

**ERKENCİ VE ÇEKİRDEKSİZ ÜZÜMLERİN (*Vitis vinifera* L.)
EMBRİYO KÜLTÜRÜ YOLUYLA ÇOĞALTILMASI ÜZERİNE
ARAŞTIRMALAR***

Ayşe YALÇIN ELİDEMİR H. İbrahim UZUN

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü 07070, ANTALYA

Özet

Üç çekirdeksiz üzüm çeşidinin (Perlette, Yalova çekirdeksizi ve Banş) ve üç erkenci üzüm çeşidinin (Uslu, Early cardinal ve Trakya ilkeren) embriyoları, tam çiçeklenmeden 40, 50 ve 60 gün sonra ovül-embriyo kültürüne alınmışlardır. Ovül ve embriyolar yarı katı Cain (C), Nitsch ve Nitsch (NN) ve E20A besi ortamlarında kültüre alınmıştır. Embriyo çimlenme oranları, çeşitlerin ömek alma zamanlarına ve kullanılan besi ortamlara göre farklılıklar göstermiştir. En fazla embriyo çimlenme oranı, çekirdeksiz çeşitlerde tam çiçeklenmeden 40 gün sonra C ortamında kültüre alınan ovüllerden, erkenci çeşitlerde tam çiçeklenmeden 50 gün sonra E20A ortamında kültüre alınan ovüllerden sağlanmıştır. Embriyo kültürü kullanarak, stenospermocarpik çekirdeksiz üzümlerin ve erkenci üzümlerin embriyolarından bitki eldesi mümkündür.

Anahtar kelimeler: *Vitis vinifera* L., *In Vitro*, Embriyo Kültürü, Ovül-Embriyo Kültürü, Embriyo.

Studies on The Propagation of Seedless and Early Grape Cultivars by Embryo Culture

Abstract

Embryos of three seedless grape cultivars (Perlette, Yalova çekirdeksizi and Banş) and three early grape cultivars (Uslu, Trakya ilkeren and Early cardinal) were cultured in ovule either of 40, 50 and 60 days after blooming. Ovule and embryos were cultured in solid medium of Cain (C), Nitsch and Nitsch (NN) and E20A. Percentage of embryo germination was depended on the sampling date and type of the medium. The highest embryo germination percentages were obtained at the sampling date of 50th days with cultured on E20A medium for early cultivars; and at the sampling date of 40th days with cultured on C medium for seedless cultivars. Embriyo culture could be a possible way to obtain plants from embryos in stenospermocarpic seedless grapes and early grapes.

Keywords: *Vitis vinifera* L., *In Vitro*, Embryo Culture, In Ovulo-Embryo Culture, Embryo.

*: Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonuna Desteklenmiştir (Proje no: 96 03.0104.02)

1. Giriş

Bütün yüksek bitkilerde olduğu gibi, asma (*Vitis vinifera L.*)’da da çok zengin olan genetik varyasyonun ortaya çıkmasında, heterozigot yapıdaki tohumun açılımı önemli bir rol oynamıştır. Dünya üzerinde çok farklı iklim koşullarına adapte olmuş nadir bitkilerden birisi olan asmanın yüksek oranda ve sürekli olarak yabancı döllenmesi sonucu ortaya çıkan heterozigotik kalıtsal yapı, tohumdan elde edilen fertler arasında büyük genetik farklılıkların ortayamasına neden olmuştur. Bu özelliği sebebiyle tohum, asmanın çoğaltılmamasında pratik bir değer taşımamakla birlikte ister kendileme, ister yabancı tozlama ve dölleme sonucunda meydana gelsin, melezleme ürünü olan tohumların mümkün olan en yüksek oranda çimlenmesi ıslah çalışmaları için büyük önem taşımaktadır (Marasali, 1992). Çekirdeksiz çeşitler ile erkenci çeşitlerde düşük olan çekirdek çimlenme oranını artırtıcı *in vitro* teknikleri kullanarak bitki oluşturabilen embriyo sayısını artırmaya yönelik çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin çoğu stenospermokarpik olup, bunların döllenme sonrası embriyo gelişimi durmaka ve tohum gelişmemektedir. Erken olgunlaşan çeşitlerde dormansının erken olduğu; üzüm tanesinin olgunlaşması ile embriyo dormansının arasında güçlü bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir (Hornuchi ve ark., 1991). Embriyolar direkt olarak ovüllerde veya ovüller dışında geliştirilebilirler. Bu teknik birkaç ay için bozulmamış ovüllerin *in vitro*’da kültüre alınmasını ve sonra ovüllerden embriyonun çıkarılmasını gerektirir (Fernandez ve ark., 1991). Melezleme sonucu canlı embriyonun meydana geldiği, ancak endospermin gelişmemesi nedeniyle embriyonun beslenememesi durumunda da, embriyo kültürü başarılı olmaktadır. Embriyo kültürü dormansiyi ortadan kaldırarak etkili çimlenmeyi yillardan

aylara indirgeyip ıslah süresini önemli ölçüde kısaltmada kullanılmaktadır (Tsolova, 1990). Embriyo gelişmesi, olgunlaşırken istekleri değişen dinamik bir sistemdir. Küçük olan embriyolar, daha kompleks ortamları gerektirir (Rassing, 1990). Embriyo kültürü, embriyo gelişmesinin zayıf olduğu veya embriyo aborsiyonlarının gözleendiği zaman önem kazanmaktadır. Üzümlerde erken safhalarda görülen embriyo aborsiyonunun, stenospermokarp ile ilgili olduğu gözlenmiştir. Son zamanlarda, melez ve çekirdeksiz üzümlerdeki büyük abortif ovüllerin kültüre alınması ile embriyolar ve bitkiler elde edilmiştir. Embriyo kültürü sert çekirdekli meyvelerde aborsiyonun üstesinden gelmek için kullanılmıştır. Ayrıca pek çok kültür bitkisinde embriyo ve endosperm aborsiyonlarının üstesinden gelmek için ovül kültürü kullanılmıştır (Spiegel-Roy ve ark., 1985). Çekirdeksiz üzümlerde abortif ovüllerin *in vitro* tekniği ile kültüre alınması, çekirdeksiz çeşitler arasında melezleme yapılması olanağı yaratacaktır. Böylece yapılacak melezlemelerden elde edilecek döllerde çok daha yüksek oranda çekirdeksizlik görülecektir (Cain ve ark., 1983). Embriyo kültüründe yaşama gücünün düşük olmasının nedenlerinin, enfeksiyon sonucu kayıplar, izole edilen embriyonun çok küçük olması, embriyo gelişiminin kesilmesi, özellikle sert kabuklu tohumlarda embriyoların zarar görmesi ve kültür ortamları olduğunu belirtmiştir (Pierik, 1989). Embriyonun ovülden ayrıılması oldukça zor bir işledir ve izolasyon sırasında kolaylıkla zarar görebilir ve zamanla tahrip olur, bu nedenle tecrübe gerektirmektedir. Ayrıca kullanılan kültür ortamı daha karmaşıktır. Embriyo kültüründe bitki gelişimi, genotip, izolasyon sırasındaki gelişme safhası, ana bitkinin büyümeye koşulları ve besi ortamı bileşimi başarıyı etkileyen faktörlerdir. *In vitro* tekniğinin kullanımını yoluyla stenospermokarpik bir çeşitteki abortif bir

çekirdekten embriyonun tekrar elde edilmesi çekirdeksiz üzümlerin geleneksel ıslah metodlarına çok ilginç bir yaklaşım getirmiştir ve çekirdeksiz bireyler arasında melezlemeye olanak tanyarak yeni genotiplerin elde edilmesini mümkün kılmıştır. Bu teknik teorik olarak bir dönem içinde elde edilen çekirdeksiz genotiplerin oranını artırmaktadır (Tsolova, 1990). Stenospermokarpik üzümlerde çekirdek aborsiyonunun genetik kontrolü pek anlaşılmamıştır. Son çalışmalar, aborsiyondan önce çekirdeksiz üzümlerden çıkarılan embriyoların kültüre alınması ile bitkiciklerin elde edilmesinin mümkün olduğunu göstermektedir (Goldy ve ark., 1988). Çekirdeksizliğin bir veya birkaç resesif genle kontrol edildiği düşünülmektedir. Bununla beraber, döllerdeki çekirdeksizliğin frekansı oldukça değişkendir ve normal genetik oranlara uymamaktadır. Stenospermokarpik karakterin kalitimi üzerine pekçok teori ortaya atılmıştır. Tohum izlerindeki farklı gelişim düzeylerini de kapsayan tam anlamıyla çekirdeksizliğin kalitimi henüz açıklanamamıştır (Streim ve ark., 1992). Bazı çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin embriyo kültürü yoluyla çoğaltma olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada (Tangolar ve ark., 1998), 6 çekirdeksiz üzüm çeşidinden çiçeklenmeden itibaren 3. ve 8. haftalar arasında birer hafta aralıklarla tane ömekler alınarak %10' luk sodyum hipoklorit ve 1-2 damla Tween 20 içeren çözeltide 20 dk. süreyle dezenfekte edilmiştir. Ovüller, ovül geliştirme ortamında 12 hafta tutulmuş ve sonra embriyoları çıkarılmıştır. Çimlenme oranları, çeşitlerin örnek alma zamanı ve kullanılan besi ortamına göre değişmiştir. Genel olarak en yüksek değerler, tam çiçeklenmeden itibaren 5. haftadan sonra alınan 2B-56 çeşidine ve E20A ortamından (%90,1) alınmıştır. Sonuçta bu teknik yardımıyla çekirdeksiz çeşit embriyolarından önemli miktarda bitki elde edilmiş ve bu tekniğin çekirdeksiz üzüm ıslahı çalışmalarında kullanılabileceği

saptanmıştır. Erken olgunlaşan çeşitlerde başarılı bir melezleme yapılmasını engelleyen en önemli sorunlardan biri de embryo aborsiyonu nedeniyle meydana gelen son derece yetersiz çimlenmedir. Aynı sorun, çekirdeksiz çeşitler melezlendiğinde meydana gelmektedir (Ramming, 1985). Erken olgunlaşan çekirdekli üzümlerin ıslahında asıl problem onların yetersiz çimlenmesidir. Üzümlerdeki ilk çalışmalar *in vitro*' da bir ıslah çalışmasında, çimlenmeyi yararlı bir düzeye çıkarmak için, erken olgunlaşan çekirdekli genotiplerin başarılı bir şekilde kültüre alınıp alınamayacağını saptamak amacıyla yapılmıştır (Ramming ve ark., 1990). Erkenci çekirdekli üzüm çeşitlerinin büyük çoğunluğunun *in vivo* koşullarda çimlenme oranlarının düşük olduğu bilinmektedir (Ramming, 1990). Diğer yandan bu çeşitlerin erkenci çeşit ıslahında tozlayıcı olmaktan çok ana ebeveyn olarak kullanılması önem kazanmaktadır. *In vivo* çimleme sorunları ise, özellikle embriyo kültürü tekniklerinin uygulanabilirliğinin artırılmasıyla çözümlenebilecektir.

Bu çalışmanın amacı, bazı erkenci ve çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde çiçeklenmeden sonra değişik tarihlerde alınan üzüm ömeklerinin değişik ortamlar içinde embriyo gelişme durumunu ve bunlardan bitki elde edilme olanaklarını incelemektir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu araştırma, 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünün doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Bu araştırmada materyal olarak, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama bağlıda yetiştirilen üç erkenci çeşit ;Uşlu, Early Cardinal ve Trakya İlkeren ile üç çekirdeksiz çeşit ; Perlette, Yalova çekirdeksizi ve Barış üzüm çeşitlerinin

taneleri kullanılmıştır. Çeşitlerin tam çiçekteki salkımları belirlenmiş ve tane örnekleri tam çiçeklenmeden sonra 40., 50. ve 60. günlerde alınmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1.'de belirtilen her ömek alma tarihinde her çesitten birer salkım kesilerek doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir. Daha sonra salkımların 1/3' lük orta kısmında bulunan taneler %20' lik Sodyum hipoklorit (Ticari hipo) ve 1-2 damla Tween- 20 içeren çözeltide 20 dk. süreyle dezenfekte edilmiştir. Bu işlemden sonra taneler steril kabin altında steril destile suyla üç kez durulanmıştır. Ovüller, 9 cm çapındaki yaklaşık 25 ml başlangıç ortamı içeren petrilere , çekirdeksiz çeşitlerde 10-15, erkenci çeşitlerde 7-10 adet olacak şekilde yerleştirilmiştir. Ovüller bu ortamda 12 hafta tutulmuştur (Gray ve ark., 1987; Fernandez ve ark., 1991). Bu süre içinde bazı ovüllerin çimlendikleri , bazlarının da sadece hacimlerinin arttığı görülmüştür. Kültüre alınan 12 haftalık ovüllerden binoküler mikroskop altında

çıkarılan embriyolar , önce yaklaşık 25 ml başlangıç ortamı (ovüllerin kültüre alındığı ortam) içeren petrilere yerleştirilmiştir. Burada çimlenenler daha sonra yaklaşık 15 ml başlangıç ortamı içeren 9x6 cm boyutlarındaki kavanozlara birer tane olacak şekilde yerleştirilmiştir. Kullanılan kültür ortamları, kullanma öncesi otoklavda 121°C sıcaklıkta, 1 atm basınçta 20 dk. süreyle sterilize edilmiştir. Araştırmada Cain (C) (Bajaj, 1990), Nitsch ve Nitsch (NN) (Bhojwani ve Razdan, 1983) ve E20A (Tangolar ve ark., 1998) ortamları kullanılmıştır. Ovüllerin kültüre alındığı Nitsch ve Nitsch ortamına, 10^{-6} M GA₃ ve 10^{-5} M IAA (Spiegel-Roy ve ark., 1985) ; E20A (Tangolar ve ark., 1998) ortamına ise, 10^{-2} mg/l IAA (Sarı, 1994) ilave edilmiştir. Kullanılan ortamlarda, embriyo çimlendirme aşamasında değişiklik yapılmamıştır. Bütün aşamalarda petri kapları içerisindeki ovüller ve embriyolar ile kavanozlarda bulunan çimlenmiş

Çizelge 1. Denemeye Alınan Çeşitlerde Tam Çiçeklenme ve Örnek Alma Tarihleri
(gün/ay. 1998).

ÇEŞİTLER	Tam Çiçek Tarihi	Örnek Alma Tarihleri		
		40. gün	50. gün	60. gün
Uslu	11.05	17.06	27.06	7.07
Trakya İlkeren	12.05	18.06	28.06	8.07
Early Cardinal	13.05	19.06	29.06	9.07
Perlette	15.05	22.06	1.07	13.07
Yalova Çekirdeksizi	15.05	23.06	2.07	14.07
Barış	16.05	24.06	3.07	15.07

embriyolar, sıcaklığı $26\pm2^{\circ}\text{C}$, fotoperiyodu 16 saat (Spiegel-Roy ve ark., 1985; Tsolova, 1990), ışıklanması 3000-4000 lüx ($11.000-15.000 \text{ watt m}^{-2}$) şiddetinde, oransal nem %65-75 olan büyütme odasında tutulmuştur. Kullanılan bütün çeşitlerin ovül ve embriyolarından değişik ortamlardan elde edilen sonuçların değerlendirilmesi amacıyla çimlenen ovül yüzdesi, ovüllerdeki canlı embriyo yüzdesi, çimlenen embriyo yüzdesi belirlenmiştir. Ayrıca bitki oluşumu, çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi ve ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitkilerin yüzdesi olarak verilmiştir.

Elde edilen veriler, SAS istatistik paket programında, "Logistik Regresyon Analizi Maksimum Olabilirlik Metodu" kullanılarak değerlendirilmiştir (Fırat ve Onay, 1997).

3. Bulgular.

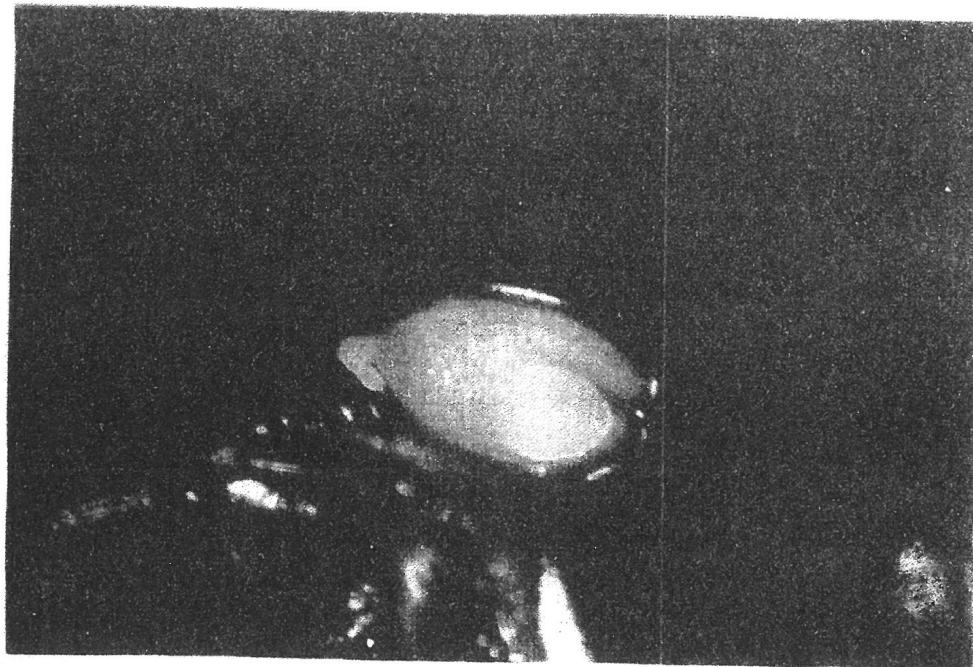
Ustu çeşidinden elde edilen bulgular çizelge 2'de verilmiştir. Ustu çeşidi ovüllerinde, örnek alınan hiçbir tarihte ve hiçbir besi ortamında çimlenme görülmemiştir. Ovüllerde gelişen canlı embriyo oranı ortam ve örnek alma zamamina göre farklı bulunmuştur. En fazla canlı embriyo oranı (%76,9) çiçeklenmeden 60 gün sonra E20A ortamında kültüre alınan ovüllerde bulunmuştur. Ortamlara göre ovüllerdeki canlı embriyo ortalamaları en fazla E20A ortamında (%52,3) bulunmuştur. Ovüllerdeki canlı embriyo (Şekil 1) oranları, örnek alma tarihleri geciktikçe genel olarak artmıştır. Embriyo çimlenme oranları tüm zamanlarda E20A ortamında en fazla olmuştur. E20A ortamında 50. ve 60. gün kültüre alınan ovüllerde %100 oranında çimlenme elde edilmiştir. Benzer durum 50. günde örnek alınan ve C ortamında geliştirilen embriyolarda saptanmıştır. Embriyo çimlenme ortalamaları bakımından en düşük oran

Çizelge 2. Ustu Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimle- nen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%)*	Bitki (%)**
40. gün	C	54	0,0	13,0	71,4	0,0	0,0
	NN	45	0,0	8,9	50,0	0,0	0,0
	E20A	54	0,0	31,5	64,7	63,6	13,0
50. gün	C	9	0,0	33,3	100,0	66,7	22,2
	NN	45	0,0	48,9	81,8	44,4	17,7
	E20A	31	0,0	48,4	100,0	86,7	38,7
60. gün	C	18	0,0	55,6	50,0	100,0	27,7
	NN	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E20A	13	0,0	76,9	100,0	70,0	53,8
Ortalama	C	27	0,0	33,9	73,8	55,6	16,7
	NN	30	0,0	19,3	43,9	14,9	5,9
	E20A	32,7	0,0	52,3	88,2	73,4	35,2

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.



Şekil 1. Ovül Geliştirme Ortamında 12 Hafta Bırakıldıktan Sonra, Ovülden Çıkarılan Kalp Safhasındaki Embriyo (Çiçeklenmeden 40 gün sonra kültüre alınan Uslu çeşidi ovülünden elde edilmişdir) (8.9.1998).

(%43,9) NN ortamında bulunmuştur. Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak hesaplanan ortalama bitki eldesi, en fazla E20A ortamından (%73,4) sağlanmıştır. Buna karşılık, besi ortamına yerleştirilen ovül sayısı esas alındığında elde edilen bitki oranları daha düşük bulunmuştur.

Trakya ilkeren çeşidi ovüllerinde ovül çimlenmesi görülmemiştir (Çizelge 3). Ovüllerdeki canlı embriyo oranları C ve E20A ortamlarında, örnek alınan günlerle birlikte genel olarak artmıştır. Çiçeklenmeden sonra 60. günde E20A ortamında kültüre alınan örneklerde en yüksek değer (%89,3) belirlenmiştir. Ortalamalara bakıldığından da yine E20A ortamında en fazla (%66,1) canlı embriyo bulunmuştur. NN ortamında, canlı embriyo oranının düşük bulunmasına rağmen tüm zamanlarda embriyo çimlenme oranları en yüksek bulunmuştur. Çiçeklenmeden sonra 50. ve 60. günde alınan örneklerde, NN ortamında embriyo çimlenmesi %100

bulunmuştur. Çimlenen embriyo yüzdesi açısından, besi ortamları ortalamasında da %91,7 orasıyla NN ortamı en yüksek oranı vermiştir. Bu bakımından en düşük oran (%43,3) C ortamına aittir. Çiçeklenmeden 50 gün sonra, C ortamında kültüre alınan örneklerde ait çimlenen embriyo lar %100 oranında bitki oluşturmuştur. Tüm zamanların ortalamasında NN ortamında, bitki oluşturma oranı (%51,8) en yüksek bulunmuştur. Bu bakımından en düşük oran (%36,7) C ortamına aittir.

Early cardinal çeşidinde hiçbir ortam ve örnek alma zamanında ovül çimlenmesi gözlenmemiştir (Çizelge 4). Ovüllerdeki canlı embriyo oranları incelendiğinde, en yüksek değer çiçeklenmeden sonra 50. günde NN ortamında kültüre alınan ovüllerden (%85,7) elde edilmiştir. Aynı ortamda, çiçeklenmeden 40 gün sonra kültüre canlı embriyo elde edilmiştir. Besi ortamları ortalamasında da en yüksek değer yine

Çizelge 3. Trakya İlkeren Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimle-nen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%) [*]	Bitki (%) ^{**}
40. gün	C	54	0,0	51,9	35,7	10,0	1,9
	NN	45	0,0	17,8	75,0	16,7	2,2
	E20A	45	0,0	20,0	55,6	60,0	6,7
50. gün	C	26	0,0	53,8	14,3	100,0	7,7
	NN	25	0,0	76,0	100,0	89,5	68,0
	E20A	9	0,0	88,9	87,5	0,0	0,0
60. gün	C	9	0,0	55,6	80,0	0,0	0,0
	NN	26	0,0	61,5	100,0	50,0	30,8
	E20A	28	0,0	89,3	88,0	81,8	60,7
Ortalama	C	29,6	0,0	53,8	43,3	36,7	3,2
	NN	32	0,0	51,8	91,7	51,8	33,7
	E20A	27,3	0,0	66,1	77,0	47,3	22,7

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

Çizelge 4. Early Cardinal Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimle-nen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%) [*]	Bitki (%) ^{**}
40. gün	C	54	0,0	20,4	90,9	40,0	7,4
	NN	63	0,0	19,0	83,3	0,0	0,0
	E20A	46	0,0	30,4	100,0	100,0	30,4
50. gün	C	27	0,0	51,9	85,7	91,7	37,0
	NN	7	0,0	85,7	100,0	50,0	42,9
	E20A	22	0,0	72,7	93,8	100,0	68,2
60. gün	C	44	0,0	61,4	85,2	73,9	36,4
	NN	43	0,0	67,4	72,4	100,0	48,8
	E20A	13	0,0	61,5	100,0	87,5	53,8
Ortalama	C	41,7	0,0	44,5	87,3	68,5	24,0
	NN	37,7	0,0	57,4	85,3	50,0	30,6
	E20A	27	0,0	54,9	97,9	95,8	50,8

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

Çizelge 5. Perlette Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimle-nen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%)*)	Bitki (%)**)
40. gün	C	24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	NN	22	0,0	18,2	100,0	25,0	4,5
	E20A	48	0,0	8,3	100,0	75,0	6,3
50. gün	C	12	0,0	16,7	100,0	50,0	8,3
	NN	25	0,0	12,0	100,0	33,3	4,0
	E20A	27	3,7	14,8	75,0	66,7	7,4
60. gün	C	36	0,0	13,9	100,0	20,0	2,7
	NN	21	0,0	14,3	33,3	100,0	4,7
	E20A	33	9,1	12,1	75,0	100,0	9,0
Ortalama	C	24	0,0	10,2	66,7	23,3	3,7
	NN	22,7	0,0	14,8	77,8	52,8	4,4
	E20A	36	4,3	11,8	83,3	80,6	7,6

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

NN ortamında (%57,4) bulunmuştur. Bu bakımından en düşük değer (%44,5) C ortamına aittir. Embriyo çimlendirme ortamlarına konulan embriyoların çimlenme oranları her üç örnek alma zamanında da oldukça yüksek bulunmuştur. Ortalama %97,9 orANIYLA E20A ortamında en fazla embriyo çimlenmesi görülmüştür. Bunu C (%87,3) ve NN (%85,3) ortamları izlemiştir. Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak bulunan ortalama bitki oluşumu bakımından en yüksek oran E20A (%95,8) ortamından elde edilmiştir. Çiçeklenmeden sonra 40. ve 50. günlerde E20A ortamı ile 60. günde NN ortamında kültüre alınan embriyoların hepsi bitki oluşturmuştur. NN ve C ortamlarında ortalama tam bitki oluşum oranları %50 ve %68,5 olarak belirlenmiştir.

Perlette çeşidine ait, çizelge 5'de verilen sonuçlardan sadece, çiçeklenmeden sonra 50. ve 60. Günlerde

E20A ortamında kültüre alınan ovüllerde, ovül çimlenmesi ve dış integumentin yumuşak dokusundan kallus oluşumu belirlenmiştir. Çiçeklenmeden 60 gün sonra alınan ovüllerde %99,1 oranında çimlenme elde edilmiştir. Ovüldeki canlı embriyo oranları her üç zamanda ve üç ortamda da oldukça düşük bulunmuştur. Ortalama canlı embriyo oranı en fazla NN ortamında (%14,8), en düşük embriyo oranı ise, C ortamında (%10,2) bulunmuştur. Çiçeklenmeden 40 gün sonra C ortamında kültüre alınan ovüllerden canlı embriyo elde edilememiştir. Ovüldeki canlı embriyo oranlarının oldukça düşük çıkışmasına rağmen, embriyo çimlenme oranları oldukça yüksek bulunmuştur. Özellikle ilk iki örnek alma zamanında (çiçeklenmeden sonra 40 ve 50. günler) %100 oranında embriyo çimlenmesi bulunmuştur. E20A ortamında (%83,3), en düşük C. ortamında (%66,7) bulunmuştur. Ortalama bitki oluşturma oranı en fazla E20A ortamında

Çizelge 3. Trakya İlkeren Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimle-nen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%) [*]	Bitki (%) ^{**}
40. gün	C	54	0,0	51,9	35,7	10,0	1,9
	NN	45	0,0	17,8	75,0	16,7	2,2
	E20A	45	0,0	20,0	55,6	60,0	6,7
50. gün	C	26	0,0	53,8	14,3	100,0	7,7
	NN	25	0,0	76,0	100,0	89,5	68,0
	E20A	9	0,0	88,9	87,5	0,0	0,0
60. gün	C	9	0,0	55,6	80,0	0,0	0,0
	NN	26	0,0	61,5	100,0	50,0	30,8
	E20A	28	0,0	89,3	88,0	81,8	60,7
Ortalama	C	29,6	0,0	53,8	43,3	36,7	3,2
	NN	32	0,0	51,8	91,7	51,8	33,7
	E20A	27,3	0,0	66,1	77,0	47,3	22,7

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

Çizelge 4. Early Cardinal Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimle-nen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%) [*]	Bitki (%) ^{**}
40. gün	C	54	0,0	20,4	90,9	40,0	7,4
	NN	63	0,0	19,0	83,3	0,0	0,0
	E20A	46	0,0	30,4	100,0	100,0	30,4
50. gün	C	27	0,0	51,9	85,7	91,7	37,0
	NN	7	0,0	85,7	100,0	50,0	42,9
	E20A	22	0,0	72,7	93,8	100,0	68,2
60. gün	C	44	0,0	61,4	85,2	73,9	36,4
	NN	43	0,0	67,4	72,4	100,0	48,8
	E20A	13	0,0	61,5	100,0	87,5	53,8
Ortalama	C	41,7	0,0	44,5	87,3	68,5	24,0
	NN	37,7	0,0	57,4	85,3	50,0	30,6
	E20A	27	0,0	54,9	97,9	95,8	50,8

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

Çizelge 5. Perlette Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimlenen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%) [*]	Bitki (%) ^{**}
40. gün	C	24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	NN	22	0,0	18,2	100,0	25,0	4,5
	E20A	48	0,0	8,3	100,0	75,0	6,3
50. gün	C	12	0,0	16,7	100,0	50,0	8,3
	NN	25	0,0	12,0	100,0	33,3	4,0
	E20A	27	3,7	14,8	75,0	66,7	7,4
60. gün	C	36	0,0	13,9	100,0	20,0	2,7
	NN	21	0,0	14,3	33,3	100,0	4,7
	E20A	33	9,1	12,1	75,0	100,0	9,0
Ortalama	C	24	0,0	10,2	66,7	23,3	3,7
	NN	22,7	0,0	14,8	77,8	52,8	4,4
	E20A	36	4,3	11,8	83,3	80,6	7,6

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

NN ortamında (%57,4) bulunmuştur. Bu bakımından en düşük değer (%44,5) C ortamına aittir. Embriyo çimlendirme ortamlarına konulan embriyoların çimlenme oranları her üç örnek alma zamanında da oldukça yüksek bulunmuştur. Ortalama %97,9 orANIYLA E20A ortamında en fazla embriyo çimlenmesi görülmüştür. Bunu C (%87,3) ve NN (%85,3) ortamları izlemiştir. Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak bulunan ortalama bitki oluşumu bakımından en yüksek oran E20A (%95,8) ortamından elde edilmiştir. Çiçeklenmeden sonra 40. ve 50. günlerde E20A ortamı ile 60. günde NN ortamında kültüre alınan embriyoların hepsi bitki oluşturmuştur. NN ve C ortamlarında ortalama tam bitki oluşum oranları %50 ve %68,5 olarak belirlenmiştir.

Perlette çeşidine ait, çizelge 5'de verilen sonuçlardan sadece, çiçeklenmeden sonra 50. ve 60. Günlerde

E20A ortamında kültüre alınan ovüllerde, ovül çimlenmesi ve dış integumentin yumuşak dokusundan kallus oluşumu belirlenmiştir. Çiçeklenmeden 60 gün sonra alınan ovüllerde %69,1 oranında çimlenme elde edilmiştir. Ovüldeki canlı embriyo oranları her üç zamanda ve üç ortamda da oldukça düşük bulunmuştur. Ortalama canlı embriyo oranı en fazla NN ortamında (%14,8), en düşük embriyo oranı ise, C ortamında (%10,2) bulunmuştur. Çiçeklenmeden 40 gün sonra C ortamında kültüre alınan ovüllerden canlı embriyo elde edilememiştir. Ovüldeki canlı embriyo oranlarının oldukça düşük çıkışmasına rağmen, embriyo çimlenme oranları oldukça yüksek bulunmuştur. Özellikle ilk iki örnek alma zamanında (çiçeklenmeden sonra 40 ve 50. günler) %100 oranında embriyo çimlenmesi bulunmuştur. E20A ortamında (%83,3), en düşük C. ortamında (%66,7) bulunmuştur. Ortalama bitki oluşturma oranı en fazla E20A ortamında

(%80,6) saptanmıştır Çiçeklenmeden 60 gün sonra alınan örneklerde bitki oluşturma oranları özellikle NN ve E20A ortamında çok yüksek (%100) bulunmuştur. Bu bakımdan ortalama en düşük oran %23,3 ile C ortamına aittir.

Yalova çekirdeksiz çeşidinde hiçbir örnek alma zamanında ve hiçbir ortamda ovül çimlenmesi olmamıştır (Çizelge 6). Ortalama ovüldeki canlı embriyo oranı, en fazla NN ortamında (%21,5), en düşük C (%9,6) ortamında bulunmuştur. Genel olarak canlı embriyo oranları çiçeklenmeden sonra geçen gün sayısı arttıkça düşmektedir. Bu bakımdan en yüksek canlı embriyo oranı çiçeklenmeden 40 gün sonra kültüre alınan ovüllerde bulunmuştur. Ortalama embriyo çimlenme oranı en fazla (%50) C ortamında olmuştur. Bunu NN (%45,8) ve E20A (%38) ortamları izlemiştir. Çiçeklenmeden 60 gün sonra C ve NN

ortamlarında kültüre alınan ovüllerden elde edilen embriyolarda çimlenme, diğer örnek alınan günlerden oldukça fazla bulunmuştur. Yalova Çekirdeksiz çeşidinde yalnızca E20A ortamında 50. ve 60. günde kültüre alınan ovüllerin embriyolarında sırasıyla %50 ve %100 oranında bitki oluşumu gözlenmiştir.

Başış çeşidinde (Çizelge 7) yalnızca çiçeklenmeden 40 gün sonra kültüre alınan ovüllerde çok düşük oranda (%2,1) çimlenme gözlenmiştir. Ortalama canlı embriyo oranları en fazla C ortamında (%22,7) bulunmuştur. Bunu sırasıyla E20A (%15) ve NN (%5,9) ortamı izlemiştir. Embriyo çimlenme oranları en fazla C ortamında (%100) 40. ve 60. Günde alınan örneklerde bulunmuştur. Ancak, aynı ortamda çiçeklenmeden 50 gün sonra kültüre alınan ovüllerde bulunan embriyolarda çimlenme görülmemiştir. Bu bakımdan

Çizelge 6. Yalova Çekirdeksiz Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Oviil, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları.

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimlenen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%)*)	Bitki (%)**)†
40. gün	C	31	0,0	25,8	50,0	0,0	0,0
	NN	36	0,0	38,9	0,0	0,0	0,0
	E20A	27	0,0	22,2	66,7	0,0	0,0
50. gün	C	17	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	NN	34	0,0	23,5	37,5	0,0	0,0
	E20A	32	0,0	28,1	22,2	50,0	3,1
60. gün	C	32	0,0	3,1	100,0	0,0	0,0
	NN	45	0,0	2,2	100,0	0,0	0,0
	E20A	47	0,0	8,6	25,0	100,0	2,1
Ortalama	C	26,7	0,0	9,6	50,0	0,0	0,0
	NN	38,3	0,0	21,5	45,8	0,0	0,0
	E20A	35,3	0,0	19,6	38,0	50,0	1,7

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

** Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

Çizelge 7. Barış Çeşidinin Değişik Örnek Alma Zamanlarında Farklı Ortamlara Konulan Ovül Sayısı, Çimlenen Ovül, Ovüldeki Canlı Embriyo ve Bitki Oluşum Oranları

Örnek Alınan Günler	Besi Ortamı	Ovül Sayısı	Çimlenen Ovül (%)	Ovüldeki Canlı Embriyo (%)	Çimlenen Embriyo (%)	Bitki (%)*)	Bitki (%)**)
40. gün	C	16	0,0	43,8	100,0	0,0	0,0
	NN	24	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E20A	48	2,1	12,5	66,7	0,0	0,0
50. gün	C	35	0,0	14,3	0,0	0,0	0,0
	NN	23	0,0	17,4	50,0	0,0	0,0
	E20A	34	0,0	32,4	81,8	33,3	8,8
60. gün	C	20	0,0	10,0	100,0	100,0	10,0
	NN	10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	E20A	20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ortalama	C	23,7	0,0	22,7	66,7	33,3	3,3
	NN	19	0,0	5,9	16,7	0,0	0,0
	E20A	34	0,7	15,0	49,5	11,1	2,9

*Çimlenen embriyo sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

**) Ovül sayısı esas alınarak elde edilen bitki yüzdesi.

ortalamaları karşılaştırdığımızda C ortamını (%66,7), %49,5 embriyo çimlenme oranıyla E20A ortamı izlemektedir. Çiçeklenmeden 60 gün sonra kültüre alınan ovüllerde meydana gelen embriyoların C ortamında çimlenmesiyle, bitki oluşturma oranı %100 olmuştur. Bu bakımdan en yüksek ortalama değer (%33,3) de C ortamına aittir.

Çimlenme çalışmalarında, çimlenen embriyoların sayısı bağımlı değişken olarak alınmaktadır. Eğer embriyoların herbiri birbirinden bağımsız olarak çimlendiği ve çimlenme oranında hiçbir farklılık olmadığı varsayılyorsa, bu durumda logit link fonksyonuna sahip binom dağılımının uygun bir model olduğu beklenebilir. Verilerin transformasyonunu gerektirmeyen genelleştirilmiş lineer bir model kullanılarak, logistik regresyon analizi maksimum olabilirlik metodu ile gerçekleştirilebilir(Fırat ve Onay, 1997).

Yapılan istatistik analizinde ovüldeki canlı embriyo ve embriyo çimlenmesi özellikleri incelenmiştir. Esas etkiler, yani örneklerin çiçeklenmeden sonra alındığı gün ve kültür ortamı, hakkında mantıklı yorumlamalar yapmak için çeşitlere ve özelliklere ait beklenen olasılıklar elde edilmiş ve bunlar çizelgeler halinde aşağıda verilmiştir.

Çizelge 8'de erkenci çeşitlerin ovüllerindeki canlı embriyolara ait beklenen olasılıklar görülmektedir. Erkenci çeşitlerde ovüllerdeki embriyo canlılığı ovüllerin kültüre aldığı günden etkilenerek, en yüksek olasılık her erkenci çeşit içinde 50. gün örneklerinden almıştır. Aynı şekilde erkenci çeşitlerde embriyo canlılığı kültür ortamından da etkilenmektedir. Bu bakımdan en yüksek olasılık E20A ortamından elde edilmiştir.

Çizelge 9'da erkenci çeşitlerin embriyo çimlenmelerine ait beklenen olasılıklar görülmektedir. Erkenci

Çizelge 8. Erkenci Çeşitlerin Ovüllerindeki Canlı Embriyolara Ait Çeşit, Gün ve Ortama Göre Düzeltildikten Sonra Elde Edilen Oranlar.

ÇEŞİTLER	ÖRNEK ALINAN GÜNLER	ORTAMLAR			ORTALAMA
		C	NN	E20A	
USLU	40	0,20	0,12	0,18	0,17
	50	0,36	0,50	0,46	0,44
	60	0,44	-	0,41	0,43
ORTALAMA		0,34	0,31	0,35	
EARLY CARDINAL	40	0,28	0,17	0,25	0,23
	50	0,46	0,60	0,56	0,54
	60	0,54	0,52	0,51	0,53
ORTALAMA		0,43	0,43	0,44	
TRAKYA İLKEREN	40	0,35	0,23	0,33	0,30
	50	0,55	0,68	0,65	0,62
	60	0,63	0,61	0,60	0,61
ORTALAMA		0,51	0,50	0,52	

Çizelge 9. Erkenci Çeşitlerin Embriyo Çimlenmelerine Ait Çeşit, Gün ve Ortama Göre Düzeltildikten Sonra Elde Edilen Oranlar.

ÇEŞİTLER	ÖRNEK ALINAN GÜNLER	ORTAMLAR			ORTALAMA
		C	NN	E20A	
USLU	40	0,53	0,61	0,74	0,63
	50	0,50	0,90	0,87	0,75
	60	0,57	-	0,93	0,75
ORTALAMA		0,53	0,75	0,85	
EARLY CARDINAL	40	0,77	0,82	0,90	0,83
	50	0,75	0,96	0,95	0,89
	60	0,80	0,93	0,98	0,90
ORTALAMA		0,77	0,91	0,94	
TRAKYA İLKEREN	40	0,46	0,53	0,68	0,70
	50	0,42	0,86	0,83	0,70
	60	0,49	0,77	0,91	0,72
ORTALAMA		0,46	0,72	0,81	

Çizelge 10. Çekirdeksiz Çeşitlerin Ovüllerindeki Canlı Embriyolara Ait Çeşit, Gün ve Ortama Göre Düzeltildikten Sonra Elde Edilen Oranlar.

ÇEŞİTLER	ÖRNEK ALINAN GÜNLER	ORTAMLAR			ORTALAMA
		C	NN	E20A	
YALOVA ÇEKİRDEKSİZİ	40	0,23	0,18	0,20	0,21
	50	-	0,13	0,23	0,12
	60	0,06	0,11	0,10	0,09
ORTALAMA		0,09	0,14	0,18	
BARIŞ	40	0,22	-	0,19	0,13
	50	0,12	0,13	0,22	0,15
	60	0,06	-	-	0,06
ORTALAMA		0,13	0,04	0,13	
PERLETTE	40	-	0,13	0,14	0,09
	50	0,09	0,09	0,16	0,11
	60	0,04	0,07	0,07	0,06
ORTALAMA		0,04	0,10	0,12	

Çizelge 11. Çekirdeksiz Çeşitlerin Embriyo Çimlenmelerine Ait Çeşit, Gün ve Ortama Göre Düzeltildikten Sonra Elde Edilen Oranlar.

ÇEŞİTLER	ÖRNEK ALINAN GÜNLER	ORTAMLAR			ORTALAMA
		C	NN	E20A	
YALOVA ÇEKİRDEKSİZİ	40	0,63	-	0,61	0,41
	50	-	0,37	0,28	0,32
	60	0,59	0,20	0,16	0,32
ORTALAMA		0,61	0,19	0,35	
BARIŞ	40	0,88	-	0,87	0,58
	50	-	0,72	0,64	0,45
	60	0,87	-	-	0,29
ORTALAMA		0,58	0,24	0,50	
PERLETTE	40	-	0,61	0,98	0,79
	50	0,70	0,94	0,91	0,85
	60	0,97	0,87	0,84	0,89
ORTALAMA		0,83	0,80	0,91	

çeşitlerde embriyo çimlenmesi örneklerin alındığı günlerden ve kültür ortamlarından etkilenmektedir. Bu bakımından en yüksek olasılıklar, çiçeklenmeden 60 gün sonra alınan örneklerde ve E20A ortamından elde edilmiştir

Çizelge 10'da çekirdeksiz çeşitlerin ovüllerindeki canlı embriyolara ait beklenen olasılıklar görülmektedir. Çekirdeksiz çeşitlerde ovüllerdeki embriyo canlılıklarını örneklerin alındığı günlerden ve kültür ortamlarından etkilenmektedir. Bu bakımından en yüksek

olasılıklar her üç çekirdeksiz çeşit içinde çiçeklenmeden 40 gün sonra alınan örneklerde ve E20A ortamından elde edilmiştir.

Çizelge 11'de çekirdeksiz çeşitlerin embriyo çimlenmelerine ait beklenen olasılıklar görülmektedir. Çekirdeksiz çeşitlerde, embriyo çimlenmesi ömeklerin aldığı günden etkilenmiş ve bu bakımından Yalova çekirdeksizi ve Barış çeşidinde 40. gün örnekleri, Perlette çeşidinde 60. gün örnekleri en yüksek değeri vermiştir. Aynı şekilde, çekirdeksiz çeşitlerde, embriyo çimlenmeleri kültür ortamlarından etkilenmektedir. Bu bakımından en yüksek olasılık değeri E20A ortamından elde edilmiştir.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada da olduğu gibi daha önce yapılan çalışmalarda da E20A ortamından en iyi sonuçlar elde edilmiştir (Tangolar ve ark., 1998 ve 12999). Özellikle Perlette çeşidinde, kallus gelişiminin dış integumentden meydana geldiği saptanmıştır (Pearson, 1932; Spiegel-Roy ve ark., 1985; Cain ve ark., 1983). Ancak ovüllerdeki kallus gelişimi, embriyonun varlığından bağımsızdır. Ovüller yeşil renkli ve kallus oluşturmış olsalar bile içlerinde canlı embriyo bulundurmamışlardır. Çalışmada, canlı embriyo eldesinde bulunan optimum örnek alma günlerini, erkenci çeşitlerde, Goldy ve ark. (1989) ve Ramming (1990); çekirdeksiz çeşitlerde Cain ve ark. (1983), Tsolova (1990) ve Singh ve ark. (1991)'nın sonuçları desteklemektedir.

Elde edilen bulguların pratige aktarılması ile, *in vitro* embriyo kültürü teknigi kullanılarak üzüm çekirdeklerinde embriyo ve/veya endosperm aborsiyonu nedeniyle meydana gelen çimlenme problemini çözmek mümkündür. Bu

bakımdan, ovül kültürü ve embriyo kültürü için E20A ortamı önerilebilir. Sonuç olarak erkenci ve çekirdeksiz çeşitlerle bunların melezlerinde "embriyo kültürü tekniğinin" kullanılabileceği ve melezlemeler yoluyla yeni çeşitlerin elde edilmesini sağlayacak bir teknik olarak asma ıslahında yararlanılabileceği saptanmıştır.

5. Kaynaklar

- Agüero, C., Riquelme, C., and Tizio, R., 1995. Embryo Rescue from Seedless Grapevines (*Vitis vinifera* L.) Treated with Growth Retardants. *Vitis*, 34(2): 73-76.
- Cain, D. W., Emershad, R.L. and Trailo, R.E., 1983. In Ovulo Embryo Culture and Seedling Development of Seeded and Seedless Grapes (*V. vinifera* L.). *Vitis*, 22, 9-14.
- Bajaj, Y.P.S. 1990. Biotechnology in Agriculture and Forestry Volume 12. Haploids in Crop Improvement 1. Springer Verlag Berlin. Germany. Heidelberg, 372-380.
- Bhojwani, S.S. and Razdan, M.K., 1983. Plant Tissue Culture. Elsevier Science Publishing Comp. Inc. USA: 488p.
- Fernandez, G.E., Clark, J. R. and Moore, J. N., 1991. Effect of Seedcoat Manipulation on the Germination of Stenospermocarpic Grape Embryo Cultured in Ovulo. *Hortscience*, 26(9): 1220.
- Fırat M.Z. ve Onay A. 1997. Bitki Doku Kültürü Çalışmalarından Elde Edilen Binom Verilerinin Genelleştirilmiş Lineer Modeller Kullanımlararak Analizi. *Turkish Journal of Botany*, 23: 261-267.
- Goldy, R.G., Ramming, D.W., Emershad, R.L. and Chaparro, J.X., 1988. Increasing Production of *V. vinifera* x *V. rotundifolia* Hybrids Through Embryo Rescue. *Hortscience*, 24(5): 820-822.
- Goldy, R.G., Emershad, R.L., Ramming, D.W. and Chaparro, J.X., 1989. Embryo Culture as a means of Introgressing Seedlessness from *V. vinifera* to *V. Rotundifolia*. *Hortscience*, 23(5): 886-889.
- Gray, D.J., Fisher, L.C. and Mortensen, J.A., 1987. Comparison of Methodologies for In Ovulo Embryo Rescue of Seedless Grapes. *Hortscience*, 22(6): 1334-1335.
- Gribaudo, I., Zanetti, R., Botta, R., Vallania, R. and Eynard, I., 1993. In Ovulo Embryo Culture of Stenospermocarpic Grapes. *Vitis*, 32:9-14.

- Horiuchi, S., Kurooka, H. And Furuta, T., 1991. Studies on the Embryo Dormancy in Grape. J. of Japanese Soc. Hort. Sci., 60: 1, 1-7.
- Marasah, B., 1992. Çavuş Üzüm Çeşidinde Tohum Taslakları ve Embriyo Gelişimi ile Boş Çekirdeklik Arasındaki İlişkiler Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ank. Univ. Fen Bil. Enst. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- Pearson, H.M., 1932. Parthenocarpy and Seed Abortion in *Vitis vinifera*. Proc. of Ame. Soc. for Hort. Sci., 29, 169-175.
- Pierik, R.L.M., 1989. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers. 321p.
- Ramming, D. W., 1985. In Ovalo Embryo Culture of Early Maturing *Prunus*. Hortscience., 20(3): 419-420.
- Ramming, D.W., 1990. The Use of Embryo Culture in Fruit Breeding. Hortscience, 25(4): 393-398.
- Ramming, D. W., Emershad, R. L., Spiegel-Roy, P., Shar, N. and , Baron, I., 1990. Embryo Culture of Early Ripening Seeded Grape (*Vitis vinifera*) Genotypes. Hortscience.25(3): 339-342.
- San, N., 1994. Karpuzlarda İşinlenmiş Polen Uyartımıyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Genotipin ve Mevsimin Etkisi ile İşinlama Yerine Geçebilecek Uygulamalar Üzerinde Çalışmalar, Doktora Tezi. Ç.Ü. Fen. Bil. Enst. Bahçe Bit. Anabilim Dalı, Adana, 244s.
- Singh, Z., Brar, S. J. S. and Gosal, S.S., 1991. Ovule Culture of Seedless Grapes (*Vitis vinifera L.*) c.v. Perlette. Acta Horticulturae, 300: 325-330.
- Spiegel-Roy, P., Shar, N., Baron, I. and Lavi, U., 1985. In Vitro Culture and Plant Formation from Grape Cultivars with Abortive Ovules and Seeds. J. Amer. Soc.Hort. Sci., 110(1). 109-112.
- Streim, M.J., Spiegel-Roy, P., Baron, J. and Shar, N., 1992. The Degrees of Development of Seedcoat and The Endosperm as Subtraits of Stenospermocarpic Seedlessness in Grapes. Vitis, 31: 149-155.
- Tangolar, S., Gök, S., Ergenoğlu, F. ve Çetiner, S. 1998. Bazı Çekirdeksiz Üzüm Çeşitlerinin Embriyo Kültüründen Yararlanılarak Çoğaltıması. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 22:87-92.
- Tangolar, S., Gök,S., Ergenoğlu F. Ve Çetiner, S. 1999.Bazı Erkenci Üzüm Çeşitlerinin Embriyo Kültürü Kullanılarak Çoğaltıması. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 373-377.
- Tsolova, V., 1990. Obtaining Plants from Crosses of Seedless Grapevine Varieties by Means of In Vitro Embryo Culture. Vitis, 29:1-4.