

Asmada (*Vitis vinifera L.*) Sürgün Ucu Kaynağının *In Vitro* Mikroaşılamada Başarı Üzerine Etkileri

Nilgün GÖKTÜRK BAYDAR, Hasan ÇELİK
Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.01.1998

Özet: Bu araştırma ile, sürgün ucu kaynağının asmada *in vitro* mikroaşılamada başarı üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bitkisel materyal olarak Kalecik karası, Emir, Uslu, Hafızali ve Razakı üzüm çeşitlerine ait sürgün ucu meristemleriyle Kober 5 BB anacına ait çöğürler kullanılmıştır.

Sürgün ucu meristemleri hem *in vivo* (aktif gelişme dönemindeki omcalardan alınan sürgünler ve bir yaşlı çeliklerin serada sürdürülmesiyle elde edilen sürgünler), hem de *in vitro* (steril koşullarda sürgün ucu kültürü ile elde edilen sürgünler) kaynaklardan alınmıştır. Bu sürgün uçları ile tepeye yerleştirme yöntemiyle aşılanan bitkiler, katı MS ortamında iki ay süreyle kültüre alınmışlardır. Sonuçta, aşı tutma oranlarının sürgün ucu kaynağına göre değiştiği ve en yüksek aşı tutma oranlarının (%40.9-68.2) *in vitro* sürgün ucu ile aşılanan bitkilerden elde edildiği belirlenmiştir. Aşı tutma oranlarındaki bu farklılığa rağmen, sürgün ucu kaynağının mikroaşılamada sürgün ve kök gelişmesini fazla etkilemediği saptanmıştır. Ayrıca, asma mikroaşılarında başarının çeşitler arasında farklılıklar gösterdiği de tespit edilmiştir.

The Effects of Shoot Tip Source on the Success of *In Vitro* Micrografting in Grapevine (*Vitis vinifera L.*)

Abstract: In this experiment, the effects of the shoot tip source on the success of *in vitro* micrografting in grapevine were investigated. Shoot tip meristems of Kalecik karası, Emir, Uslu, Hafızali and Razakı grape cultivars were micrografted onto the seedlings of Kober 5 BB.

Shoot tip meristems were excised from either *in vivo* (shoots from actively growing vine in the vineyard and shoots flushed from one year-old cuttings in the greenhouse) or *in vitro* (shoots obtained by shoot-tip culture in aseptic conditions) sources. Plantlets micrografted on top of the decapitated seedlings were cultured in solid MS medium for two months. Consequently, it was determined that the success of micrografting was affected by the shoot tip source and the highest values (40.9-68.2 %) were obtained from *in vitro* shoot tips. It was also observed that the shoot tip sources had no marked effect on the shoot and or development of the micrografted plants, although the success of grafting was influenced by shoot tip sources. Furthermore, the success of the micrografting varied between the cultivars.

Giriş

Doku kültürü tekniklerinden biri olan *in vitro* mikroaşılama; bitki türlerine göre büyüklüğü 0.1-0.8 mm arasında değişen sürgün ucu parçasının, binoküler mikroskop altında, tohumdan ya da *in vitro* mikroçoğaltma yoluyla elde edilmiş ve tepesi vurularak değişik biçimlerde kesit açılmış anaçlar üzerine steril koşullarda yerleştirilmesi işlemidir.

1970'li yıllardan bu yana virüs ve benzeri hastalık etmenlerinden ari çoğaltma materyali elde etmek amacıyla, başta turuncgiller olmak üzere çok yıllık bahçe bitkilerinde kullanılmakta olan *in vitro* mikroaşılama (1,2,3); bağcılıkta 1980'li yıllardan bu yana kullanılan bir

tekniktir (4). Bu teknik, asma klonlarının virüs ve benzeri hastalık etmenlerinden arındırılmasında ve damızlık parsellerinin oluşturulmasında termoterapi, meristem kültürü ya da bu iki tekniğin kombinasyonuna göre daha avantajlı olmaktadır. Bağcılıkta *In vitro* mikroaşılama, virüslerden arındırılmış aşıli asma fidanı elde etme sürecini kısaltan bir yöntem olmasının yanında; anaç ve kalem ilişkilerinin incelenmesinde (5), hastalık etmenlerinin ayırımında (6) ve bir karantina önlemi olarak hastalık etmenlerinin taşınması ve yayılmasının önlenmesinde (7) de kullanım alanı bulmaktadır.

Anacın yetiştirilmesi ve aşıya hazırlanması, sürgün uçlarının izole edilmesi, aşılama ve aşıli bitkilerin bakımı

aşamalarından oluşan *in vitro* mikroaşılama çalışmalarından (8,9) başta turunçgiller olmak üzere bazı bitki türlerinde elde edilen sonuçlar; aralarındaki fizyolojik ve anatomik farklılıklar nedeniyle doğrudan asmaya uyarlanamamaktadır.

In vitro mikroaşılama çalışmalarında başarıyı önemli ölçüde etkileyen faktörlerden birisi, aşı kalemi olarak kullanılan sürgün ucu meristemini kaynağıdır. Tür, çeşit ve çalışmanın amacına göre *in vitro* mikroaşılamada kullanılan sürgün uçları; çeliklerin sürdürülmesiyle elde edilen sürgünler, termoterapi uygulanmış bitkiler, sera ya da arazi koşullarında yetiştirilen bitkiler ile sürgün ucu ya da tek gözlü mikro çeliklerin steril koşullarda kültüre alınmasıyla elde edilen *in vitro* bitkilerden sağlanabilmektedir. Anılan bu sürgün ucu kaynakları ile elma, kayısı ve turunçgiller üzerinde yapılan mikroaşılama çalışmalarında, başarı oranının sürgün ucu kaynaklarına göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir (3,10,11).

Bu araştırma ile, sürgün ucu kaynağının, asmada *in vitro* mikroaşılama başarısı üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Materyal

1995-1996 yıllarında Ankara üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü doku kültürü laboratuvarında yürütülen bu çalışmada, bitkisel materyal olarak Kalecik karası, Emir, Uslu, Hafızali ve Razakı üzüm çeşitleri ile dişi çiçek yapısı nedeniyle tohum oluşturabilen

Kober 5 BB anacı kullanılmıştır. Üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerinin önemli özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur (12,13).

Mikroaşılama çalışmalarında, üzüm çeşitlerine ait farklı kaynaklardan sağlanan iki yaprak taslağına sahip sürgün ucu meristemleri ile Kober 5 BB anacına ait çöğürler kullanılmıştır.

Metot

Çöğür anacın yetiştirilmesi ve aşıya hazırlanması

Araştırmada anaç olarak, Kober 5 BB'ye ait tohumların *in vitro* koşullarda çimlendirilmesiyle elde edilen çöğürler kullanılmıştır. Bu amaçla tohumlar, fizyolojik dinlenmeden çıkabilmeleri için +4 °C'de 3 ay süreyle katlanmışlar, ardından %70'lik etil alkol içinde 1 dakika ve %30'luk sodyum hipoklorit çözeltisi içinde 10 dakika tutularak yüzey dezenfeksiyonları yapılmıştır. Bu işlemden sonra dezenfektan maddenin uzaklaştırılması amacıyla tohumlar, herbiri en az 5 dakika olmak üzere 3 kez steril damıtık su ile yıkanmışlardır. Dezenfekte edilen tohumlar, sert tohum kabuğunun yumuşatılarak çimlenmenin uyarılması amacıyla, 24 saat steril saf su içinde bırakılmışlardır. Daha sonra 0.5 mg/l GA₃ (Gibberellik asit) ve 30 g/l sakkarozla desteklenmiş ve 1 g/l agarla katılaştırılmış Murashige ve Skoog (MS) mineral tuzlarını içeren besin ortamında kültüre alınmışlardır (14). Yaklaşık üç haftalık bir gelişme döneminin ardından, iki gerçek yaprağı bulunan çöğürler, mikroaşılamaya hazırlık olarak epikotil kısmı 1-1.5 cm, kök kısmı da 2-3 cm uzunlukta kalacak şekilde kesilerek aşıya hazır hale getirilmişlerdir.

Çeşitler	Kalecik karası	Emir	Uslu	Hafızali	Razakı	
Değerlendirme şekli	Şaraplık	Şaraplık	Sofralık	Sofralık	Sofralık	
Salkım	Şekli	Konik-kanatlı	Konik	Konik-silindirik	Konik	Kanatlı-konik
	Büyüklüğü	Orta	Orta	Orta	İri	İri
	Sıklığı	Sık	Sık	Seyrek	Orta	Orta
Tane	Şekli	Yuvarlak	Yuvarlak	Elips	Uzun-elips	Uzun-elips
	Büyüklüğü	Orta	Orta	İri	İri	İri
	Rengi	Siyah	Yeşil-sarı	Koyu kırmızı	Yeşil-sarı	Yeşil-sarı
Gelişme	Çekirdek	1-2	2-3	2-3	1-3	2-4
	Kuvvetli	Kuvvetli	Kuvvetli	Kuvvetli	Çok kuvvetli	Kuvvetli
Verimlilik	Orta-iyi	İyi	Orta	Yüksek	Yüksek	
Olgunlaşma zamanı	Orta mevsim	Orta-geç	Çok erken	Orta-geç	Orta mevsim	

Tablo 1. Üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerinin önemli özellikleri

Üzüm çeşitlerine ait sürgün ucu meristemlerinin elde edilmesi

Araştırmada, üzüm çeşitlerine ait hem *in vitro* hem de *in vivo* sürgün uçları kullanılmıştır. Üzerinde çalışılan çeşitlerin aktif gelişme dönemindeki omcaları ile bunların bir yaşlı dallarının su içinde sürdürülmesiyle elde edilen sürgünler *in vivo*; bu sürgün uçlarının steril koşullarda kültüre alınmasıyla elde edilen bitkiler de *in vitro* sürgün ucu kaynağını oluşturmuşlardır.

In vivo sürgün ucu meristemlerinin elde edilmesi

Mayıs ayında bağdaki omcalar ile çeliklerin serada sürdürülmesiyle elde edilen sürgünlerden izole edilen sürgün uçları, aşı kalemi olarak kullanılmadan önce dezenfekte edilmişlerdir. Bu amaçla, sürgün ucu meristemini taşıyan 2.5-3 cm uzunluktaki sürgün ucu bölümü dezenfeksiyona hazırlık olarak önce akan su altında yıkanmış, ardından 1-2 damla %0.01'lik Tween 20 ilave edilmiş %10'luk sodyum hipoklorit çözeltisi içinde 15 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra herbiri en az 5 dakika olmak üzere 3 kez steril saf su ile çalkalanarak durulanmıştır. Bu işlem sonunda, 2 yaprak taslağı içeren sürgün ucu meristemi binoküler mikroskop altında izole edilerek, mikroaşılama çalışmalarında kullanılmıştır.

In vitro sürgün ucu meristemlerinin elde edilmesi

Araştırmada *in vitro* sürgün ucu kaynağı olarak kullanılan çeliklerin serada sürdürülmesi ile elde edilen 3-4 yaprak taslaklı sürgün uçları, yukarıda açıklandığı şekilde dezenfekte edildikten sonra 0.5 mg/l GA₃, 2.5 mg/l BAP (Benzil amino pürin, 30 g sakkaroz ve 6 g/l agar içeren MS besin ortamına dikilmişlerdir. İlk dikim ortamında 3 haftalık gelişmelerini tamamlayan sürgün uçları, daha sonra 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l IBA (İndol-3 bütirik asit) içeren sürgün ortamına transfer edilmişlerdir (15). Sürgün ortamında 3 haftalık gelişmenin ürünü olan sürgünler birbirinden ayrılarak yeni ortamlara dikilmişlerdir. Bu sürgünlerden izole edilen 0.3-0.8 mm büyüklüğündeki 2 yaprak taslaklı meristemler, binoküler mikroskop altında çok ince pens ve bistürü yardımıyla izole edilerek mikroaşılama çalışmalarında kullanılmışlardır.

Aşılama

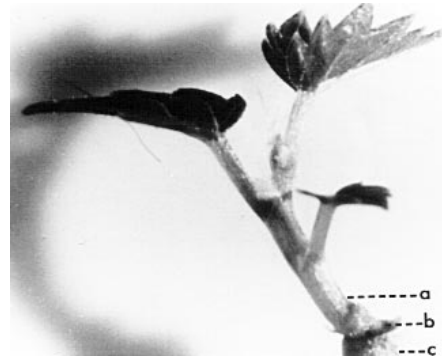
Aşı kalemi olarak kullanılmak üzere izole edilen sürgün ucu meristemleri, mikroaşılama tekniğinde üzüm çeşitleri için en uygun aşılama yöntemi olarak belirlenen (14) "Tepeye yerleştirme" yöntemi ile Kober 5 BB ye ait

çöğür anaçlar üzerine aşılanmışlardır. Bu aşılama yönteminde sürgün ucu meristemi epikotilin kesilmesi ile açıkta kalan iletim halkası üzerine iyice temas edecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 1). Bu şekilde mikroaşılanan bitkiler, 30 g sakkaroz ve 6 g/l agar içeren MS besin ortamına dikilmişlerdir (14). İki aylık gelişmelerinin ardından tüplerden çıkartılan mikroaşılı bitkiler (Şekil 2), aşı tutma oranları ile gelişme özellikleri (sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün yaş ve kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlığı) bakımından incelenmişlerdir.

Araştırmada her bir uygulama için 22 mikroaşı yapılmış olup, tutan mikroaşılı bitki sayısı her bir uygulamada farklı olduğu için aşı tutma oranları %, gelişme özellikleri de ortalama değerler üzerinden değerlendirilmiştir.

Bulgular

In vitro koşullarda 8 haftalık gelişmelerini tamamlayan mikroaşılı bitkilerden bir kısmının aşı kalemi olarak

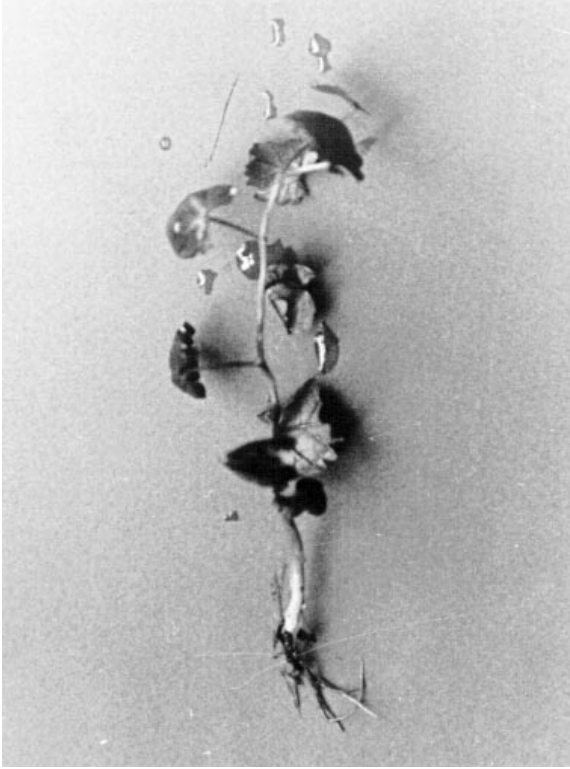


Şekil 1. Tepeye yerleştirme yöntemiyle mikroaşılanmış bitkinin bir aylık gelişimi.

a- sürgün b- aşı yeri c- anaç

kullanılan sürgün ucu meristeminden başlayarak kuruduğu, bir kısmının da meristemin canlılığını korumasına karşın herhangi bir gelişme gösteremediği tespit edilmiştir. Bu durumda olan kültürler başarısız aşılama olarak değerlendirilirken, sürgün gelişimi gösteren kültürler ise başarılı aşılama olarak kabul edilmiştir.

Sürgün ucu kaynaklarının değerlendirilmesinde ise %30'luk değer sınır kabul edilerek (3, 16, 17), %30 ve üzerinde aşı tutma oranının elde edildiği sürgün ucu kaynağı başarılı olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 2. İki aylık gelişmelerini tamamlamış mikroaşılı bir bitki.

Aşı tutma oranı (%)

Sürgün ucu kaynağına göre Kober 5 BB anacı üzerine aşılı üzüm çeşitlerinde elde edilen aşı tutma oranları Tablo 2 ve Şekil 3'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, tüm çeşitler için kullanılan 3 farklı sürgün ucu kaynağı içinde en yüksek aşı tutma oranları *in vitro* sürgün ucu meristemleri ile yapılan mikroaşıllardan elde edilmiştir.

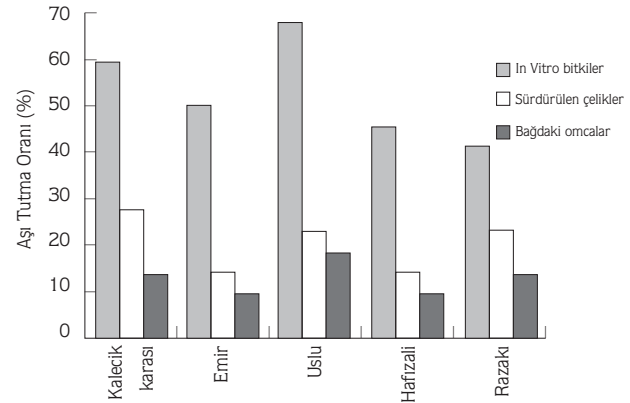
Sera koşullarında sürdürülen çeliklerden alınan sürgün ucu meristemlerinden %27.3 ile 13.6 arasında değişen aşı tutma oranları elde edilirken, denemeye alınan üç sürgün ucu kaynağı içinde en düşük değerler bağdan alınan sürgün uçları ile yapılan mikroaşıllardan elde edilmiştir.

Mikroaşıllarda sürgün gelişimi

Aşı kalemi olarak kullanılan sürgün ucu meristeminin iki aylık kültür dönemi içindeki gelişmelerinin en iyi göstergeleri sürgün uzunluğu, sürgündeki yaprak sayısı ile sürgün yaş ve kuru ağırlıklarıdır. Bütün bu özellikler yönüyle en yüksek değerler, Kalecik karası ve Emir üzüm çeşitlerinde bağdan alınan, diğer çeşitlerde ise serada sürdürülen çeliklerden alınan sürgün uçları ile mikroaşıllanan bitkilerden elde edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 2. Sürgün ucu kaynağının asma mikroaşıllarında aşı tutma oranları üzerine etkileri

Çeşitler	Sürgün ucu kaynağı	Aşı tutma oranı (%)
Kalecik karası	<i>In vitro</i> bitkiler	59.1
	Sürdürülen çelikler	27.3
	Bağdaki omcalar	13.6
Emir	<i>In vitro</i> bitkiler	50.0
	Sürdürülen çelikler	13.6
	Bağdaki omcalar	9.1
Uslu	<i>In vitro</i> bitkiler	68.2
	Sürdürülen çelikler	22.7
	Bağdaki omcalar	18.2
Hafızali	<i>In vitro</i> bitkiler	45.5
	Sürdürülen çelikler	13.6
	Bağdaki omcalar	9.1
Razaki	<i>In vitro</i> bitkiler	40.9
	Sürdürülen çelikler	22.7
	Bağdaki omcalar	13.6



Şekil 3. Sürgün ucu kaynağına göre aşı tutma oranları.

Ancak Tablo 3'deki değerlerin incelenmesinden de anlaşıldığı gibi, 3 farklı kaynaktan alınan sürgün ucu ile mikroaşıllanan çeşitler arasında bu özellikler yönüyle görülen belirgin farklılığa karşın, aynı çeşit içinde sürgün ucu kaynağına göre önemli bir değişimin görülmediği, diğer bir deyimle sürgün ucu kaynağının sürgün uzunluğu, sürgündeki yaprak sayısı ile sürgün yaş ve kuru

ağırlıkları üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Mikroaşılarda kök gelişimi

Üzerinde çalışılan çeşitlere ait üç farklı kaynaktan alınan sürgün ucunun, anaç olarak kullanılan Kober 5 BB çöğürlerinde kök uzunluğu ile kök yaş ve kuru ağırlığı üzerine etkileri Tablo 4'de verilmiştir. Buna göre, aşı kalemine ait özelliklerde olduğu gibi anaca ait bu gelişme özelliklerinin çeşitlere göre değiştiği, ancak aynı çeşitte sürgün ucu kaynağına göre belirgin bir farkın meydana gelmediği belirlenmiştir.

Tartışma

In vitro mikroaşılama sürgün ucu kaynağı, başarıyı etkileyen önemli faktörlerden biridir. Mikroaşılama için en uygun sürgün ucu kaynağının belirlenmesi amacıyla, Kalecik karası, Emir, Uslu, Hafızali ve Razakı üzüm çeşitlerine ait *in vitro* bitkilerden izole edilen sürgün uçlarının yanısıra, serada sürdürülen çelikler ile aktif gelişme durumundaki omcalardan alınan *in vivo* sürgün uçlarının kullanıldığı bu araştırmanın sonucunda, en

yüksek aşı tutma oranları *in vitro* bitkilerden alınan sürgün uçları ile yapılan mikroaşılardan sağlanmıştır. Bu bulgulara benzer şekilde, elmalarda (10) ve kayısılarda (9,11) *in vitro* bitkilerden alınan sürgün uçlarının, bahçede ya da serada yetiştirilen bitkilerden alınanlara göre, mikroaşılama daha başarılı sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Buna karşın, bahçede yetiştirilen bitkilerden alınan sürgün uçlarının turuncgil mikroaşılama için uygun bir sürgün ucu kaynağı olduğu belirtilmektedir(3). Araştırmacılar sözkonusu sürgün uçları ile %30-40 oranında başarı sağlandığını, *in vitro* sürgün uçları ile bu oranın %20-30'a, çeliklerin sürdürülmesiyle elde edilen sürgün uçları ile de %15-25'e düştüğünü tespit etmişlerdir.

Bu çalışmadan elde edilen bir diğer önemli bulgu da, aşıda başarının çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiği gerçeğidir. Benzer şekilde turuncgiller (3, 18, 19, 20), badem (21), kiraz (22) ve antepfıstığı (23) yapılan araştırmalarda da mikroaşılama elde edilen başarının tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir.

Serada sürdürülen çeliklerden ya da bağda yetiştirilen omcalardan alınan sürgün uçları ile yapılan

Tablo 3. Sürgün ucu kaynağının aşı sürgününün gelişmesi üzerine etkileri

Çeşitler	Sürgün ucu kaynağı	Sürgün uzunluğu(cm)	Yaprak sayısı (adet)	Sürgün yaş ağırlığı(g)	Sürgün kuru ağırlığı(g)
Kalecik karası	<i>In vitro</i> bitkiler	16.36±1.028	18.23±2.311	0.83±0.076	0.18±0.006
	Sürdürülen çelikler	15.35±0.836	18.14±2.143	0.75±0.073	0.17±0.007
	Bağdaki omcalar	16.57±0.921	18.43±1.342	0.86±0.062	0.19±0.007
Emir	<i>In vitro</i> bitkiler	10.68±0.651	11.43±1.604	0.58±0.072	0.07±0.005
	Sürdürülen çelikler	10.61±0.781	11.65±1.616	0.62±0.065	0.07±0.005
	Bağdaki omcalar	11.55±0.800	12.03±1.536	0.69±0.074	0.08±0.006
Uslu	<i>In vitro</i> bitkiler	10.71±0.843	11.83±1.321	0.63±0.074	0.08±0.006
	Sürdürülen çelikler	11.28±0.118	12.27±1.283	0.67±0.037	0.09±0.007
	Bağdaki omcalar	10.62±0.862	11.61±1.283	0.60±0.041	0.08±0.005
Hafızali	<i>In vitro</i> bitkiler	17.74±0.523	19.28±1.332	0.91±0.064	0.18±0.006
	Sürdürülen çelikler	18.682±0.514	19.84±1.464	0.98±0.018	0.20±0.005
	Bağdaki omcalar	17.88±0.741	19.35±1.917	0.94±0.023	0.19±0.004
Razakı	<i>In vitro</i> bitkiler	15.421±0.182	16.05±1.272	0.73±0.082	0.07±0.007
	Sürdürülen çelikler	16.15±0.092	16.85±1.271	0.77±0.094	0.09±0.006
	Bağdaki omcalar	15.51±0.087	16.15±1.314	0.75±0.062	0.08±0.005

Tablo 4. Sürgün ucu kaynağının Kober 5 BB çöğür anacında kök gelişmesi üzerine etkileri

Çeşitler	Sürgün ucu kaynağı	Kök uzunluğu(cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)
Kalecik karası	<i>In vitro</i> bitkiler	4.35±0.748	0.67±0.033	0.08±0.007
	Sürdürülen çelikler	4.12±0.814	0.65±0.037	0.07±0.007
	Bağdaki omcalar	5.34±0.672	0.69±0.052	0.08±0.005
Emir	<i>In vitro</i> bitkiler	5.58±0.416	0.52±0.041	0.06±0.006
	Sürdürülen çelikler	5.63±0.683	0.52±0.036	0.06±0.005
	Bağdaki omcalar	5.05±0.543	0.49±0.043	0.05±0.004
Uslu	<i>In vitro</i> bitkiler	6.71±0.824	0.58±0.033	0.04±0.005
	Sürdürülen çelikler	6.82±0.812	0.61±0.021	0.05±0.007
	Bağdaki omcalar	6.32±0.514	0.59±0.051	0.04±0.006
Hafızali	<i>In vitro</i> bitkiler	4.25±0.326	0.63±0.074	0.07±0.005
	Sürdürülen çelikler	4.35±0.812	0.66±0.062	0.08±0.005
	Bağdaki omcalar	5.03±0.654	0.64±0.076	0.07±0.004
Razakı	<i>In vitro</i> bitkiler	5.22±0.623	0.41±0.075	0.05±0.006
	Sürdürülen çelikler	5.92±0.481	0.44±0.064	0.05±0.005
	Bağdaki omcalar	5.62±0.663	0.40±0.062	0.04±0.004

mikroaşıllarda başarının düşük olmasının, bu sürgün uçlarında bulunan yoğun koruyucu tüyler ve stipüler pullar nedeniyle, meristeme zarar vermeksizin izole edilmelerinin daha zor ve uzun zaman almasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü sürgün uçlarının kuruyarak canlılıklarını yitirmeden hızlı bir şekilde izole edilip anaç üzerine yerleştirilmesi, mikroaşılamada başarı üzerine son derece etkilidir. Bunun yanısıra *in vivo* sürgün uçlarının, *in vitro* sürgün uçlarına göre daha büyük olmaları, aşılama sırasında bu sürgün uçlarının anaç üzerine tam olarak yerleştirilememelerine yol açtığından, sonuçta bir kısmı açıkta kalan bu sürgün uçlarının kısa sürede kuruyarak canlılıklarını yitirmeleri de mikroaşılamada başarısızlığın bir diğer önemli nedenini oluşturmaktadır. Ayrıca, *in vivo* sürgün uçlarının aşılama öncesi dezenfeksiyona ihtiyaç duymaları ve alındıkları dönemin başarıyı etkilemesi (11) de bu sürgün uçlarının diğer riskli yönünü oluşturmaktadır. Nitekim, *in vivo* bitkilerin bünyelerinde bulunan fenolik bileşikler ile hormon içerikleri arasındaki dengenin doku kültürü çalışmalarını önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle, polifenol oksidaz ve peroksidaz aktivitesinin yüksek olduğu dönemde alınan sürgün uçlarının kullanıldığı mikroaşıllarda, enzimatik oksidasyondan dolayı

aşı yerinde kahverengileşme görülmekte ve aşu kalemi kuruyarak kısa sürede canlılığını yitirmektedir (24).

Şeftalide (25) ve kayısıda (11) değişik dönemlerde alınan *in vivo* sürgün uçları ile yapılan mikroaşılama çalışmalarında başarının peroksidaz aktivitesine bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Bu durum, *in vivo* mikroaşılama çalışmalarında başarının sürgün ucunun alındığı döneme de bağlı olduğunu kanıtlamaktadır. Oysa *in vitro* bitkilerden alınan sürgün uçları kullanıldığında, mevsimlere bağlı olmaksızın yılın her döneminde yüksek oranda başarı elde edilebilmektedir. Diğer yandan, *in vitro* bitki elde etme katsayısının yüksek olması da bu kaynağın bir diğer üstün tarafını oluşturmaktadır. *In vivo* sürgün uçları kullanıldığında, tek bir sürgün ucundan sadece tek bir mikroaşı yapılabilir. Oysa, *in vitro* koşullarda alt kültüre alınmak suretiyle tek bir sürgün ucundan çok sayıda sürgün ucu elde edilmesi mümkün olmaktadır. Bu durum, özellikle aşu materyalinin sınırlı olduğu durumlarda ve karantina önlemlerinin aşılması açısından da büyük önem taşımaktadır (3). Nitekim başta virüs hastalıkları olmak üzere bazı hastalık etmenleri çelik, aşu kalemi, aşu gözü gibi vegetatif çoğaltma materyalleri ile taşınmaktadır. Bu vegetatif materyallerin değişik bölge ve ülkelere nakledilmesi çoğu zaman bu hastalık etmenlerinin de yayılmasına neden olmaktadır. Oysa *in*

vitro mikroaşılama ile elde edilen bitkilerin kaynağını tohum ve meristem oluşturduğu için bu hastalık etmenlerini taşımamakta ve vegetatif çoğaltma kaynağı olarak herhangi bir hastalık riski olmaksızın kullanılabilirlerdir (3).

Araştırma sonuçları toplu olarak değerlendirildiğinde, asma mikroaşılarında aşı tutma oranlarının sürgün ucu

kaynağına göre değiştiği; ancak aşı sürgünü ve kök sistemine ait gelişme özellikleri üzerinde sürgün ucu kaynağının belirleyici bir etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Mikroaşılamada başarı yönünden çeşitler arasında da önemli farklılıkların gözlemlendiği araştırmada, asma için *in vitro* bitkiler, en uygun sürgün ucu kaynağı olarak belirlenmiştir.

Kaynaklar

1. Bitters, W.P., Murashige, T., Rancan, T.S., Nauer, E.M., Investigation on Establishing Virus-Free Citrus Plants Through Tissue Culture. In. Proc. 5th. Conf. Intern. Org. Citrus Virol. Ed: W. Price. Univ. FL. Press, Gainesville, 267- 271, 1972.
2. Murashige, T., Bitters, W.P., Rangan, T.S., Nauer, E.M., Roistacher, C.N., Holliday, P.B., A Technique of Shoot Apex Grafting and its Utilization Towards Recovering Virus-Free Citrus Clones. HortScience 7(2):118-119, 1972.
3. Navarro, L., Roistacher, C.N., Murashige, T., Improvement of Shoot Tip Grafting *In Vitro* for Virus-Free Citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100(5):471-479, 1975.
4. Benin, M., Grenan, S., Le Microgreffage: Nouvelle Technique D'élimination des Virus de la Vigne. Le Progrés Agricole et Viticole 2: 33-36, 1984.
5. D'Khili, B., Michaux-Ferriere, N., Grenan, S., Etude Histochemique de l'incompatibilité au Microgreffage et Greffage de Boutures Herbacées Chez la Vigne. Vitis 34(3):135-140, 1995.
6. Roistacher, C.N., Kitto, S.L., Elimination of Additional Citrus Viruses by Shoot-Tip Grafting *In Vitro*. Plant Dis. Rptr. 61:594-596, 1977.
7. Ellis, D.M., Whervin-Van, W., Improving Citrus Production in Jamaica Through Phytosanitation. St. Lucia, 1-10, 1986.
8. Navarro, L., Llacer, G., Cambra, M., Arregui, J.M., Juarez, J., Shoot Tip Grafting *In Vitro* for Elimination of Viruses in Peach Plants (*Prunus persica* Batsch). Acta Horticulturae 130:185-192, 1982.
9. Deogratias, J.M., Lutz, A., Dosba, F., *In vitro* Shoot Tip Micrografting from Juvenile and Adult *Prunus avium* and *Prunus persica* to Produce Virus-Free Plants. Acta Horticulturae 193:139-145, 1986.
10. Huang, S.C., Millikan, D.F., *In vitro* Micrografting of Apple Shoot Tips. HortScience 15 (6):741-743, 1980.
11. Deogratias, J.M., Castelloni, V., Dosba, F., Juarez, J., Arregui, J.M., Ortega, C., Ortega, V., Llacer, G., Navarro, L., Study of Growth Parameters on Apricot Shoot Tip Grafting *In Vitro*. Acta Horticulturae 293:363-371, 1991.
12. Çelik, H., Başı, C., Gökçay, E., Kara, Z., Özışık, S., Ecevit, F., Söylemezoğlu, G., Turan, A., Gürsöz, S., Bağcılıkta Tüketim Projeksiyonları ve Üretim Hedefleri, Türkiye Ziraat Mühendisliği IV. Teknik Kongresi. T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları No:26, 9-13 Ocak, TÜBİTAK Feza Gürsey Salonu, Ankara, 1995.
13. Tangolar, S., Ergenoğlu, S., Gök, S., Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma Bağı Üzüm Çeşitleri Kataloğu. Ç. Ü. Zir. Fak. Yayın No:131. Ç. Ü. Zir. Fak. Ofset Atölyesi, Adana. 94 s, 1996.
14. Göktürk-Baydar, N., Bağcılıkta *In Vitro* Mikroaşılama Tekniği ile Çoğaltma Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 99 s, 1997.
15. Çelik, H., Batur, M., Effect of Different Auxin-Cytokinin on Shoot and Root Formation for Micropropagation of Kalecik karası cv. and 41 B M.G. Rootstocks cv. by Meristem Culture. Proceeding of the 5th. Int. Sym. on Grape Breeding, 532-537. 12-16 Sep. 1989. St. Martin/Plafz, 1990.
16. Tamer, İ., Virüs ve Virüs Benzeri Hastalık Etmenlerinin Navel Portakallarından Arındırılması. Ç.Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 68 s, 1988.
17. Topakbaş, M., Turunçgil Çeşitlerinde Mikroaşılama Tekniğinde Kullanılan Farklı Kesim Şekillerinin Aşıda Başarı Üzerine Etkileri. Ç.Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 68 s, 1992.
18. Tusa, N., De Pasquale, F., Radogna, L., Research on the Micrografting Technology in Citrus, Ed: P. R. Cory. Proc. Int. Soc. Citruculture 143-145 p, Aug, 15-23, Sydney, Australia, 1980.
19. Edriss, M.H., Burger, D.W., Micrografting Shoot Tip Culture of Citrus on Tree Trifoliolate Rootstocks. Scienta Horticulturae 23:255-259, 1984.
20. Starrantiono, A., Caruso, A., The Influence of Certain Growth Regulators on the Success of Micrografting in Citrus. Horticultural Abs. 57:02957, 1987.
21. Juarez, J., Camarasa, E., Ortega, V., Arregui, J.M., Cambra, N., Llacer, G., Navarro, L., Recovery of Virus-Free Almonds Plants by Shoot Tip Grafting *In Vitro*. Acta Horticulture 309:393-400, 1992.
22. Kırbayır, T., Bazı Kiraz Çeşitlerinin (*Prunus avium*) Mikroaşılama Yöntemiyle Çoğaltılmaları, A.Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 53 s, 1995.
23. Kuyucu, S., Antepfıstıklarının *In Vitro* Koşullarda Mikroaşılanması, Ç.Ü. Fen Bil. Ens. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 35 s, 1995.
24. Poessel, J.L., Martinez, J., Macheix, J.J., Jonard, R., Variations Saisonnières de L'aptitude au Greffage *In Vitro* D'apex de Pécher (*Prunus persica* Batches). Relations Avec les Teneurs en Coomposés Phénoliques et les Activités Peroxydasiques et Polyphenol-oxydasiques. Physiol. Veg. 18:665-675, 1980.
25. Jonard, R., Micrografting and its Applications to Tree Improvement. In Biotechnology in Agriculture and Forestry. Ed: Y. P. Bajaj, 1:31-48. Springer-Verlag, Berlin, 1986.