

Araştırma Makalesi/Article

## Asmada (*Vitis vinifera* L.) *in vitro* I. Tip Kallus Eldesi Üzerine Çeşit, Besin Ortamı ve Eksplant Tipinin Etkisi

Nurhan KESKİN<sup>1\*</sup> Birhan KUNTER<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

\*E- posta: nurhan\_keskin@yahoo.com; Tel: +90 432 2251024 /1658, Faks: +90 432 2251104

**Özet:** Bu çalışmada; Kalecik karası, Öküzgözü, Erciş ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitlerinde ikincil bitki ürünü üretmek amacıyla elde edilen kallusların kalitesi üzerine; çeşit, besin ortamı ve eksplant tipinin etkisi araştırılmıştır. Eksplant kaynağı olarak sürgünlerin orta bölümünden alınan yaprak ayası ve boğum araları kullanılmıştır. Dikimler, 1.0 µM BAP (6-benzilaminopürin), 0.1 µM 2,4-D (2,4-diklorofenoksi-asetik asit), sakkaroz (%2) ve agar (% 0.8 ) ilave edilmiş MS ve Gamborg B5 katı temel besin ortamlarına yapılmıştır. Hazır besin ortamlarından MS besin ortamı saf su içerisine litreye 4.4 g, B5 ortamı ise 3.2 g katılarak hazırlanmıştır. Her iki besin ortamının da pH değeri 5.7'ye ayarlanmıştır. Kalluslar karanlıkta ve 25°C'de inkübe edilmiş ve 21 gün ara ile iki defa alt kültüre alınmıştır. Araştırma sonucunda, kallus kalitesini ifade eden I. tip kallus oluşumunun besin ortamı, üzüm çeşidi ve eksplant tipine göre değiştiği belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan iki farklı besin ortamından B5 besin ortamının, I. tip kallus oluşumu bakımından MS ortamına göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. En yüksek I. tip kallus oluşumu gösteren üzüm çeşidi Cabernet Sauvignon (%74.73), en düşük I. tip kallus oluşumu gösteren üzüm çeşidi ise Öküzgözü (%23.20) olmuştur. Kullanılan eksplant dikkate alındığında, I. tip kallus oluşumu bakımından yaprak ayalarının boğum aralarına göre daha başarılı sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Vitis vinifera* L., Çeşit, Eksplant, Kallus kültürü, Kallus kalitesi

### The Effect of Cultivar, Nutrient Media and Explant Type on Obtaining of *in vitro* Type I Callus in Grapevine (*Vitis vinifera* L.)

**Abstract:** In this study, the effects of cultivar, nutrient media and explant type on calli quality were investigated to provide for production of secondary metabolite in “Kalecik karası”, “Öküzgözü”, “Erciş” and “Cabernet Sauvignon” grape cultivars. Lamina and internodes obtained from the middle part of the shoots were used for an explants source. Calli were planted in the media contained 1.0 µM BAP (6-benzylaminopurine), 0.1 µM 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy-acetic acid ), sucrose (2%) and agar (0.8%) and Gamborg B5 solid media. From the ready media, MS was prepared with adding 4.4 g and B5 with adding 3.2 g for per liter water. pH values of both media were fixed as 5.7. Calli were incubated in the darkness with 25°C temperature and sub-cultivated in two times with 21 d interval. As result of this study, it should be stated that type I callus formation indicated for callus quality was changed with media, genotype and explants types. From the two media, B5 was more favorable than MS for the formation of type I callus. The highest and least type I callus formations were observed in “Cabernet Sauvignon” (74.73%) and “Öküzgözü” (23.20%) respectively. As considered two explants, it was observed that lamina was more favorable for the type I callus formation.

**Key words:** *Vitis vinifera* L., Cultivar, Explant, Callus culture, Callus quality

#### Giriş

Kallus, ana bitkiden kesilip çıkartılan ve bölünme özelliğini yitirmemiş organ ve doku parçalarının, karbon kaynağı ve bitki büyüme düzenleyicileri içeren yarı katı besin ortamında büyütülmesi sonucu oluşan morfolojik düzensizliğe sahip kütleler olarak tanımlanmaktadır (Sökmen ve Gürel 2001). Bitki doku kültürü yöntemlerinden olan kallus kültürü, bitki biyoteknolojisi çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem, başta somaklonal varyasyon çalışmaları olmak üzere; somatik embriyo/organogenesis, yapay tohum oluşturma, mutasyon ıslahı ve gen transferi çalışmalarında başarıya ulaşan sonuçlar vermektedir. Kallus kültürlerinin en çok tercih edildiği çalışma alanları arasında ikincil

bitki ürünü üretimi gelmektedir. İkincil ürün üretiminde kallus kültürü diğer *in vitro* yöntemlere göre daha fazla kullanılmaktadır. Kallus kültürlerinin kullanılması ile elde edilecek hedef bileşiğin miktarı, ortamda kullanılan büyüme düzenleyici, uyarıcı veya öncü maddeler katkısı ile düzenlenerek artırılabilir (Yağcı ve ark. 2008). Kallus kültürlerinin ikincil bitki ürünü üretimindeki avantajları şu şekilde sıralanabilir (Ramachandra ve Ravishankar 2002; Lila 2005); bir örnek ürün elde etmek, yılın her döneminde üretim olanağı sağlamak, özel dokularda üretilen moleküllerin üretimi, kültüre alınması zor türlerde aşırı hasat nedeniyle olası yok edilme tehlikesinin önüne geçilmesi, sentetik veya yarı sentetik olarak elde edilemeyen ikincil ürünlerin daha ekonomik olarak elde edilmesini sağlamak ve moleküllerin biyosentez mekanizmalarının açığa çıkarılması.

Kallus kültürleri kullanılarak değişik ikincil bitki ürünlerinin üretilebileceğine ilişkin çok sayıda çalışma yapılmıştır (Parr 1989; Bouque ve ark. 1998; Ciddi ve Shuler 2000; Keller ve ark. 2000; Luczkiewicz ve ark. 2002; Stella ve Braga 2002; Luczkiewicz ve Glod 2003). Belirtilen birçok yararlarına karşın, kallus kültürleri aracılığı ile ticari anlamda ikincil ürün üretiminde ulaşılan başarı çok sınırlıdır (Sökmen ve Gürel 2001; Yağcı ve ark. 2008). Kallus kültürlerinin etkinliği üzerinde ikincil ürünlerin biyosentezi konusundaki bilgi eksikliklerinin yanı sıra, kültüre alınacak üzüm çeşidi, eksplant tipi ve kallus kalitesi de etkili olmaktadır. İkincil ürün üretiminde kullanılacak kallus dokusunun beyaz renkli, kolay dağılılabilen, gevrek ve dolgun yapıda olması istenilen bir özelliktir (Keskin 2007). Bu tip kalluslar kullanıldığında, hücre süspansiyonlarının başlatılması daha kolay gerçekleşmektedir (Gürel ve Türker 2001).

Asmada en fazla bulunan ikincil bitki ürünü resveratroidir. Gerek yurt içi gerekse yurt dışı literatür incelemelerinde, asmada *in vitro* resveratrol üretiminde; besin ortamı, eksplant tipi ve üzüm çeşidi seçiminin önemine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yöndeki eksikliği tamamlamak amacıyla planlanan bu çalışmada; dört farklı üzüm çeşidi (Kalecik karası, Öküzgözü, Erciş, Cabernet Sauvignon) kullanılarak, iki besin ortamı (MS, B5) ve değişik eksplantların (boğum arası, yaprak ayası) kallus kültüründe ikincil bitki ürünü üretiminin ilk basamağı olan uygun kallus elde edilmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

## **Materyal ve Metot**

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nde 2003-2007 yılları arasında yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak; resveratrolün renkli üzümlerin kabuğunda sentezlenmesi özelliğinden hareket ederek kırmızı tane rengine sahip Kalecik karası (Klon 12), Öküzgözü, Erciş ve Cabernet Sauvignon üzüm çeşitleri kullanılmıştır. Çizelge 1'de, üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerinin olgun salkımlarının görünüşü ve bazı özellikleri sunulmuştur.

### *Eksplantların Eldesi*

Kallus kültürü çalışmaları yaprak ayası ve boğum araları eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantların elde edilmesi için, üzüm çeşitlerinden kış dinlenme döneminde alınan ve 4°C'deki soğuk hava deposunda polietilen torbalar içerisinde muhafaza edilen bir yaşlı sürgünlerden hazırlanan iki gözlü çelikler kullanılmıştır. Hazırlanan çelikler Nisan ayının ilk haftası serada 1:1:1 oranında kum, perlit ve torf içeren polietilen torbalara dikilmiştir. Eksplant olarak kullanılacak yaprak ayaları ve boğum araları Haziran ayının üçüncü haftasında 6-7 yaprak içeren sürgünlerin orta bölümünden alınmıştır.

### *Eksplantların Sterilizasyonu*

Yaprak ayaları ve boğum araları önce çeşme suyunda, daha sonra saf suda yıkanmış, %0.01'lik Tween 20 eklenmiş % 20'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika bekletildikten sonra, steril saf su ile 5'er dakika 3 kez çalkalanarak durulanmış ve dikime hazır hale getirilmiştir.

Eksplantların sterilizasyonu için %0.01'lik Tween 20 eklenmiş % 20'lik sodyum hipoklorit çözeltisi ve saf su kullanılarak bilinen *in vitro* yüzey sterilizasyonu uygulanmıştır (Keskin 2007).

Çizelge 1. Üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerinin olgun salkımlarının görünüşü ve bazı özellikleri\*

	Kalecik karası	Öküzgözü	Erciş	C. Sauvignon
<b>Çeşitler ve özellikleri</b>				
<b>Çiçek tipi</b>	Erdişi	Erdişi	Erdişi	Erdişi
<b>Tane rengi</b>	Mavi puslu siyah	Gri puslu siyah	Mavimsi siyah	Mavi-gri puslu siyah
<b>Tane iriliği</b>	Orta, 2-2.5 g	İri, 6 g	Küçük-orta, 2 g	Küçük, 1.5 g
<b>Salkım şekli</b>	Kanatlı konik	Kanatlı konik	Dallı konik	Konik-silindirik
<b>Salkım iriliği</b>	Küçük-orta, 200 g	Çok iri, 450-550 g	Orta, 250 g	Orta, 230 g
<b>Olgunlaşma</b>	Orta mevsim	Geç	Orta mevsim	Geç
<b>Kalite Özelliği</b>	Menekşe-yakut renkli, çeşide özgü aromalı, dolgun ve dengeli şarabı ile ülkemizin en tanınmış kırmızı şaraplık çeşitlerinden birisidir.	Ülkemizin en kaliteli kırmızı şaraplık çeşitlerinden birisidir.	Şaraplık-şıralık bir çeşit olmakla birlikte, çeşide özgü aroması nedeniyle sofralık olarak da tüketilmektedir.	Koyu renkli, yüksek tanenli, menekşe bukeli, yaşlandırmaya uygun yüksek kaliteli şaraplık bir çeşittir.

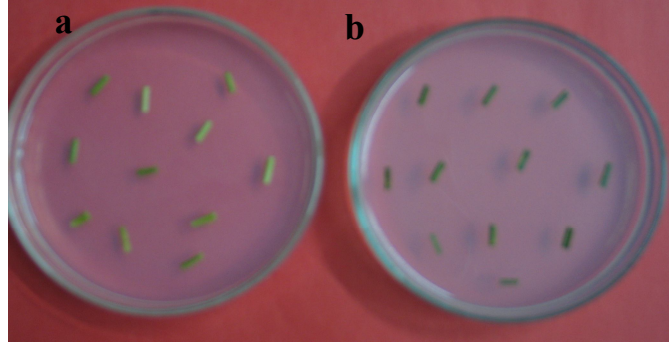
\* Uyak (2002) ve Çelik (2006)'den yararlanılarak hazırlanmıştır

#### *Kallus Kültürlerinin Kurulması*

Kallus kültürlerinde besin ortamı olarak; MS (Murashige ve Skoog 1962) katı temel besin ortamı (Sigma M0404) ve Gamborg B5 (Gamborg ve ark. 1968) katı temel besin ortamı (Sigma G5893) kullanılmıştır. Hazır besin ortamlarından MS besin ortamı saf su içerisine litreye 4.4 g, B5 ortamı ise 3.2 g katılarak hazırlanmıştır. Her iki besin ortamının pH değeri 5.7'ye ayarlanmıştır. Büyümeyi düzenleyici madde olarak, kallus gelişimini artırıcı 1.0 µM BAP (6-benzilaminopürin) ve 0.1 µM 2,4-D (2,4-diklorofenoksi-asetik asit) eklenmiştir (Keller ve ark. 2000). Sakkaroz (%2) ve agar (% 0.8 ) ilave edilen besin ortamları otoklavda (121°C'de 20 dakika) sterilize edilmişlerdir. Yaprak ayası ve boğum aralarına ait parçalar, içerisinde 30 ml ortam bulunan (MS ve B5) 100x200 mm'lik petri kaplarına dikilmiştir (Şekil 1). Her çeşit için 20 petri kabına dikim yapılmıştır. Daha fazla yara alanı oluşturmak amacıyla, boğum araları ortadan ikiye kesilerek dikilmiştir. Kalluslar karanlıkta ve 25°C'de inkübe edilmiş ve 21 gün ara ile iki defa alt kültüre alınmıştır.

#### *İstatistik Analiz*

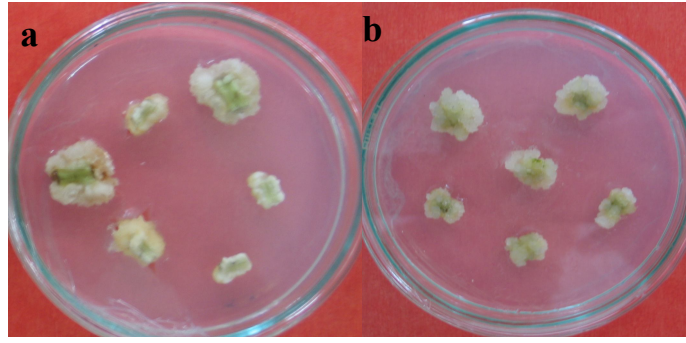
Kallus oluşumu için sonuçlar 4 yılın ortalaması alınarak yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Bu yüzde (%) değerler bakımından çeşitler, besin ortamları ve eksplant tipleri arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Z testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır.



Şekil 1. Kallus kültürlerinin kurulması a) Boğum arası, b) Yaprak ayası.

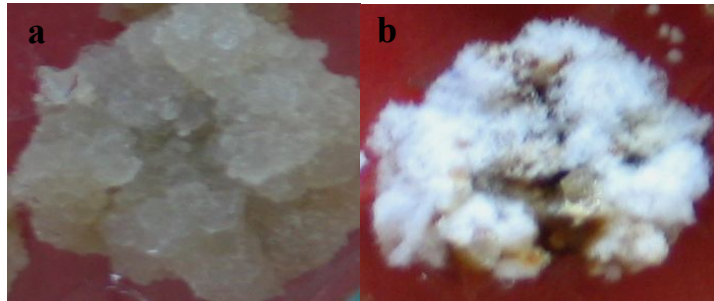
### Bulgular ve Tartışma

Üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerine ait eksplantlar, dikildikleri besin ortamlarında değişik yoğunluk ve özelliklerde kalluslar meydana getirmiştir (Şekil 2).



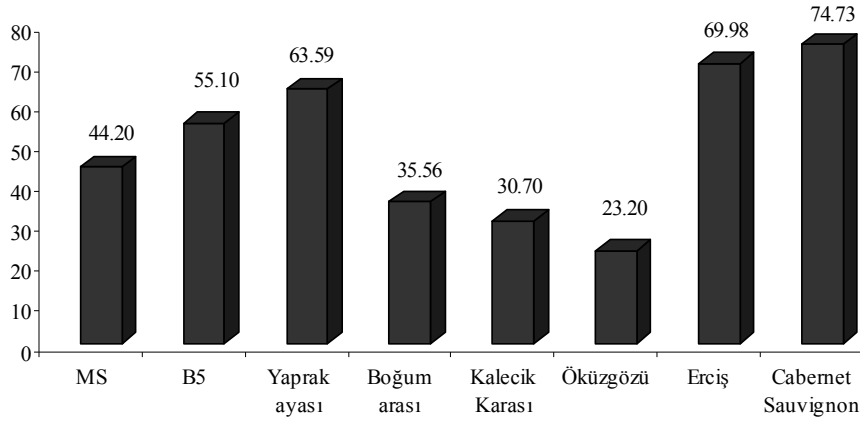
Şekil 2. Eksplantların kallus oluşturma yoğunlukları a) Boğum arasından meydana gelen kalluslar, b) Yaprak ayasından meydana gelen kalluslar.

Elde edilen kalluslar niteliklerine bağlı olarak iki farklı tipte değerlendirilmiştir. Sağlıklı görünüme sahip, beyaz renkli, şeffaf sert ve kırılğan kalluslar "I. tip kallus"; sağlıksız görünüme sahip, sarımsı beyaz-kahverengi ve pamuksu yapıda olanlar ise "II. tip kallus" olarak nitelendirilmiştir (Şekil 3). Çalışmada yalnızca I. tip kallus oluşum oranları değerlendirilmiştir.



Şekil 3. Elde edilen kallusların kalite özellikleri a) I tip kallus, b) II. tip kallus.

Çalışmada ele alınan faktörler olan besin ortamı, eksplant tipi ve çeşide göre I. tip kallus oluşum oranları (%) na ait grafik Şekil'4 de toplu olarak verilmiştir.



Şekil 4. Çalışmada ele alınan faktörlere göre I. tip kallus oluşum oranları (%).

Kullanılan besin ortamının kallus kalitesine etkisi Çizelge 2’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre I. tip kallus oluşumu bakımından kullanılan ortamların birbirinden farklı özellikler gösterdiği görülmüştür. B5 besin ortamının MS besin ortamına göre yaklaşık %11 oranında daha yüksek I. tip kallus oluşumuna olanak sağladığı ve bu farklılığın istatistik olarak önemli olduğu ( $p<0.05$ ) saptanmıştır. *In vitro* kültürlerde, azot konsantrasyonunun protein veya aminoasit ürünlerinin miktarı üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Bitki doku kültürü ortamları olan MS ve B5’te azot kaynağı olarak nitrat ve amonyum tuzları bulunmaktadır. Bu tuzların miktarlarındaki değişiklikler hem kallus oluşumunu hem de ikincil bitki ürünü üretimini etkilemektedir (Yağcı ve ark. 2008). Örneğin, toplam azot miktarının artması *Vitis* türlerinde antosiyanın üretimini artırmaktadır (Yamakawa ve ark. 1983). Kullanılan besin ortamlarının *in vitro* kültürde sonucu etkileyen en önemli faktörlerden birisi olduğu daha önce Stamp ve Meredith (1988), Matsuta ve Hirabayashi (1989), Göktürk Baydar (2000), Das ve ark. (2002), Göktürk Baydar ve Çetin (2003) ile Babalık (2006) tarafından da tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Besin ortamının kallus kalitesine etkisi

Besin ortamı	I. tip kallus oluşumu (%)
MS	44.2
B5	55.1*

\* MS’den olan farkı istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ )

Çalışmada I. tip kallus oluşumu üzerinde üzüm çeşitlerinin etkisinin olduğu saptanmıştır (Çizelge 3). Dört üzüm çeşidi içerisinde I. tip kallus oluşum oranı, Cabernet Sauvignon (%74.73) ve Erciş üzümü (%69.98) çeşitlerinde, Kalecik karası ve Öküzgözü çeşitlerine göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Torregrossa ve ark. (1995) ile Nakano ve ark. (1997)’de, *in vitro* koşullarda kallus oluşumu bakımından elde edilen başarının üzüm çeşitlerine göre değiştiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 3. Üzüm çeşitlerinin kallus kalitesine etkisi

Üzüm çeşidi	I. tip kallus oluşumu (%)
Kalecik karası	30.70
Öküzgözü	23.20
Erciş	69.98*
Cabernet Sauvignon	74.73*

\* Kalecik karası ve Öküzgözü’nden olan farkları istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ )

Yaprak ayaları (Nakano ve ark. 1997; Jayasankar ve ark. 1999) ve boğum araları (Thomas 2001) kallus oluşturma potansiyeli yüksek eksplantlar olup doku kültürü çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Eksplant tipinin kallus kalitesine etkisinin yer aldığı Çizelge 4 incelendiğinde; I. tip kallus oluşumu

bakımından elde edilen başarının, kullanılan eksplant tipine göre değiştiği görülmektedir. Çizelge 4'ten de izlenebileceği gibi, I. tip kallus oluşumu bakımından yaprak ayalarının boğum aralarına göre daha başarılı sonuçlar gösterdiği ve farklılığın istatistik olarak önemli ( $p<0.05$ ) olduğu görülmektedir. *In vitro*'da elde edilen başarının kültüre alınan eksplant tipine göre değiştiği daha önce bu alanda yapılan pek çok araştırma ile de belirlenmiştir (Stamp ve ark. 1990a; Stamp ve ark. 1990b; Mhatre ve ark. 2000; Bhau ve Wakhlu 2001; Göktürk Baydar ve Çetin 2003; Jayasankar ve ark. 2003; Babalık 2006).

Çizelge 4. Eksplant tipinin kallus kalitesine etkisi

Eksplant tipi	I. tip kallus oluşumu (%)
Yaprak ayası	*63.59
Boğum arası	35.66

\* Boğum arasından olan farkı istatistik olarak önemlidir ( $p<0.05$ )

## Sonuç

Çalışma sonucunda, dört farklı üzüm çeşidine ait yaprak ayası ve boğum aralarının, iki farklı besin ortamında farklı nitelikte kallus meydana getirdiği görülmüştür. Çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, kallus kalitesini ifade eden I. tip kallus oluşumu üzerine besin ortamı, üzüm çeşidi ve eksplant tipinin etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmada yer alan dört üzüm çeşidi de B5 ortamında MS ortamına göre I. tip kallus oluşumu bakımından daha iyi performans göstermiştir. Bunun yanı sıra, eksplant kaynağı olarak kullanılan yaprak ayaları da boğum aralarına göre üzüm çeşitlerinin I. tip kallus oluşturmalarında oldukça etkili olmuştur. En yüksek I. tip kallus oluşumu gösteren çeşit Cabernet Sauvignon (%74.73), en düşük I. tip kallus oluşumu gösteren üzüm çeşidi ise Öküzgözü (%23.20) olarak gözlenmiştir.

## Kaynaklar

- Babalık Z (2006). Asmada farklı eksplantların *in vitro* rejenerasyonları üzerine bir araştırma. (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üni. Fen Bilimleri Enst., Isparta, 54 s.
- Bhau BS, Wakhlu AK (2001). Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 66:25-29.
- Bouque V, Bourgaud F, Nguyen C, Guckert A (1998). Production of Daidzein by Callus Cultures of *Psoralea* Species and Comparison with Plant. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 53: 35-40.
- Ciddi V, Shuler ML (2000) Camptothecine from callus cultures of *Nothapodytes foetida*. Biotech. Letters, 22:129-132.
- Çelik H (2006). Üzüm Çeşit Kataloğu (Grape Cultivar Catalog). Sunfidan A. Ş. Mesleki Kitaplar Serisi : 3, Ankara. 165 s.
- 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.
- Gamborg O, Miller R, Ojima K (1968). Nutrient requirement suspensions cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res., 50, 151-158.
- Göktürk Baydar N (2000). Asmada (*Vitis spp.*) Yapraklardan adventif sürgün oluşumu üzerine bir araştırma. Turk. J. Biol, 24: 645-656.
- Göktürk Baydar N, Çetin S (2003). Asma yaprak eksplantlarının *in vitro* gelişmeleri üzerine genotip, eksplant tipi ve besin ortamlarının etkileri. 13. Biyoteknoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, Çanakkale. 99-104 s.
- Gürel E, Türker AU (2001). Organogenesis. "Bitki biyoteknolojisi. I- Doku kültürü ve uygulamaları Cilt I, Ed.: M. Babaoğlu E Gürel, S Özcan," 36-70. Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya. 374 s.
- Jayasankar S, Gray DJ, Litz RZ (1999). High efficiency somatic embryogenesis and plant regeneration from suspension cultures of grapevine. Plant Cell Rep., 18: 533-537.
- Keller M, Steel CC, Creasy GL (2000). Stilbene accumulation in grapevine tissues: developmental and environmental effects. XXV. International horticultural congress, part 4: culture techniques with special emphasis on environmental implications, ISHS Acta Hort, 514: 275-286.

- Keskin N (2007). Asma kallus kültürlerinde UV ışını etkisi ile resveratrol üretiminin uyarılması ve belirlenmesi.( Doktora Tezi). Ankara Üni. Fen Bilimleri Enst., Ankara. 81 s.
- Lila MA (2005). Valuable secondary products from *in vitro* culture. "Plant Development and Biotechnology. Ed.: R. N., Trigiano, D. Gray," 285-289. CRC Pres, London, New York, Washigton. 376 s.
- Luczkiewicz M, Zarate R, Dembin'ska-Migas W, Migas P, Verpoorte R (2002). Production of pulchelin E in hairy roots, callus and suspension cultures of *Rudbeckia hirta* L. Plant Sci., 163: 91-100.
- Luczkiewicz M, Glod D (2003). Callus cultures of Genista plants-*in vitro* material producing high amounts of isoflavones of phytoestrogenic activity. Plant Sci., 165: 1101-1108.
- Matsuta N, Hirabayashi T (1989). Embryogenic cell lines from somatic embryos of grape (*Vitis vinifera* L.). Plant Cell Rep., 7: 684-681.
- Mhatre M, Salunkhe, CK, Rao PS (2000). Micropropagation of *Vitis vinifera* L. towards an improved protocol. Sci. Hort., 84: 357-363.
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol. Plant., 15: 473-497.
- Nakano M, Sakakibara T, Watanabe Y, Mii M (1997). Establishment of embryogenesis cultures in several cultivars of *Vitis vinifera* and *V. × labruscana*. Vitis, 36:141-145.
- Parr AJ (1989). The production of secondary metabolites by plant cell cultures. J. Biotech, 10: 1-26.
- Ramachandra, R. S., Ravishankar, G. A., (2002). Plant Cell Cultures: Chemical Factories of Secondary Metabolites. Biotech Avdan; 20: 101-153.
- Sökmen, A.,Gürel, E., (2000). Sekonder Metabolit Üretimi. "Bitki biyoteknolojisi. I- Doku kültürü ve uygulamaları Cilt I, Ed.: M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan," 211-61. Selçuk Üniversitesi Yayınları, Konya. 374 s.
- Stamp, J.A., Meredith, C.P., (1988). Somatic embryogenesis from leaves and anthers of grapevine. Sci. Hort., 35: 235-250.
- Stamp, J.A., Colby, S.M., Meredith, C.P., (1990a). Improved shoot organogenesis from leaves of grape. J. Am. Soc. Hort. Sci., 115(6): 1038-1042.
- Stamp, J.A., Colby, S.M., Meredith, C.P., (1990b). Direct shoot organogenesis and plant regeneration from leaves of grape (*Vitis spp.*). Plant Cell Tiss. Org. Cult., 22: 127-133.
- Stella, A., Braga, M. R., (2002). Callus and cell suspension cultures of *Rudgea Jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 68: 271-276.
- Torregrossa, L., Torres-Vials, M., Bouquet, A., (1995). Somatic embryogenesis from leaves of *Vitis muscadinia* hybrids. Vitis, 34: 239-240.
- Uyak, C. (2002). Erciş Üzüm Çeşidinin Seleksiyonu Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van. 31 s.
- Yağcı, C., Toker, M. C., Toker, G., (2008). Bitki Doku Kültürü Yoluyla Üretilen Flavonoitler. Türk Bilim. Der. Derg. 1: 47-58.
- Yamakawa, T., Kato, S., Ishida, K., Kodama, T., Minoda, Y., (1983). Production of anthocyanins by *Vitis* cells in suspension culture. Agric. Biol. Chem., 47: 2185-2191.