

Erkenci Üzüm Çeşitlerinde (*Vitis vinifera* L.) Embriyo Kültürü ve Embriyo Canlılığı Üzerine Çalışmalar

Onur ERGÖNÜL^{1,*}, Cengiz ÖZER², Zeliha ORHAN ÖZALP³, Tamer UYSAL⁴, İlknur KORKUTAL⁵

^{1,2,3,4}Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Tekirdağ, ⁵Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ

¹<https://orcid.org/0000-0002-2251-426X>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9833-3975>, ³<https://orcid.org/0000-0002-3146-6888>,

⁴<https://orcid.org/0000-0003-0171-0605>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-8016-9804>

✉: onur.ergonul@tarimorman.gov.tr

ÖZET

Embriyo kültürü ıslah çalışmalarına entegre edilerek çalışmaların etkinliğini arttıran ve kombinasyonlar üzerinde oluşan olumsuzlukları aşmaya yarayan bir doku kültürü tekniğidir. Bu teknik, asma ıslahı çalışmalarında çekirdeksizlik, erkencilik, türler arası melezlemeler ile farklı ploidi seviyesinde bitkiler elde etmeye yönelik olarak kullanılmaktadır. Üzümde erkencilik özellikle sofralık üretim amaçlandığında aranan karakterlerden biridir. Ancak ıslah çalışmalarında çekirdeklerindeki düşük çimlenme oranları dolayısıyla erkenci çeşitler etkin bir şekilde kullanılamamaktadırlar. Bu kısıtı aşmak adına kullanılan embriyo kültürü çalışmaları ile embriyoların dejenere olması engellenerek yeni çeşit adaylarının ortaya çıkması sağlanmaktadır. Bu çalışmada erkenci çeşitler ana ebeveyn olarak kullanılmış, oluşturulan melezleme kombinasyonlarından elde edilen çekirdeklerin bir kısmı *in vivo*da çimlendirilmiştir. Kalan çekirdekler ise son tozlamadan sonraki haftalara dikkat edilerek *in vitro*da E20A besi ortamına alınmıştır. Üzerinde çalışılan Yalova İncisi, Trakya İlkeren, Tekirdağ Sultanı, Cardinal, Velika ve Bozcaada Çavuşu çeşitlerinin son tozlamadan sonra optimum kültüre alınma süreleri tespit edilmiştir. Özellikle Trakya İlkeren, Cardinal ve Velika çeşitlerinde *in vivo*da çok düşük olan çimlenme oranlarına karşın embriyo kültürü çalışmalarında yüksek embriyo canlılıklarına ulaşılmıştır. Çalışma sonucunda Trakya İlkeren ve Velika için 6., Cardinal için 7. hafta izolasyonlarının optimum kültüre alma süreleri olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 06.03.2020

Kabul Tarihi : 09.07.2020

Anahtar Kelimeler

Asma Islahı

Embriyo Kültürü

Erkencilik

Vitis vinifera L.

Studies on Embryo Culture and Embryo Viability in Early Ripening Cultivars (*Vitis vinifera* L.)

ABSTRACT

Embryo culture is a tissue culture technique that is integrated into breeding studies to increase the effectiveness of the breeding studies and to help eliminating the negativities occurring on combinations. This technique is being used for seedlessness, earliness, interspecies hybridization and obtaining plants at different ploidy levels in grapevine breeding studies. Earliness in grape is one of the desired characters, especially when it is intended for table grape production. However, due to the low germination rates in the seeds, early varieties cannot be used effectively. With the embryo culture studies used eliminating this constraint, the degeneration of embryos is prevented and new variety candidates can be obtained. Here, early ripening grape varieties were used as maternal parent and some of the seeds obtained from the hybridization combinations were germinated in *in vivo* techniques. The remaining seeds were taken into the E20A medium in *in vitro*, paying attention to the weeks after the last pollination. For embryo culture, optimum sampling time of Yalova İncisi, Trakya İlkeren, Tekirdağ Sultanı, Cardinal, Velika and Bozcaada Çavuşu varieties were determined. Despite the very low

Research Article

Article History

Received : 06.03.2020

Accepted : 09.07.2020

Keywords

Grape Breeding

Embryo Culture

Earliness

Vitis vinifera L.

germination rates in *in vivo* method in cv. Trakya İlkeren, cv. Cardinal and cv. Velika, high embryo viability was obtained in embryo culture studies. As a result of the study, it was determined that 6th weeks for Trakya İlkeren and Velika, 7th weeks for Cardinal variety were optimum sampling times.

Atf İçin: Ergönül O, Özer C, Orhan Özalp Z, Uysal T, Korkutal İ 2021. Erkenci Üzüm Çeşitlerinde (*Vitis vinifera* L.) Embriyo Kültürü ve Embriyo Canlılığı Üzerine Çalışmalar. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 24 (1): 65-71. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.700139.

To Cite: Ergönül O, Özer C, Orhan Özalp Z, Uysal T, Korkutal İ 2021. Studies on Embryo Culture and Embryo Viability in Early Ripening Cultivars (*Vitis vinifera* L.). KSU J. Agric Nat 24 (1): 65-71. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.700139.

GİRİŞ

Asma ıslahı araştırmaları; verim, kalite, çekirdeksizlik, dayanıklılık ve erkencilik amacıyla seleksiyon, melezleme, gen aktarımı ve mutasyon yöntemleriyle yapılmaktadır (Sabır ve ark. 2006). Günümüzde, moleküler teknikler ve doku kültürü gibi biyoteknolojik yaklaşımlar klasik ıslah çalışmalarına entegre edilerek yapılmakta, bu şekilde etkinliği artırılmaktadır. Embriyo kültürü (embriyo kurtarma) klasik ıslah çalışmalarıyla melez bitki elde etme şansının bulunmadığı durumlarda kullanılan bir tekniktir. Asma ıslahında çoğunlukla çekirdeksizliğin ön planda tutulduğu çalışmalarda, çekirdeksiz birey elde etme şansını artırmaya yönelik olarak bu tekniğin kullanıldığı görülmektedir. Klasik ıslah çalışmalarında çekirdekli x çekirdeksiz melezlemelerinde en yüksek % 49 oranında çekirdeksiz birey elde etme şansı varken, embriyo kültürünün kullanılmasıyla yapılan çekirdeksiz x çekirdeksiz melezlemelerinde bu oran % 92'lere çıkabilmektedir. Ayrıca erkenci çeşitlerin embriyolarında zayıf çimlenme oranı görülmesi nedeniyle bu teknik kullanılmaktadır. Bu şekilde, ıslah çalışmalarında erkenci çeşitler baba ebeveyn olarak kullanılmalarının yanı sıra ana ebeveyn olarak ta kullanılabilmekte ve erkenci birey elde etme şansı arttırılabilmektedir (Ramming ve Emershad 1990).

Bazı durumlarda tozlanma sonrası döllenme gerçekleşir fakat (1) zigot bölünmez, (2) zigot birkaç hücreli embriyo oluşturmak üzere bölünür ve daha ileri gelişme gösteremez veya ölür, (3) endosperm embriyonun gelişimini destekleyecek yapıda değildir, embriyo gelişmesinde küçük kalır ve olgunlaşamaz. Böyle durumlarda belirli bir fizyolojik olgunluğa sahip embriyonun bulunduğu tohum veya kapsüller sterilize edildikten sonra, embriyolar steril koşullarda kendilerini çevreleyen dokulardan izole edilir. Küçük embriyolu bitkilerde izolasyon sırasında embriyoların zarar görmemesine dikkat edilmelidir. Binoküler mikroskop altında izole edilen embriyolar, uygun besi ortamı ve fiziksel koşullarda kültüre alınır ve embriyolar çimlenerek yeni bitkicikleri oluşturur (Bajaj 1990).

Embriyo kültürü, asma ıslahında çekirdeksizlik ve erkencilik çalışmaları dışında haploid, triploid ve tetraploid bitki eldesine yönelik çalışmalarda da ıslaha

entegre edilerek kullanılmaktadır. Ayrıca *Vitis* türleri arasında melezlemelerin yapılması, çekirdeksizlik ile diğer özelliklerin (soğuğa dayanım, fungal hastalıklara dayanım vb.) kombine edilmesi amacıyla yürütülen çalışmalarda da kullanılmaktadır (Ji ve Wang 2013, Li ve ark. 2015). Embriyo kültüründe başarıyı genotip, izole edilen çekirdek veya ovulün fizyolojik gelişim dönemi, kültür ortamı ve diğer değişkenler etkilemektedir (Li ve ark. 2015).

Tüm bunlara ek olarak, embriyo kültürü pahalı, yoğun iş gücü gerektiren ve oldukça fazla tecrübe isteyen bir çalışmadır.

Bu araştırmada, erkenci olarak bilinen, çekirdeklerinde çimlenme sorunu olabilecek üzüm çeşitleri ile boş çekirdekli olan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinin farklı melezleme kombinasyonlarından elde edilen çekirdekleri, embriyo canlılıklarındaki değişimleri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmanın bulguları TAGEM tarafından desteklenen ve Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde "Melezleme Yoluyla Erkenci ve Geççi Üzüm Çeşitlerinin Elde Edilmesi" ismiyle (Proje No: TAGEM/BBAD/15/A08/P-04/04) yürütülen proje materyallerinden elde edilmiştir. Çalışmalar Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde bulunan Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Deneme için; Trakya İlkeren, Cardinal, Velika, Yalova İncisi, Tekirdağ Sultanı, Bozcaada Çavuşu, Tekirdağ Misketi, Barış, Tekirdağ Çekirdeksizi ve Beauty Seedless olmak üzere sofralık 10 üzüm çeşidi ve melezleme çalışmaları sonucu elde edilmiş Yalova İncisi x Barış melezi olan bir adet çeşit adayı; 44 x D-40 seçilmiştir (Çizelge 1). Bu çeşitler özellikle erkenci olarak bilinen ve tohum çimlenme kabiliyeti çok düşük olan çeşitler arasından tercih edilmiştir. Bunun yanı sıra boş çekirdekli olarak bilinen Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidi de çalışmalarda değerlendirilmiştir. Erkenci üzüm çeşitleri ile Bozcaada Çavuşu üzüm çeşitleri çalışmada ana ebeveyn olarak, diğer çekirdeksiz çeşitler ise sadece baba ebeveyn olarak kullanılmıştır.

Çekirdeksiz çeşitlerde olduğu gibi erkenci çeşitlerin birçoğunda da embriyolar gelişmenin belirli aşamalarında dejenere olmaktadır. Embriyo

dejenerasyonunu önlemek için emaskülasyon ve yapay tozlama işlemlerinden sonra aşağıda aşamaları verilen

embriyo kültürü tekniğinden yararlanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışılan çeşit bilgileri

Table 1. Informations about the subjected varieties

| | Çeşitler (Varieties) | Tane Rengi (Berry Color) | Çekirdeksizlik Durumu (Seedlessness) | Olgunlaşma Dönemi (Maturation time) |
|------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|---|--|
| Ana Ebeveynler (Female Parents) | Trakya İlkeren | Mavi siyah | Çekirdekli | Çok erken |
| | Cardinal | Kırmızı | Çekirdekli | Erken |
| | Velika | Mavi siyah | Çekirdekli | Orta erken |
| | Yalova İncisi | Yeşil sarı | Çekirdekli | Çok erken |
| | Tekirdağ Sultanı | Yeşil sarı | Çekirdekli | Orta erken |
| | Bozcaada Çavuşu | Yeşil sarı | Boş çekirdekli | Orta erken |
| Baba Ebeveynler (Male Parents) | Tekirdağ Misketi | Yeşil sarı | Çekirdeksiz | Orta erken |
| | Barış | Yeşil sarı | Çekirdeksiz | Orta |
| | Tekirdağ Çekirdeksizi | Gri | Çekirdeksiz | Orta |
| | Beauty Seedless | Mavi siyah | Çekirdeksiz | Çok erken |
| | 44 x D-40 | Yeşil sarı | Çekirdeksiz | Çok erken |

Yüzey Sterilizasyonu

Melezlenmiş salkımların hasadı son tozlama tarihinden itibaren altı ve yedinci haftalarda gerçekleştirilmiştir. Yalnızca Velika çeşidinde daha önce herhangi bir çalışma bulunmadığı için optimum kültüre alma süresinin belirlenmesi amacıyla 6. ile 10. haftalar arası değerlendirmeye alınmıştır. Embriyo aborsiyonu için fizyolojik gelişim dönemleri çeşitler bazında farklılık gösterebileceğinden, hasat ve dolayısıyla kültüre alma işlemi birkaç değişik tarihte yapılabilmektedir. Hasattan sonra salkımlardan ayrılan taneler %70'lik etil alkolde 3 dakika, %0.1'lik Tween 20 içerikli çözeltide 10 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuşlardır (Çalkan Sağlam 2006). Her defasında 5 dakika olmak üzere 3 kez steril saf su ile çalkalanarak durulanıp, dikim işleminde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir. Sterilizasyon işlemleri steril kabinde gerçekleştirilmiştir.

Embriyoların İzolasyonu ve Dikim

Embriyo kültürü tekniği çalışmalarında kullanılan besin ortamları, diğer mikroçoğaltım yöntemlerinde kullanılanlara göre daha kompleks yapıdadır. Çalışmalarda değişik besin ortamları kullanılabilmeyle birlikte E20A ortamının ön plana çıkması nedeniyle (Tangolar ve ark. 1998, Tangolar ve ark. 1999, Kebeli ve ark. 2001, Boz ve ark. 2002, Elidemir ve Uzun 2002, Çalkan Sağlam 2006, Ulaş ve ark. 2015) sterilizasyon işleminden sonra ovuller izole edilerek E20A besin ortamına dikilmiştir. İlk dikimden 8 hafta sonra ovullerde gelişimini sürdüren zigotik embriyolar çekirdeklerinden izole edilerek tekrar E20A besin ortamına dikilmişlerdir (Şekil 1). E20A ortamına 10^{-2} mgL⁻¹ IAA eklenerek pH 5.9 olacak şekilde ayarlanmıştır.

In vitro Yetiştirme Koşulları

Ovul ve embriyoların gelişimleri, sıcaklığı $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ de kontrol edilen iklim odasında 8 saat karanlık 16 saat aydınlık fotoperiyotta, 4000 lux aydınlatma şiddetine sahip iklim odasında gerçekleştirilmiştir



Şekil 1. Çimlenmiş embriyo

Figure 1. Germinating embryo

BULGULAR ve TARTIŞMA

Trakya İlkeren çeşidi çekirdeklerinde normal çimlendirme ile % 2.6 çimlenme oranı elde edilmiştir. Bu çeşidin *in vivo* çekirdek çimlenme oranları ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Embriyo kültürü çalışmalarında son tozlamadan sonraki 6. hafta uygun bulunmuş, bu dönem kültüre alınan Trakya İlkeren çekirdeklerinde % 51.1 ile % 72.4 arasında canlılık oranları tespit edilmiştir (Çizelge 2). Elidemir ve Uzun (1999) yaptıkları embriyo kültürü çalışmasında Trakya İlkeren

çeşidinin E20A ortamına alınan çekirdeklerinde, tam çiçeklenmeden sonraki 50. günde % 88.9 ve 60. günde % 89.3 embriyo canlılık oranları elde etmişlerdir. Bir diğer çalışmada Trakya İlkeren x Barış melezlemesinden, en yüksek embriyo canlılık oranları

(% 85.7) 50. günde izole edilen ve E20A ortamında görülmüştür (Elidemir ve Uzun 2002). Bu çalışmada Trakya İlkeren çeşidi için embriyo kültüründe en uygun izolasyon süresi son tozlamadan sonraki altıncı hafta (42. gün) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2. Trakya İlkeren çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlarda embriyo canlılık oranları
Table 2. Viability rates of embryo in combinations where Trakya İlkeren cultivar is used as female parent

| Kombinasyon (Combination) | İzolasyon Haftası (Isolation week) | Embriyo Alınan Çekirdek (Number of the seeds cultured) | Kültürüne Canlı Sayısı (Number of the live embryos) | Embriyo Canlılık Yüzdesi % (Embryo percentage from seeds (%)) |
|--------------------------------------|---|---|---|--|
| Trakya İlkeren x Tekirdağ Misketi | 6 hafta | 76 | 55 | 72.4 |
| | 7 hafta | 117 | 52 | 44.4 |
| Trakya İlkeren x Barış | 6 hafta | 185 | 122 | 65.9 |
| | 7 hafta | 99 | 51 | 51.5 |

In vivo şartlarda Cardinal çeşidinin çekirdeklerinde çimlenme oranları % 2.9'da kalmıştır. Bu çeşidin çekirdek çimlenmeleri üzerine yapılan çalışmalar benzer değerler vermektedir. Branäs (1974) % 8.6 çekirdek çimlenme oranı elde ederken, Yalvaç (2006) bu çeşitte çimlenen hiçbir çekirdek olmadığını belirtmiştir. Ayrıca Ramming ve Emershad (1990) dört yıllık *in vivo* çimlendirme oranı ortalamasını % 13 olarak kaydetmişlerdir. Aynı çalışmada orchid agar

ortamı kullanılarak *in vitro*'ya alınan (son tozlamadan yaklaşık 12 hafta sonra) çekirdeklerde % 31.7 embriyo çimlenme oranına ulaşmışlardır. Cardinal çeşidi erkenci ve bazı araştırmacılara göre boş çekirdekli olarak da kabul edilmektedir (Çelik ve Karlı İlbağ 2003). Dolayısıyla çekirdeklerinin düşük çimlenme kabiliyeti buna bağlanabilir. Cardinal çeşidinin embriyo kültürüne alınan (son tozlamadan 7 hafta sonra) çekirdekleri % 70.6 gibi yüksek bir oranda canlı embriyo oluşturmuşlardır (Çizelge 3).

Çizelge 3. Cardinal çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonda embriyo canlılık oranları
Table 3. Viability rates of embryo in combination where Cardinal cultivar is used as female parent

| Kombinasyon (Combination) | İzolasyon Haftası (Isolation week) | Embriyo Alınan Çekirdek (Number of the seeds cultured) | Canlı Sayısı (Number of the live embryos) | Embriyo Canlılık Yüzdesi % (Embryo percentage from seeds (%)) |
|-------------------------------------|---|---|--|--|
| Cardinal x Tekirdağ Çekirdeksizi | 6 hafta | 28 | 16 | 57.1 |
| | 7 hafta | 85 | 60 | 70.6 |

Velika çeşidinin 2018 yılında melezleme çalışmalarında kullanılmasıyla elde edilen çekirdekleri normal çimlendirme şartlarında % 4.14 gibi düşük bir oranda çimlenmiştir. Velika çeşidi çekirdeklerinin çimlenmesi ile ilgili herhangi bir literatür bilgisi olmadığından bulgularla karşılaştırılamamıştır. 2019 yılında Velika x Trakya İlkeren kombinasyonuna ait çekirdekler embriyo

kültürüne alınmış ve son tozlamadan 6 ile 10 izolasyon haftaları arasında çalışmalar yürütülmüştür (Çizelge 4). İzolasyon haftası olarak 8 ve 6. haftalar embriyo canlılığı açısından iyi sonuçlar vermiştir (sırasıyla % 66.7 ve % 61.1). İzolasyon zamanı olarak sekizinci hafta daha yüksek canlı embriyo vermiş olsa da, altıncı haftadan elde edilen embriyoların gelişimlerinin oldukça iyi olduğu görülmüştür.

Çizelge 4. Velika çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonda embriyo canlılık oranları
Table 4. Viability rates of embryo in combination where Velika cultivar is used as female parent

| Kombinasyon (Combination) | İzolasyon Haftası (Isolation week) | Embriyo Alınan Çekirdek (Number of the seeds cultured) | Canlı Embriyo Sayısı (Number of the live embryos) | Canlılık Yüzdesi % (Embryo percentage from seeds (%)) |
|------------------------------|---|---|---|---|
| Velika x Trakya İlkeren | 6 hafta | 18 | 11 | 61.1 |
| | 7 hafta | 21 | 11 | 52.4 |
| | 8 hafta | 18 | 12 | 66.7 |
| | 9 hafta | 23 | 13 | 56.5 |
| | 10 hafta | 28 | 12 | 42.9 |

Diğer bir erkenci çeşit olan Yalova İncisi çeşidinde normal çimlendirme çalışmaları ıslah çalışmaları için kabul edilebilir düzeylerde (çimlenme oranları % 42.75- % 79.11) gerçekleşmiştir (Çizelge 5). *In vivo* şartlarda bu çimlenme oranlarına sahip çeşitler için ıslah çalışmalarında yeterli sayıda birey elde etmek mümkündür. Dolayısıyla Yalova İncisi çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonların embriyo kültüründe çalışılmasına gerek görülmemiştir. Yalvaç (2006) Yalova İncisi çekirdeklerinin en yüksek çimlenme oranını % 13.33 olarak tespit etmiştir. Bu

çimlenme oranı bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre oldukça düşüktür.

Tekirdağ Sultanı sofralık üzüm çeşidinin Beauty Seedless ile yapılan melezlemelerinden elde edilen çekirdeklerin embriyo kültüründeki embriyo canlılık oranları altıncı ve yedinci haftalarda sırasıyla % 31.7 ve % 36.7 olarak kaydedilmiştir (Çizelge 6). Tekirdağ Sultanına ait hem *in vivo* hem de *in vitro* çekirdek canlılık oranları ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Çizelge 5. Yalova İncisi çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlarda embriyo canlılık oranları
Table 5. Viability rates of embryo in combinations where Yalova İncisi cultivar is used as female parent

| Kombinasyon (Combination) | İzolasyon Haftası (Isolation week) | Embriyo Alınan Çekirdek (Number of the seeds cultured) | Kültürüne (Number of the seeds cultured) | Canlı Sayısı (Number of the live embryos) | Embriyo Canlılık Yüzdesi % (Embryo percentage from seeds (%)) |
|-------------------------------------|---|---|--|--|--|
| Yalova İncisi x Tekirdağ Misketi | 6 hafta | 20 | | 17 | 85.0 |
| | 7 hafta | 17 | | 15 | 88.2 |
| Yalova İncisi x Beauty Seedless | 6 hafta | 89 | | 36 | 40.4 |
| | 7 hafta | 95 | | 64 | 67.4 |

Çizelge 6. Tekirdağ Sultanı çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonda embriyo canlılık oranları
Table 6. Viability rates of embryo in combination where Tekirdağ Sultanı cultivar is used as female parent

| Kombinasyon (Combination) | İzolasyon Haftası (Isolation week) | Embriyo Alınan Çekirdek (Number of the seeds cultured) | Kültürüne (Number of the seeds cultured) | Canlı Sayısı (Number of the live embryos) | Embriyo Canlılık Yüzdesi % (Embryo percentage from seeds (%)) |
|---------------------------------------|---|---|--|--|--|
| Tekirdağ Sultanı x Beauty Seedless | 6. hafta | 41 | | 13 | 31.7 |
| | 7. hafta | 30 | | 11 | 36.7 |

Bozcaada Çavuşu boş çekirdekli olarak bilinen bir çeşit olduğundan, endosperm ve embriyo oluşumları sıkıntılıdır, çekirdeklerinde çimlenme sorunu yaşamaktadır. Çalışma sürecinde klasik çimlendirmede % 46.5 çimlenme oranına ulaşılmış, bu oran embriyo kültürü çalışmalarında ise % 94.8 gibi oldukça yüksek bir embriyo canlılık oranı değerine erişmiştir (Çizelge 7). Marasalı (1992) Çavuş çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı ve farklı tozlayıcılarla oluşan kombinasyonlardan elde edilen çekirdekler *in vivo* şartlar altında % 1.17 ile % 7.93 oranında

çimlenme elde etmiştir. Diğer bir çalışmada, *in vitro* şartlar altında E20A ortamı kullanıldığında, Bozcaada Çavuşu x Alphonse Lavallee' kombinasyonunda % 41.6 ve Bozcaada Çavuşu x Sultanı Çekirdeksiz kombinasyonunda % 55.6 embriyo çimlenme oranları elde edilmiştir (Çelik ve Karlı İlbay 2003). Çalışma bulguları ile diğer literatür bulguları arasındaki farklılıkların kullanılan tozlayıcı çeşit ve kültüre alma zamanındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 7. Bozcaada Çavuşu çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonda embriyo canlılık oranları
Table 7. Viability rates of embryo in combination where Bozcaada Çavuşu cultivar is used as female parent

| Kombinasyon (Combination) | İzolasyon Haftası (Isolation week) | Embriyo Alınan Çekirdek (Number of the seeds cultured) | Kültürüne (Number of the seeds cultured) | Canlı Sayısı (Number of the live embryos) | Embriyo Canlılık Yüzdesi % (Embryo percentage from seeds (%)) |
|--------------------------------|---|---|--|--|--|
| Bozcaada Çavuşu x (44xD-40) | 6. hafta | 115 | | 109 | 94.8 |
| | 7. hafta | 97 | | 80 | 82.5 |

SONUÇ

Bilindiği üzere erkenci özellikteki üzüm çeşitlerinin embriyoları hızlı olgunlaşma sürecinde gelişemediklerinden büyük oranda dejenere olmakta,

bu çeşitlerin ana ebeveyn olarak kullanıldıkları kombinasyonlardan yeterli sayıda bitki eldesi mümkün olamamaktadır. Bu problemi ortadan kaldırmak, erkencilğe yönelik hem daha fazla sayıda

aday çeşit elde edebilmek hem de her iki ebeveynin erkenci genotiplerden seçilmesi suretiyle varyasyon yaratabilmek amacıyla embriyo kültürü tekniği kullanılmaktadır.

Araştırmada erkencilğe yönelik ıslah çalışmalarında erkenci çeşitlerin ana ebeveyn olarak kullanılmasına yönelik embriyo kültürü çalışmaları yürütülmüş, bulgulara göre normal çimlendirme ile birey elde etme şansı çok düşük olan kombinasyonlardan erkenci olma olasılığı yüksek çeşit adayları elde edilmiştir.

Üzerinde çalışılan Yalova İncisi, Trakya İlkeren, Tekirdağ Sultanı, Cardinal, Velika ve Bozcaada Çavuşu çeşitlerinin son tozlamadan sonra optimum kültüre alınma süreleri tespit edilmiştir. Özellikle Trakya İlkeren, Cardinal ve Velika çeşitlerinde *in vivo*'da çok düşük olan çimlenme oranlarına karşın embriyo kültürü çalışmalarında yüksek embriyo canlılıklarına ulaşılmıştır. Çalışma sonucunda Trakya İlkeren için 6., Cardinal için 7., Velika çeşidi için ise 6. hafta izolasyonlarının optimum kültüre alma süreleri olduğu tespit edilmiştir.

Embriyo kültürü çalışmalarında erkenci çeşitlerin ana ebeveyn olarak kullanılması durumunda, canlı embriyo elde edebilmek için, optimum örnek alma zamanlarının çeşitlere bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Örneğin, erkenci çeşitlerde embriyo dejenerasyonu daha erken dönemde görülürken, geççi çeşitlerde daha geç dönemde dejenerasyon gerekebilmekte, ancak bu sınıflandırma embriyo kültürü çalışmalarının etkinliği ve dolayısıyla melez bitki eldesi açısından yeterli olmamaktadır. Dolayısıyla her çeşitte embriyo kültürü çalışmaları için optimum örnek alma zamanlarının tespiti gerekmektedir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Bajaj YPS 1990. Wide Hybridization in Legumes and Oilseed Crops Through Embryo, Ovule and Ovary Culture. In: Bajaj Y. P. S. (ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry, 10, Legumes and Oilseed Crops I. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 337.

Boz Y, Kebeli N, Özer C 2002. Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerinden Yeni Hibritlerin Elde Edilmesinde Embriyo Kültürünün Kullanılması Üzerinde Araştırmalar. Türkiye V. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu Bildiriler, 5-9 Ekim 2002, s:53-56.

Branas J 1974. Viticulture. Imprimerie Dehan.

Montpellier. 356s.

Çalkan Sağlam, Ö 2006. Sultani Çekirdeksiz Üzüm Çeşidinin Ebeveyn Olarak Kullanıldığı Melezlemelerden Embriyo Kültürü Yoluyla Bitki Eldesi Üzerinde Araştırmalar. MBAE Yayınları. Yayın No:112.

Çelik H, Karlı İlbay A 2003. The Use of in Ovulo Embryo Culture for Cross-Breeding Studies of Empty-Seeded Table Grape Cultivars. ISHS Acta Horticulturae. 603.

Goldy RG, Ramming DW, Emershad RL, Chaparro JX 1989. Increasing Production of *Vitis vinifera* X *V. Rotundifolia* Hybrids through Embryo Rescue. Hort. Science 24: 820-822.

Elidemir A, Uzun Hİ 2002. Melez Üzümlerin (*Vitis vinifera* L.) Embriyo Kültürü Yoluyla Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Türkiye 5. Bağcılık ve Şarapçılık Sempozyumu Bildiriler, 5-9 Ekim 2002, s: 262-269.

Ji W, Wang Y 2013. Breeding for Seedless Grapes Using Chinese Wild *Vitis* spp. II. *In vitro* Embryo Rescue and Plant Development. J Sci. Food Agric., 93: 3870-3875.

Karlı A, Çelik H 1996. Erkenci Sofralık Üzüm Çeşitlerinde Embriyo Kültürü Üzerinde Araştırmalar. XIII Ulusal Biyoloji Kongresi, Cilt: 2, s: 1-10, İstanbul.

Kebeli N, Boz Y, Özer C 2003. Studies on The Applying of Embryo Culture in Breeding New Hybrids by Crossing Seedless Grape Cultivars. Acta Hort., 625: 279-281.

Li J, Wang X, Wang X, Wang Y 2015. Embryo Rescue Technique and Its Applications for Seedless Breeding in Grape. Plant Cell Tiss Organ Cult., 120: 861-880.

Marasalı B 1992. Çavuş Üzüm Çeşidinde Tohum Taslakları ve Embriyo Gelişimi ile Boş Çekirdekliklik Arasındaki İlişkiler Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. (Basılmamış Doktora tezi), Ankara. 93s.

Ramming DW, Emershad RL 1990. Embryo Culture of Early Ripening Seeded Grape (*Vitis vinifera* L.) Genotypes. Hortscience, 25(3): 339-342.

Sabır A, Tangolar S 2006. Dünyada Son Yıllarda Yürütülen Asma Islahı Çalışmalarının Hedefleri ve Kullanılan Islah Yöntemleri. Alatarım, 5(2): 9-16.

Tangolar S, Gök S, Ergenoğlu F, Çetiner S 1998. Bazı Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerinin Embriyo Kültüründen Yararlanılarak Çoğaltılması. Türk Tarım ve Orman Dergisi, 22(1): 87-92.

Tangolar S, Eti S, Gök S, Ergenoğlu F 1999. Çekirdeksiz x Çekirdeksiz Üzüm Melezlemelerinden Embriyo Kültürü Kullanılarak Bitki Elde Edilmesi. Tr. J. of Agriculture and Forestry 23 (Ek Sayı 4): 935-942.

Tsolova V 1990. Obtaining Plants from Crosses of Seedless Grapevine Varieties by Means of *in vitro* Embryo Culture. Vitis, 29: 1-4.

- Ulaş S, Kesgin M, Dilli Y 2015. The Success of *in vitro* Embryo Rescue Technique in Hybridization of Seedless Grape Varieties. BIO Web of Confernces 5, 01008.
- Yalçın Elidemir A, Uzun HA 1999. Erkenci ve Çekirdeksiz Üzümlerin (*Vitis vinifera* L.) Embriyo Kültürü Yoluyla Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Derg., 12: 93-106.
- Yalvaç T 2006. Bazı Uygulamaların Üzüm Çekirdeklerinin Çimlenme Oranı ve Hızına Etkileri Üzerine Bir Araştırma. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Ens. Yüksek Lisans Tezi. Isparta. 55s.