablo 4. Sultani çekirdeksiz üzüm çeşidinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılması ile ilgili bulgular

Örnek alınan haftalar	Besi ortamı	Çimlenen ovül (%)	Ovüldeki canlı embriyo (%)	Çimlenen embriyo (%)	Tam bitki (%)
1	MS	-	-	-	-
	Nitsch	4.3	4.3	-	-
	E20A	-	6.9	100	-
2	MS	-	-	-	-
	Nitsch	8.0	8.0	-	-
	E20A	3.3	6.7	100	-
3	MS	-	-	-	-
	Nitsch	5.3	13.2	66.7	-
	E20A	4.0	4.0	-	-
4	MS	-	7.0	100	-
	Nitsch	2.1	6.4	100	-
	E20A	3.0	12.1	100	100
5	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	5.0	5.0	-	-
ORTALAMA	MS	-	7.0	100	-
	Nitsch	4.9	8.0	83.4	-
	E20A	3.8	6.9	100	100

ise 3., 4. ve 6. örnek alma zamanlarında ovül çimlenmesi saptanmıştır. Ovüllerden ortalama olarak MS, Nitsch ve E20A'da sırasıyla % 16.5, % 13.3 ve % 17.5 gibi değişen oranlarda embriyo çıkmıştır. Embriyolar, MS, Nitsch ve E20A ortamlarında sırasıyla, ortalama % 83.3, %92.9 ve % 98.6 oranlarda başarıyla çimlenmiştir. Ancak, çimlenen embriyolardan Nitsch'te hiçbiri, MS'te çok azı (% 28.6) tam bitki oluşturmuştur. Bu bakımından en yüksek orana (%81.2) E20A ortamında ulaşılmıştır.

Tablo 6'dan, MS ortamına konulan 2B-56 ovüllerinden hiç birinin çimlenmediği, buna karşın Nitsch'te 1.; E20A'da ise 5. örnek alma haftasında alınan ovüllerde çimlenmenin olduğu belirlenmiştir. Ovüllerin incelenmesinden, MS'te 1. ve 2.; Nitsch ve E20A ortamlarında ise 2. hafta dışındaki örnek alma tarihlerinde canlı embriyoların varlığı saptanmıştır. En

Tablo 5. Pembe çekirdeksiz üzüm çeşidinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılması ile ilgili bulgular

Örnek alınan haftalar	Besi ortamı	Çimlenen ovül (%)	Ovüldeki canlı embriyo (%)	Çimlenen embriyo (%)	Tam bitki (%)
1	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
2	MS	5.0	15.0	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	22.2	100	100
3	MS	-	11.1	100	-
	Nitsch	-	3.7	-	-
	E20A	9.1	9.1	100	100
4	MS	-	20.8	100	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	4.3	8.7	100	-
5	MS	-	17.1	33.3	-
	Nitsch	1.8	14.5	85.7	-
	E20A	-	13.2	100	40.0
6	MS	6.8	18.6	100	28.6
	Nitsch	10.9	21.8	100	-
	E20A	9.1	34.5	92.9	84.6
ORTALAMA	MS	5.9	16.5	83.3	28.6
	Nitsch	6.3	13.3	92.9	-
	E20A	9.1	17.5	98.6	81.2

Tablo 6. 2B-56 üzüm çeşidinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılması ile ilgili bulgular

Örnek alınan haftalar	Besi ortamı	Çimlenen ovül (%)	Ovüldeki canlı embriyo (%)	Çimlenen embriyo (%)	Tam bitki (%)
1	MS	-	-	-	-
	Nitsch	7.7	11.5	-	-
	E20A	-	3.7	100	-
2	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
3	MS	-	3.1	-	-
	Nitsch	-	12.8	20.0	-
	E20A	-	3.0	100	-
4	MS	-	19.6	27.3	-
	Nitsch	-	31.6	38.9	-
	E20A	-	27.4	82.4	35.7
5	MS	-	40.0	22.2	-
	Nitsch	-	15.8	66.7	-
	E20A	4.8	26.2	77.8	28.6
ORTALAMA	MS	-	20.9	24.8	-
	Nitsch	7.7	13.4	41.9	-
	E20A	4.8	15.1	90.1	32.2

yüksek embriyo çimlenmesi; % 90.1 oranla E20A ortamından elde edilmiştir. Yalnızca bu ortamda 4. ve 5. örneklerde çimlenen bir kısım embriyo tam bitki olarak kabul edilecek kadar gelişebilmiştir (Ortalama % 32.2).

King's Ruby çeşidinde başlangıç kültür ortamına konulan ovüllerde yalnızca MS'te 6.; Nitsch'te 4.; E20A'da ise 4., 5. ve 6. örnek alma haftalarında çimlenmenin varlığı saptanmış olup, ortalama çimlenme oranları MS, Nitsch ve E20A'da sırasıyla % 3.4, % 3.2 ve % 9.7 olarak bulunmuştur. (Tablo 7). MS'te 1., 2. ve 3.; Nitsch'te 1. ve 3.; E20'da ise 1. hafta alınan örneklerde embriyo görülmemiştir. Bütün ortamlarda genelde yüksek embriyo çimlenme oranları (E20A'da % 95.0; Nitsch'te % 79.2 ve MS'te %

Tablo 7. King's Ruby üzüm çeşidinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltılması ile ilgili bulgular

Örnek alınan haftalar	Besi ortamı	Çimlenen ovül (%)	Ovüldeki canlı embriyo (%)	Çimlenen embriyo (%)	Tam bitki (%)
1	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	-	-	-
2	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	3.2	100	-
	E20A	-	9.7	100	100
3	MS	-	-	-	-
	Nitsch	-	-	-	-
	E20A	-	4.0	100	-
4	MS	-	4.1	-	-
	Nitsch	3.2	12.9	66.7	-
	E20A	4.4	17.8	100	16.7
5	MS	-	11.1	50.0	25.0
	Nitsch	-	24.0	83.3	-
	E20A	10.9	25.5	75.0	100
6	MS	3.4	13.8	-	-
	Nitsch	-	31.0	66.7	16.7
	Ezon	13.8	24.1	100	100
ORTALAMA	MS	3.4	9.7	50.0	25.0
	Nitsch	3.2	17.8	79.2	16.7
	E20A	9.7	16.2	95.0	79.2

50.0) saptanmıştır. Burada da tam bitki oluşumu bakımından E20A daha üstün bulunmuş olup, 4. hafta dışındakilerde, çimlenen embriyolardan tamamı tam bitkiye dönüşmüştür. Bu ortamda ortalama tam bitki oluşumu % 79.2 olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Bulgular genel olarak değerlendirildiğinde Perlette ve Flame Seedless'te tam çiçeklenmeden sonra 6. hafta; Pembe çekirdeksiz ve King's Ruby'de 5. haftadan itibaren, kullanılan besi ortamlarına göre değişen oranlarda embriyo gelişmesi saptanmıştır. Bu sonuçlar, Cain ve ark. (4) ile Spiegel-Roy ve ark. (5) nin sonuçlarını desteklemiştir; Goldy ve ark. (14,15), Goldy ve Amborn (11), Gray ve ark. (16), Tsolova (12) ile Fernandez ve ark. (13), nin çalışmalarında kullandıkları ve tarafımızdan da dikkate alınan örnek alma tarihlerinin isabetli olduğunu göstermiştir. Sonuçlarımız, aralarında Perlette ve Sultanı çekirdeksiz çeşidinin de bulunduğu çeşitlerde, Singh ve Brar (7)'in ovül örneklerinin tam

çiçeklenmeden itibaren 20 gün sonraya kadar alınmasını önerdikleri bulgularından farklılık göstermektedir. Bu farklılığın, söz konusu çalışmada embriyo gelişiminin yalnızca görsel olarak incelenmesi ve herhangi bir kültüre alma yönünde çalışılmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Başlangıç kültür ortamında ovül çimlenmesi genelde düşük olmuştur. Bu durum, muhtemelen bütün ovüllerde düşük oranda canlı embriyonun olmasından kaynaklanmıştır (Tablo 2-7). Ortamlar arasındaki farklılık da bileşimlerdeki maddelerin miktar ve nitelik bakımından farklı olmasına bağlanmaktadır. Besi ortamlarının genel ortalaması dikkate alındığında bu bakımdan en yüksek değer E20A ortamında saptandığı görülmektedir.

Embriyo çimlenmesi bakımından ortalamalara göre genel bir değerlendirme yapıldığında, embriyoların E20A ortamında % 90.1 (2B-56'da); Nitsch ortamında ise 2B-56 (% 41.9) dışındaki çeşitlerde % 79.2'nin üzerinde bir başarıyla çimlendikleri görülmüştür. MS besi ortamında ise embriyo çimlenmesinin Perlette, Sultanı çekirdeksiz ve Pembe çekirdeksiz çeşitlerinde % 83.3'ün üzerinde, Flame Seedless ve King's Ruby'de % 50.0, 2B-56'da ise % 24.0 olduğu belirlenmiştir. MS ve Nitsch ortamlarında çimlenen embriyolarda genel olarak, daha sonraki büyüme düzenli olmamıştır. Bunun, E20A ortamından farklı olarak bu ortamların bileşiminde başlangıçta bulunan IAA ve GA₃'ün embriyo çimlendirme ortamından çıkarılarak yerine 1 µM BAP konmasından (16) kaynaklandığı düşünülmektedir. Şekilsiz çimlenme gösteren bu embriyolar, tam bitki oluşumunun teşviki amacıyla Spiegel-Roy ve ark. (5)'nin çalışmaları örnek alınarak yeniden başlangıç ortamına alındığı halde başarı sağlanamamıştır. Aynı ayrı bütün çeşitlerde saptanan değerler, yalnızca E20A ortamında çimlenen embriyolardan yüksek oranda tam bitki oluşumunun gerçekleştiğini göstermiştir.

Sonuç olarak, çekirdeksiz çeşitlerin "embriyo kültürü" tekniği kullanılarak başarıyla çoğaltılabileceği ve bunun çekirdeksiz x çekirdeksiz melezlemeleri yoluyla yeni çekirdeksiz çeşitlerin elde edilmesini sağlayabilecek bir teknik olduğu söylenebilmektedir.

Kaynaklar

1. Barış, C., Gümil, K., Üzüm çeşitlerinde (*V. vinifera* L.) çekirdeksizliğin kalıtımı, Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Tekirdağ, 47 s., 1991.
2. Anonymous, Bulletin de L'O.I.V., 1991.
3. Loomis, N.H. and Weinberger, J.H., Inheritance studies of seedlessness in grapes, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 104, 2, 181-184, 1979.
4. Cain, D.W., Emershad R.L., Tarailo, R.E., In-ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.), Vitis, 22, 9-14, 1983.

5. Spiegel-Roy, P., Sahar, N., Baron, J., Lavi, U., In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 110, 1, 109-112, 1985.
6. Spiegel-Roy, P., Baron, Y., Sahar, N., Inheritance of seedlessness in seeded x seedless progeny of *Vitis vinifera* L., Vitis, 29, 79-83, 1990.
7. Singh, Z., Brar, S.J.S., In vitro development of ovule in seedless and seeded cultivars of grapes (*Vitis vinifera* L.)-a particular reference to in ovule embryo culture, Vitis, 31, 77-82, 1992.
8. Ramming, D.W., The use of embryo culture in fruit breeding, Hortscience, 25,4, 393-398, 1990.
9. Ramming, D.W. Embryo culture. Moore, J.N. and Janick, J., (Editors), In methods in fruit breeding, 136-142, 1983.
10. Ramming, D.W. and Emershad, R.L., Embryo culture of early-ripening seeded grape genotypes. HortScience 19:594. (Abstr.),1984.
11. Goldy, R.G., Amborn, U., In vitro culturabilty of ovules from 10 seedless grape clones, Hortscience, 22, 5, 952, 1987.
12. Tsołova, V., Obtaining plants from crosses of seedless grapevine varieties by means of in vitro embryo culture, Vitis, 29, 1-4, 1990.
13. Fernandez, G.E., Clark, J.R., Moore, J.N., Effect of seedcoat manipulation on the germination stenospermocarpic grape embryos cultured in ovule, Hortscience, 26, 9, 1220, 1991.
14. Goldy, R.G., Emershad, R., Ramming, D., Chaparro, J.X., Embryo culture as a means of introgressing seedlessness from *Vitis vinifera* to *V. rotundifolia*, Hortscience, 23, 5, 886-889, 1988.
15. Goldy, R.G., Ramming, D.W., Emershad, R.L., Chaparro, J.X., Increasing production of *V. vinifera* x *V. rotundifolia* hybrids through embryo rescue, Hortscience, 24, 5, 820-822, 1989.
16. Gray, D.J., Fisher, L.C., Mortensen, J.A., Comparison of methodologies for in ovule embryo rescue of seedless grapes. Hortscience, 22, 6, 1334-1335, 1987.
17. Murashige, T., Skoog, F.M., A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol. Plant., 15, 473-497, 1962.
18. Nitsch, J.P., Nitsch, C., Haploid plant from pollen grains, Science, 163, 85-87, 1969.
19. Sauton, A., Recherche d'haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.: etude et application a la selection de la parthenogenese induite par du pollen irradie. These (Docteur nouveau regime), specialite: Biologie et physiologie Vegetales, Universite des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 123 p., 1987.
20. Sarı, N., Karpuzlarda ışınlanmış polen uyarımıyla haploid bitki eldesi üzerine genotipin ve mevsimin etkisi ile ışınlama yerine geçebilecek uygulamalar üzerinde çalışmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 244 s., 1994.