



ANKARA ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GENOTİP VE ÇEVRE FAKTÖRLERİNİN
ASMADA (*Vitis vinifera* L. cvs) DOĞAL
POLİEMBRYONİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet BİLİR

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Mart 2002

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

120093

GENOTİP VE ÇEVRE FAKTÖRLERİNİN ASMADA
(*Vitis vinifera* L. cvs.) DOĞAL POLİEMBRİYONİ
ÜZERİNE ETKİLERİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
BİLİMSEL ARAŞTIRMA MERKEZİ

Mehmet BİLİR

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

120093

ANKARA

2002

Her hakkı saklıdır

150033

150033

Prof. Dr. Y. Sabit AĞAOĞLU danışmanlığında, **Ziraat Mühendisi Mehmet BİLİR** tarafından hazırlanan bu çalışma **08 / 03 / 2002** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan : **Prof. Dr. Y. Sabit AĞAOĞLU**

Prof. Dr. Zeki KARA

Doç. Dr. Birhan MARASALI

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Metin OLGUN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GENOTİP VE ÇEVRE FAKTÖRLERİNİN ASMADA (*Vitis vinifera* L. cvs.) DOĞAL POLİEMBRİYONİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet BİLİR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Y. Sabit AĞAOĞLU

Poliembriyoni, tüm *Angiosperm*'lerde olduğu gibi asmada da haploidinin doğal kaynağıdır. Bu sebeple araştırmacıların ilgi kaynağı olmuştur. Bu çalışmada ülkemizin önemli şaraplık çeşitlerinden Kalecik karası, Hasandede, Narince ve Emir çeşitleriyle literatürde yer alan, diğer poliembriyoni çalışmalarında başarılı sonuçlar verdiği bilinen yabancı kökenli Pinot noir çeşidinin poliembriyoni frekansı ve poliembriyoni üzerinde genotip ve çevre faktörlerinin etkileri araştırılmıştır. Çeşitlere bağlı olarak çimlenmiş tohumlar arasında %0.044 ile % 0.082 arasında doğal poliembriyoni frekansı tespit edilmiştir. En yüksek poliembriyoni oranı Emir çeşidinde %0.082 olarak gözlemlenirken, Hasandede'de % 0.044, Kalecik karası ve Pinot noir'de %0.049, Narince'de % 0.059 olarak görülmüştür. Çeşitlerin tamamında görülen poliembriyoni frekansı % 0.057'dir.

Farklı çimlendirme sıcaklıklarının poliembriyoni üzerine etkilerinin incelendiği denemede 24 °C ve 27 °C'de çimlendirilen tohumlarda daha fazla poliembriyoni gözlemlenmiştir. Farklı anaçların poliembriyoniye etkilerinin araştırıldığı denemede 99 R anacı üzerine aşıllı Hasandede bitkilerinde en yüksek poliembriyoniye (% 0.216) ulaşılırken 5 BB'de % 0.147, 1103 P'de % 0.138 olarak tespit edilmiş, Kalecik karası'nın 5 BB anacı üzerine aşıllı olanlarında % 0.088 ve 1103 P anacı üzerindekielerde ise % 0.044 oranında poliembriyoni görülmüştür. Omca yaşlarının poliembriyoni üzerine etkilerinin incelendiği denemede genç (5 yaş) omcalarda hiç poliembriyoniye rastlanmazken, orta yaşlı (6-12 yaş) ve yaşlı (30 yaş) omcalarda birbirine yakın olmakla birlikte % 0.10 ve % 0.09 oranlarında poliembriyoni gözlemlenmiştir. Ekolojik farklılığın poliembriyoni üzerine etkisi tam olarak ortaya konamazken, yıllara göre iklimsel değişikliğin etkisinin incelendiği denemelerde iklimsel değişikliklerin poliembriyoni üzerine etkili olduğu saptanmıştır. Haploidinin ortaya konulması amacıyla yapılan kromozom sayım çalışmalarında ise yeterli sayıda poliembriyonik bitki oluşmadığı için net sonuçlar elde edilememiştir.

2002, 41 sayfa

ANAHTAR KELİMELE: Asma (*Vitis vinifera* L.), tohum, çimlenme, poliembriyoni, haploidi, genotip, çevresel faktörler

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF GENOTYP AND ENVIRONMENTAL FACTORS ON SPONTANEOUS POLYEMBRYONY IN VINEGRAPE (*Vitis vinifera* L. cvs.)

Mehmet BİLİR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Y. Sabit AĞAOĞLU

Polyembryony is a classical source of spontaneous haploidy as it is in all *Angiosperms*. It is why researchers have drawn their attention to it. In this study, effects of genotyp and environmental factors on polyembryony and it's frequency in some very important vinegrape cultivars of Turkey (*Vitis vinifera* L. cvs. Kalecik karası, Narince, Hasandede and Emir) and Pinot noir. Spontaneous polyembryony frequency was determined to vary between 0.044% and 0.082% in germinated seeds. The highest rate was 0.082% in Emir. The other varieties, Hasandede, Kalecik karası, Pinot noir and Narince had different polyembryony rates, 0.044%, 0.049%, 0.049%, and 0.059%, respectively. Polyembryony frequency observed for all cultivars was 0.057%.

To observe the effects of different germination temperatures on polyembryony, seeds germinated at 24°C and 27°C showed more polyembryony. Effects of rootstocks was also studied. Hasandede grafted onto 99 R showed the highest polyembryony (0.216%), whereas ones on 5 BB and on 1103 P 0.147%, 0.138%, respectively. Kalecik karası plants grafted onto 5 BB resulted in 0.088% and onto 1103 P gave 0.044% polyembryony. 5 years old vines showed no polyembryony, but 6-12 and 30 years old vines demonstrated similar values of polyembryony (0.10% and 0.09%). Ecological differences on polyembryony were not classified. However the effect of ecological changes over years had an effect on polyembryony. Because insufficient number of polyembryonic plants were obtained, certain results were not obtained from chromosome counting studies to see haploidy.

2002, 41 pages

KEY WORDS: Vinegrape (*Vitis vinifera* L.), seed, germination, polyembryony, haploidy, genotyp, environmental factors

TEŞEKKÜR

Ülkemizde bugüne kadar üzerinde hiç çalışma yapılmamış poliembriyonu konusunda genotip ve çevre faktörlerinin asmada doğal poliembriyonu üzerine etkileri konulu tez çalışmasına yönelmemi sağlayan ve çalışmalarım sırasında engin tecrübesi, desteği, yardımları ve değerli katkılarıyla tezimi yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Y. Sabit AĞAOĞLU (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü)'na sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım esnasında yakın ilgi gösteren, yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Şebnem ELLİALTIOĞLU (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı)'na, Sayın Doç. Dr. Birhan MARASALI ve Sayın Doç. Dr. İbrahim DEMİR (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü)'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezim süresinde destek ve yardımlarımı hiç eksik etmeyen sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Dilek DEĞİRMENCİ, Araş. Gör. Eda KARAAĞAÇ, Araş. Gör. Hüseyin KARATAŞ, Araş. Gör. Nurhan KÖSALİ ve Araş. Gör. Zeliha YAŞA (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü)'ya ve çalışmalarım süresince özverili yardımları ve destekleriyle ve çevirilerdeki yardımlarıyla tezime büyük katkılarda bulunan Zir. Müh. Esmâ ÖZTÜRK ve Zir. Müh. Tuğba DEMİRCİ'ye teşekkür ederim.

Ayrıca tezim süresince beni anlayışla karşılayan ve fedakârca destekleyen Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı Bilgi İşlem Şube eski Müdürü Hayatı KÜÇÜKÇAKAR (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gemlik İlçe Müdürü)'a, Zir. Müh. Ferhat ÖZBAŞ (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı Bilgi İşlem Şube Müdürü) ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, tezim boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç eksik etmeyen, fedakârca yardımlarıyla tezime katkıda bulunan aileme, eşim Ayşe ve oğlum Emre'ye teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet Bilir
Ankara, Mart 2002

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1. Materyal	10
3.2. Yöntem	10
3.2.1. Tohumların çıkarılması ve muhafazası	10
3.2.2. Katlama	11
3.2.3. Çimlendirme ve poliembriyoni oranı tespiti	11
3.2.4. Kromozom sayımları	13
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	14
4.1. Asmada (<i>V. vinifera</i> L.) çeşitler arasındaki genetik farklılığın çimlenme ve doğal poliembriyoni üzerine etkisi	14
4.2. Farklı çimlendirme sıcaklıklarının asma çeşitlerinde çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkileri	17
4.3. Farklı asma anaçlarının çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkileri	21
4.4. Omca yaşının asmada çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkisi	23
4.5. Ekolojik farklılığın çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkisi	24
4.6. Yıllara göre iklimsel değişikliğin asmada çimlenme ve doğal poliembriyoni üzerine etkisi	26
4.7. Tohumların çimlenme kinetiği	27
4.8. Poliembriyonik tohumlarda kromozom sayımı çalışmaları	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
6. KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Kalecik karası çeşidinde poliembriyonik tohumun çimlenme esnasındaki görünüşü.....	15
Şekil 4.2. Emir çeşidinde poliembriyonik tohumun çimlenme esnasındaki görünüşü.....	16
Şekil 4.3. Tohumların 2000 yılına ait çimlenme kinetiği.....	28
Şekil 4.4. Tohumların 2001 yılına ait çimlenme kinetiği.....	28
Şekil 4.5. Hasandede çeşidine ait poliembriyonik bitkiciklerin iklim odasında görünüşleri.....	29
Şekil 4.6. İklim odasında normal gelişim gösteremeyen bitkiciklerin kök oluşturmaması.....	30
Şekil 4.7.a-b. Emir çeşidine ait poliembriyonik bitkilerin <i>in vitro</i> kültür ortamında farklı zamanlardaki görünüşleri.....	31
Şekil 5.1. Asma tohumlarında simetrik (a-Kalecik karası) ve asimetrik (b-Hasandede) çimlenme gösteren ikiz bitkiciklerin görünüşü.....	33
Şekil 5.2. Çimlenme esnasında (a) bazı tohumlarda (Pinot noir) rastlanan dorsal'dan çıkışın görünüşü, (b) yapışık ikiz embriyoların görünüşü (Narince).....	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Denemeye alınan çeşitlerde çimlenme ve elde edilen poliembriyonik bitki oranları.....	15
Çizelge 4.2. Hasandede çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri.....	18
Çizelge 4.3. Kalecik karası çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri.....	18
Çizelge 4.4. Emir çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri	19
Çizelge 4.5. Narince çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri.....	20
Çizelge 4.6. Pinot noir çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri.....	21
Çizelge 4.7. Hasandede ve Kalecik karası çeşitlerinde farklı anaçların çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri.....	23
Çizelge 4.8. Kalecik karası çeşidinde omca yaşının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri.....	24
Çizelge 4.9. Bazı çeşitlerde ekolojik farklılığın çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkisi.....	25
Çizelge 4.10. Yıllara göre iklimsel değişikliğin asmada çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkisi.....	27
Çizelge 4.11. Ankara iline ait bazı meteorolojik veriler	27

SİMGELER DİZİNİ

P.O.	Poliembriyoni oranı
P.O.-I	Çimlenmeye alınmış toplam tohum sayısına göre değerlendirilen poliembriyoni oranı (%)
P.O.-II	Çimlenen tohum sayısına göre poliembriyoni oranı (%)
GA3	Gibberellik asit
IAA	Indol-3-Asetik asit
IBA	Indol-3-Butirik asit

1. GİRİŞ

Normal olarak asma tohumlarında tek bir embriyo bulunmaktadır. Bu duruma “monoembriyoni” adı verilmektedir. Bir tohumda birden fazla embriyonun bulunması ise “poliembriyoni” olarak tanımlanmaktadır (Johansen 1950, Ünal 1988, Ağaoğlu 1999).

Poliembriyoninin kökeni hakkında, değişik kültür bitkilerinde farklı yazarlarca, farklı birçok gruplandırma yapılmıştır. Bhojwani ve Bhatnagar’a (1979) göre poliembriyoni dört şekilde meydana gelmektedir: 1-Proembriyoda yarımla ile; birçok embriyo, zigot veya proembriyonun yarımla ile meydana gelmektedir. 2-Embriyo kesesinde yumurtadan başka hücrelerden embriyoların meydana gelmesi: Embriyo kesesinde bazen yumurta hücresinden başka hücrelerden, özellikle sinergit hücrelerinden de embriyolar meydana gelmektedir. Bu embriyolar döllenip döllenmeme durumuna göre diploid ya da haploid olabilmektedir. 3-Bir tohum taslağından birden fazla embriyo kesesi oluşumu: İkiz embriyo oluşumu megaspor ana hücrelerinden oluşabileceği gibi nusellus hücrelerinden de meydana gelebilmektedir. 4-Embriyo kesesinin dışındaki hücrelerden embriyoların meydana gelmesi: Bu şekilde meydana gelen embriyolar adventif embriyo olarak adlandırılmaktadır. Adventif embriyolar

çoğunlukla nusellus ve integumentlerden meydana gelmektedir. Adventif embriyoni gösteren en önemli örnek *Citrus*'lardır (Ünal 1988).

Asmadaki doğal poliembriyoni ise benzer bazı mekanizmalara bağlı olarak gerçekleşmektedir: 1-Embriyo kesesinde yumurta hücresinden başka birden çok hücrenin gelişimi ve döllenmesi ile, 2-Zigot'tan ve proembriyo'dan adventif embriyo gelişimi ile, 3-Embriyo kesesindeki zigota ek olarak gametik hücrelerin embriyogenik gelişimi ile (Bouquet 1978a, Bouquet 1980, Bouquet 1982, Emershad and Ramming 1984, Durham *et al.* 1989, Emershad *et al.* 1989, Tsoolova and Atanassov 1994).

Poliembriyoni, *Angiosperm*'lerde doğal olarak ortaya çıkabilen haploidinin kaynağıdır. Poliembriyonik tohumların asma ıslahındaki önemi de, elde edilen poliembriyonik bitkilerin haploid olma ihtimallerinin yüksek olmasıdır. Birden fazla embriyodan meydana gelen bitkilerden birisi muhtemelen hakiki melez veya hibrit olduğu halde, diğer bitkiler adventif embriyodan meydana geldikleri için ana bitkiden hiçbir şekilde fark göstermezler. Bu nedenle, melezlemede tek bir tohumdan birçok sayıda bitki elde edilecek olursa, bunlardan birisi melezleme sonucu oluşacaktır. Diğerleri ise, ana bitkiden hasıl olan sürgünlerdir ki, bunlar erginleşinceye kadar yetiştirilebildikleri taktirde ana bitkiden herhangi bir fark göstermeyeceklerdir (Ağaoğlu 1999).

Elde edilen haploid bitkiler ise bitki ıslahında önemli bir genetik kaynak olacaklardır. Son yıllara kadar haploid bitki elde edilmesi için anter

kültürü yöntemine başvurulmaktadır. Haploid bitkiler normal bir bitkide bulunan tüm organlara sahip olmakla birlikte kromozom sayısı indirgenmiş gamet yapısı göstermektedirler.

Diğer birçok kültür bitkisinde dihaploidizasyon ya da poliploidi uygulamalarıyla kromozom sayılarının katlanmasında büyük başarılar elde edilmiştir. Kromozomların katlanması, meydana gelecek yeni bireylerde bölünme, dölleme gibi bazı generatif olaylarda sorunlar gözlenebilmektedir. Poliploidi ile elde edilen bitkilerde hücre ve dolayısıyla vegetatif organlarda irileşme, biyokimyasal değişimler, özellikle bazı fenolik bileşiklerdeki değişimler: şeker pancarında şeker oranının artışı, havuçta karoten miktarının artışı, sebze ve meyvelerde vitamin içeriğinin yükselmesi, nanede uçucu yağların miktarındaki artış vs. gibi birçok değişimler gerçekleşmektedir (Tepe 2000).

Asmada çoklu embriyo oluşumu, büyük ihtimalle, çiçeklenme periyodu süresince veya çiçeklenmeden hemen sonra olmak üzere tohumun çok erken döneminde meydana gelmektedir (Ağaoğlu 1999).

Bu çalışma ile ülkemizin bazı önemli şaraplık üzüm çeşitlerinde çimlenme oranlarının tespiti ve poliembriyoni frekansının saptanması, bu çeşitlerimizde görülen doğal poliembriyoni üzerinde genotip ve çevre faktörlerinin etkilerinin tespit edilmesi ve elde edilebilirse haploid bitki yakalama şansının ortaya konması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Asmalarda poliembriyoni sitolojik ve genetik açıdan bir hayli merak konusu olmuştur. Şimdiye kadar asmada doğal haploid varyetelere rastlanamamış olması ve sitolojik ve genetik çalışmalarda poliembriyonik tohumların tüm *Angiosperm*'lerde doğal haploidinin bir kaynağı olması bu ilgiyi artırmaktadır (Bouquet 1980).

Bağcılıkta poliembriyoni üzerinde bilinen ilk çalışma Negrul (1934) tarafından yapılmıştır. Negrul (1934), bir Rus çeşidi olan Nimrang'da ikiz bitki oluşumunu gözlemlemiş ve asmada poliembriyonik tohumlara rastlanabileceğini belirtmiştir (Bouquet 1980, Ağaoğlu 1999).

Stout (1936) Nimrang çeşidiyle ABD (Geneva)'da yaptığı çalışma sonucunda poliembriyonik tohum elde edememiş ve Nimrang'm, dolayısıyla *Vitis vinifera*'nın monoembriyonik tohum yapısında olabileceğini ileri sürmüştür. Aslında Stout (1936)'un Negrul (1934)'un yaptığı sonuçları bulamamış olmasının Sovyetler Birliği ile ABD arasındaki çevresel faktörlerin büyük oranda farklı oluşundan kaynaklanmaktadır (Bouquet 1980).

Mullins ve Srinivasan (1976) Stout (1936)'un elde ettiği sonuçları dikkate alarak *Vitis vinifera*'nın monoembriyonik tohum yapısına sahip

olduğunu, asmada poliembrionin olmadığını ileri sürmektedirler (Bouquet 1980).

Thevenot (1972) Fransa'da Alsace bölgesindeki bağlarda poliembrioni üzerinde yaptığı araştırmalarda bazı çeşitlerde poliembrionik tohumlar gözlemlenmiştir. Muscat Ottonel, Auxerrois, Pinot noir, Riesling, Gewurtztraminer, Chasselas, Silvaner, Riesling, Pinot gris ve Müller-Thurgau çeşitlerine ait yaklaşık 720.000 tohumda yapılan incelemelerde çeşitlere bağlı olarak % 0 ile % 0.13 oranları arasında poliembrioni tespit edilmiştir. Muscat Ottonel çeşidine ait tohumlarda poliembrionik yapıya rastlanmazken, Pinot noir'de %0.13, Pinot gris'te % 0.10 oranında poliembrioni görülmüştür. Tüm çeşitlerde hesaplanan poliembrioni ortalama olarak % 0.05 civarındadır. Ancak hiçbirinde haploid yapıya rastlanmamıştır. Thevenot (1972) yaptığı bu çalışmalarda özellikle Riesling ve Auxerois çeşitlerinde birbirinden oldukça farklı poliembrionik yapılar gözlemlemiş ve ekolojik ve çevresel etmenlerin poliembrioni üzerinde yüksek oranda etkisinin olabileceğini saptamıştır.

Fransa'da 1975 yılından itibaren Bordeaux'daki bağlarda yetiştirilen *Vitis vinifera* çeşitlerinde sistematik bir poliembrionik tohum ve haploid bitki taraması başlatılmış, elde edilen tamamlanmamış ilk sonuçlar 2. Uluslararası Asma Genetiği ve Islahı Sempozyumu'nda sunulmuştur (Bouquet 1978a).

Çalışmanın devamında Bouquet (1980) tarafından 35 çeşit üzerinde yapılan çalışmalarda doğal poliembriyoni frekansı % 0 ile % 0.35 arasında değişkenlik göstermekle birlikte, *Vitis vinifera*'da doğal poliembriyoni ortalama % 0.054 olarak tespit edilmiştir. En yüksek poliembriyoni oranı % 0.348 ile Merlot, % 0.235 ile Grenache noir, %0.117 ile Pinot noir çeşitlerinde görülürken, Chenin, Silvaner, Traminer gibi bazı çeşitlerde ise poliembriyoniye rastlanamamıştır. Buradan hareketle asmalarda poliembriyonin genetik kontrol altında ve bir çeşit karakteristiği olduğu ifade edilmektedir.

Poliembriyoni üzerinde ekolojik faktörlerin ve çevresel şartların da etkisi büyüktür. Thevenot (1972), 1970'te hasat edilen ve uzun süre katlamaya tabi tutularak 1972'de çimlendirilen tohumlarda 1971 yılında çimlenmeye alman tohumlara göre 2 kat daha yüksek oranda poliembriyoni frekansının gözlemlendiğini belirtmektedir. Bouquet (1980) Mourvèdre çeşidinde 1975 yılında % 0.348 oranında poliembriyoni gözlemlerken, 1977 yılında bu oranı % 0.513, 1978 yılında % 0.986 olarak tespit etmiştir.

Bouquet (1980) doğal poliembriyoni üzerinde omca yaşının az da olsa azaltıcı bir etkisi olduğunu öne sürmektedir. Merlot çeşidine ait 8 yaşlı omcalardan elde edilen tohumlarda % 0.249 oranında poliembriyoni gözlemlenirken bu oran 20 yaşındaki omcalardan alınan tohumlarda %0.223 olarak gerçekleşmiştir.

Omcanın aşılı veya aşısız olmasının da poliembriyoni frekansı üzerinde etkisini araştıran Bouquet (1980), Merlot çeşidinin bazı klonlarında aşısız omcalarda % 0.399, 420 A anacı üzerinde aşılı omcalarda ise %0.277 oranında poliembriyoni tespit etmiştir.

Ekolojik şartların ve diğer faktörlerin etkisiyle tozlanma ve döllemede yaşanan olumsuzluk ve anormallikler sonucu ortaya çıkan düşük meyve tutumuna karşın yüksek oranda poliembriyoniye rastlandığı da yine Bouquet (1980) tarafından bildirilmektedir. Ayrıca poliembriyonik tohumlar olumsuz dış koşullardan çok çabuk etkilenebilmektedir. Örneğin, yüksek sıcaklıkta yapılan çimlendirmelerde, çimlenme daha hızlı gerçekleştiğinden, poliembriyonik tohumlarda tohum içindeki embriyo rekabeti de artmakta, böylece gizli ikizlikler ortaya çıkabilmektedir. Bunun sonucu olarak da güçlü embriyo tohum dışına çıkarak fide haline dönüşmekte, zayıf olanı ise tohum içinde saklı kalmaktadır. Bouquet (1980) 21 °C'de çimlendirilen tohumlarda %0.321 oranında, 27°C'de çimlendirilen tohumlarda ise % 0.209 oranında poliembriyoni saptamıştır.

Alsace bölgesinde Balthazard (1978) tarafından yürütülen bir başka çalışmada türler arası yapılacak melezlemelerle poliembriyoni frekansının dolayısıyla da haploid bitki elde etme şansının yüksek olacağı tespit edilmiştir. *V. vinifera* x *V. riparia* melezlemesiyle elde edilen 65-1 Kuhlman çeşidinde yaklaşık % 4-5 oranında poliembriyonik tohum olabileceği bildirilmektedir (Bouquet 1982).

Bouquet (1982) Fransa'nın Montpellier ve Colmar bölgelerinde bazı *Vitis vinifera* çeşitleriyle (Merlot, Mourvèdre, Cabernet Sauvignon, Grolleau, Pinot noir, Chardonnay) 65-1 Khulman (*V. vinifera* x *V. riparia*)'ı melezlemiş ve elde edilen tohumlardaki poliembriyoni frekansını ortalama % 7.7 olarak tespit etmiştir. *V. vinifera* x 65-1 Khulman melezlemesinden elde edilen tohumlarda poliembriyoni oranı % 5.55'e kadar çıkarken, 65-1 Khulman x *V. vinifera* melezlemesiyle elde edilen tohumlarda çoklu embriyo oluşumu ve poliembriyoniye daha yüksek oranda (% 7.7'ye kadar) rastlanmaktadır.

Bauer yayınlanmamış bir çalışmasında Mourvèdre x *V. rupestris* melezlerinde % 15'e kadar poliembriyoniye rastlandığını bildirmektedir (Ağaoğlu 1999).

V. vinifera'nın stenospermokarpik genotiplerinde embriyoyu kurtarmak ve *in vitro* embriyo kültürüyle fide üretmek mümkün olabilmektedir. Bu işlem ile doğal poliembriyoni kültürü yapılarak çoklu embriyo elde edilebileceği Emershad ve Ramming (1984) ile Durham *et al.* (1989) tarafından bildirilmektedir.

Emershad *et al.* (1989) çoklu embriyo oluşumunun kullanılan kültür ortamı, genotip, "ortam x genotip" interaksyonu ve "ortam x zaman" interaksyonu ile olumlu olarak etkilendiğini ortaya koymuşlardır. L-serine ortamı poliembriyonide etkin rol oynamıştır. Buna göre L-serine

ve diğ er bazı amino asitlerin embriyogenesis'e etkilerinin olabileceği öne sürülmüştür.

Tsolova ve Atanassov (1994) tüm bu bilgiler     ında kendine tozlanmış 5   ekirdeksiz üzüm çeşidi, 3 geleneksel   ekirdeksiz çeşit ve 2 de melez çeşitte hem   ekirdeksiz çeşitlerden embriyo elde etmek ve dolayısıyla bitkiler elde etmek hem de farklı ortamlar kullanarak poliembriyoniyi uyarak çoklu embriyolar elde edebilmek amacıyla bir dizi çalışma yürütmüşlerdir.     eklenmeden 60 gün sonra alman meyvelerden ayrılan embriyolar değişik ortamlar içerisinde *in vitro* embriyo kültürüne alınmışlardır. Kültüre alman embriyolarda çeşitlere bağlı olarak % 8'e kadar poliembriyoni oluşumu saptanmıştır. Kültür ortamındaki vitamin ve hormon konsantrasyonunun artırılmasıyla çoklu embriyo oluşumunun artırılabilmesi tespit edilmiştir.

Mariscalco ve Crespan (1995) da Perlette ve Delight   e  itlerinde *in vitro* kültür ortamının embriyo oluşumuna etkisini araştırırken çoklu embriyo oluşumuna rastlamışlardır. Yaptıkları incelemeler sonucunda da, *in vitro* kültür ortamındaki hormon yoğunluklarının poliembriyoni üzerinde genotipten daha fazla etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışma 1999-2001 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan materyaller Bölüm bağları ile araştırma amacına uygun olarak İç Anadolu Bölgesi'nin değişik yörelerindeki (Tokat, Hasandede, Nevşehir, Kalecik) bağlardan sağlanmıştır. Çimlendirme çalışmaları Bölüm Tohum Fizyolojisi Laboratuvarı ile İklim Odasında; diğer laboratuvar çalışmaları da Sitoloji ve Doku Kültürü Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada, ülkemizin önemli şaraplık çeşitlerinden Kalecik karası, Hasandede, Narince, Emir çeşitleri ile literatürde yer alan, diğer poliembriyoni çalışmalarında başarılı sonuçlar verdiği bilinen yabancı kökenli Pinot noir çeşidinin tohumları materyal olarak kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Tohumların çıkarılması ve muhafazası

1999 ve 2000 yılı hasat dönemlerinde bu beş üzüm çeşidinin doğal tozlanmış tohumları; meyvelerin olgunlaştığı dönemde hasat edilen

üzümlerin ezilerek meyve etinden ayrılması suretiyle sağlanmıştır. Daha sonra tohumlar su ile yıkanarak meyve eti ve tane kabuğundan temizlenmişler ve sonra ticari kloraks ile dezenfekte edilmişlerdir. Doğrudan güneş almayan gölge bir yerde kurutulan tohumlar katlama öncesine kadar serin ve az nem içeren bir yerde muhafaza edilmişlerdir.

3.2.2. Katlama

Tohumlar, dinlenmenin kırılması amacıyla, yıkanarak +125 °C’de 1 saat sterilize edilmiş nemli kum içerisinde +5 °C’de 80 gün katlamaya tabi tutulmuştur. Katlama süresini tamamlayan tohumlar yıkanarak kum ve diğer yabancı maddelerden ayrılmış ve mantari enfeksiyonlara karşı fungusitle yeniden dezenfekte edilmişlerdir (Bouquet 1980).

3.2.3. Çimlendirme ve poliembriyoni oranı tespiti

Denemeler, Düzgüneş vd. (1987)’den yararlanılarak “Tesadüf Parselleri Deneme Deseni”ne göre 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Tohumlar nemli kurutma kağıtları içinde çimlenmeye tabi tutulmuş ve her bir tekerrür 1 plastik torbada olacak şekilde, nem kaybının önlenmesi amacıyla plastik torbalara yerleştirilerek çimlenmeye alınmıştır.

Belli aralıklarla yapılan gözlemlerde çimlenme oranı ve poliembriyoni frekansının saptanması amacıyla sayımlar yapılmış ve gerektiğinde çimlendirme ortamı nemlendirilmiştir.

Gözlemler, çimlenmenin tamamen durduğu zamana kadar devam etmiştir. Çeşitler, değişkenlik göstermekle birlikte ortalama 5-6 haftada çimlenmelerini tamamlamışlardır.

Gözlem esnasında tespit edilen poliembriyonik tohumlar haploidi durumunun tespiti amacıyla kromozom sayımı için çimlendirme ortamından ayrılmıştır.

Elde edilen sayım sonuçlarında çimlenme ve poliembriyoni oranları aşağıdaki formüllere göre değerlendirilmiştir:

$$\text{Çimlenme oranı (\%)} = \frac{\text{Çimlenen tohum sayısı}}{\text{Çimlenmeye alınan tohum sayısı}} \times 100$$

$$\text{Çimlenmeye alınmış toplam tohum sayısına göre değerlendirilen P.O. (\%)} \quad (\text{P.O.-I}) = \frac{\text{Poliembriyonik tohum sayısı}}{\text{Çimlenmeye alınan tohum sayısı}} \times 100$$

$$\text{Çimlenen tohum sayısına göre poliembriyoni oranı (\%)} \quad (\text{P.O.-II}) = \frac{\text{Poliembriyonik tohum sayısı}}{\text{Çimlenen tohum sayısı}} \times 100$$

3.2.4. Kromozom sayımları

Elde edilen poliembriyonik bitkicikler kromozom sayımı amacıyla çimlendirme ortamından ayrılmıştır. İlk olarak dokuların öldürölüp kromozom sayımı yapılması yerine canlı bitki elde edilebilmesi için çaba gösterilmiştir. Bunun için ilk yıl poliembriyonik bitkicikler 1:1:1 oranında hazırlanmış turba,bahçe toprağı ve perlit karışımına sahip yetiştirme ortamlarına aktarılaraq iklim odasında normal gelişmeye bırakılmışlardır. Bitkilerin bir süre sonra ölmeleri ve bu şekilde başarı sağlanamaması üzerine ikinci yıl elde edilen poliembriyonik bitkiler de 1/1 MS ortamında *in vitro* koşullarda yetiştirme ortamlarına aktarılmışlardır. Kullanılan besin ortamının içeriğı (pH: 5.7): ½ oranında makro ve mikro besin elementleri ve vitaminler, 0.5 mg/l GA₃, 2 mg/l IAA, 20 g/l sakkaroz, 7 g/l agar, 400 mg/l augmentin.

Sağılıklı bitki elde etme çalışmalarının yanında elde edilen bazı poliembriyonik bitkiler ise karyolojik analizler ile kromozom sayımı amacıyla Bouquet (1978 b) ve Martens and Reisch (1988) 'e göre ortamdan ayrılarak tespit işleminde alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Asmada (*V. vinifera* L.) çeşitler arasındaki genetik farklılığın çimlenme ve doğal poliembriyoni üzerine etkisi

Ülkemizde şaraplık olarak yetiştirilen 4 önemli çeşit (Kalecik karası, Hasandede, Narince ve Emir ile yine ülkemizde şaraplık olarak yetiştirilen Fransız kökenli Pinot noir çeşitleri bu deneme kapsamında incelenmiştir. Tohumlar 1999 yılı hasat döneminde Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Kalecik Araştırma ve Uygulama Bağ'ındaki Çeşit Koleksiyon Parselinden hasat edilen üzümlerden elde edilmiştir. Bu sayede çeşit dışındaki denemenin sonucunu etkileyebilecek diğer tüm faktörler devre dışı bırakılabilmektedir. Çünkü denemede kullanılan tohumların alındığı omcaların anaçları, yaşları, sulama, gübreleme, ilaçlama gibi yapılan tüm kültürel işlemler bütün omcalarda aynıdır.

Tohumlar 80 gün +5 °C'de nemli kum içerisinde katlamaya alındıktan sonra +27 °C'lik etüvlerde çimlendirmeye tabi tutulmuşlardır. Denemede toplam 22750 tohum kullanılmıştır. Bunların 10535'i çimlenmiş ve toplam 6 poliembriyonik bitkicik saptanmıştır. Sonuçlar çizelge 4.1'de verilmiştir. Bazı çeşitlerde görülen poliembriyonik tohumların çimlenme aşamasındaki durumları da şekil 4.1. ve şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Denemeye alınan çeşitlerde çimlenme ve elde edilen poliembriyonik bitki oranları

ÇEŞİTLER	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
Hasandede	5000	2281	45.62	1	0.020	0.044
K. karası	4000	2061	51.53	1	0.025	0.049
Narince	3750	1694	45.17	1	0.027	0.059
Emir	5000	2455	49.10	2	0.040	0.082
Pinot noir	5000	2044	40.88	1	0.020	0.049
Toplam	22750	10535	46.31	6	0.026	0.057



Şekil 4.1. Kalecik karası çeşidinde poliembriyonik tohumun çimlenme esnasındaki görünüşü.



Şekil 4.2. Emir çeşidinde poliembriyonik tohumun çimlenme esnasındaki görünüşü.

Elde edilen bulgular incelendiğinde en yüksek çimlenme oranı Kalecik karası çeşidinde %51.53, en düşük çimlenme oranı da Pinot noir çeşidinde % 40.88 olarak saptanmıştır. Poliembriyoni oranı ise en yüksek Emir çeşidinde % 0.082, en düşük Hasandede çeşidinde % 0.044 olarak tespit edilmiştir. Çeşitlerin tamamında gözlenen poliembriyoni frekansı %0.057’dir (çizelge 4.1.).

4.2. Farklı çimlendirme sıcaklıklarının asma çeşitlerinde çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkileri

Denemede her beş çeşidin tohumları, asma tohumlarının optimum çimlenme sıcaklığı olan +27 °C'de, bu sıcaklıktan düşük (+24 °C) ve yüksek (+30 °C) sıcaklık değerlerinde olmak üzere üç farklı sıcaklık altında çimlendirmeye tabi tutulmuşlardır. İlk yıl denemeleri 1999 yılı hasat döneminde elde edilen tohumlarla 1999-2000 döneminde yapılmış; aynı şekilde ikinci yıl denemeleri de 2000 yılı hasat döneminde alınan tohumlarla 2000-2001 döneminde tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.2., çizelge 4.3, çizelge 4.4, çizelge 4.5, çizelge 4.6.'da verilmiştir. Bazı çeşitlerde ikinci yılda elde edilen sonuçlar ilk yıla göre oldukça düşük düzeyde gözlemlenmiştir. Bu farklılık yıl ve iklim şartlarındaki değişikliğin etkisinin yanında büyük ölçüde alındığı bağdaki mantari enfeksiyonlarla yapılan dezenfeksiyon uygulamaları ve bu uygulamaların tohumun çimlenme kabiliyeti üzerinde olumsuz etkisinden kaynaklanmaktadır.

Hasandede çeşidine ait tohumlarda da ilk yıl en yüksek çimlenmenin 30°C'de %60.83, diğer sıcaklık değerlerinde de 27 °C'de % 49.28, 24 °C'de % 42.83; ikinci yıl 24 °C'de %22.22, 27 °C'de % 20.34, 30 °C'de % 25.00 olarak tespit edildiği görülmektedir (çizelge 4.2.).

İlk yıl 24 °C ve 27 °C'de poliembriyoni görülmezken 30 °C'de çimlendirilen tohumlarda %0.044 oranında poliembriyoniye rastlanmıştır. İkinci yıl ise 27 °C'de % 0.098 oranında 30°C'de %0.080 oranında poliembriyoni tespit edilmiş, 24 °C'de çimlendirilen tohumlarda poliembriyoni görülememiştir (çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Hasandede çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri

Çimlendirme Sıcaklıkları (°C)	Yıl	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
24°C	1999	3750	1606	42.83	0	0.000	0.000
	2000	5000	1111	22.22	0	0.000	0.000
27°C	1999	3750	1848	49.28	0	0.000	0.000
	2000	5000	1017	20.34	1	0.020	0.098
30°C	1999	3750	2281	60.83	1	0.027	0.044
	2000	5000	1250	25.00	1	0.020	0.080

Kalecik karası çeşidinde, sadece ikinci yıla ait deneme sonuçları elimizde mevcuttur. Bu çeşide ait denemede kullanılacak tohumlar ilk yıl Fakültemiz Şaraphane Ünitesinden alındığından, fermente olan tohumlar çimlenme kabiliyetlerini kaybetmişlerdir. İkinci yıl elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, Kalecik karası çeşidi için çimlenmenin optimum çimlenme sıcaklığında (27 °C) en yüksek (% 26.08); düşük (24°C) ve yüksek (30 °C) sıcaklıklarda çimlendirilen tohumlarda ise birbirine yakın ve daha düşük oranlarda (% 20.56 ve % 21.00) gerçekleştiği görülmektedir. 24 °C’de ve 30 °C’de çimlenen tohumlarda poliembriyoni görülmezken 27 °C’de çimlenen tohumlarda % 0.153 oranında poliembriyoni frekansı kaydedilmiştir (çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Kalecik karası çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri

Çimlendirme Sıcaklıkları (°C)	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
24°C	2500	514	20.56	0	0.000	0.000
27°C	2500	652	26.08	1	0.040	0.153
30°C	2500	525	21.00	0	0.000	0.000

Emir çeşidinde ilk yıl 27 °C’de çimlendirmeye tabi tutulan tohumlarda % 65.89 ile en yüksek çimlenme oranına ulaşılrken, 24 °C’de % 59.20 ve 30 °C’de % 53.73 oranında çimlenme görölmüştür. İkinci yılın en yüksek çimlenme oranına % 40.22 ile 24 °C’de ulaşılmış, 27 °C’de %39.12 ve 30 °C’de ise bu değeri % 29.94 olarak tespit edilmiştir (çizelge 4.4.).

30 °C’de çimlendirmeye tabi tutulan tohumlarda her iki yılda da poliembriyoniye rastlanmazken, 24 °C’de ilk yıl % 0.045’lik bir oranla poliembriyoni görölmüş, 27 °C’de ise ilk yıl % 0.040, ikinci yıl % 0.051 olarak poliembriyoni frekansı saptanmıştır (çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Emir çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri

Çimlendirme Sıcaklıkları (°C)	Yıl	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
24°C	1999	3750	2220	59.20	1	0.027	0,045
	2000	5000	2011	40.22	0	0.000	0,000
27°C	1999	3750	2471	65.89	1	0.027	0,040
	2000	5000	1956	39.12	1	0.020	0,051
30°C	1999	3750	2015	53.73	0	0.000	0,000
	2000	5000	1497	29.94	0	0.000	0,000

Narince çeşidinde ilk yıl 30 °C’de yapılan çimlendirmelerde tekerrürlerden birine ait tohumlardaki aşırı mantari enfeksiyon sebebiyle sayım yapılamamış, bu sıcaklık değeriinde yapılan deneme sonuçları 4 tekerrür üzerinden değeriendirilmiştir.Elde edilen sonuçlara göre ilk yıl 27 °C’de % 56.47’lik bir oranla en yüksek çimlenme kaydedilirken, bu oran 24°C’de % 30.40, 30 °C’de ise % 28.50 olarak tespit edilmiştir.

İkinci yıl en yüksek çimlenme oranına 24 °C’de % 26.72’lik bir oranla ulaşılmış, bu değer 27 °C’de % 20.58, 30°C’de % 18.92 olarak saptanmıştır (çizelge 4.5.).

Poliembriyoni sadece ilk yıl 30 °C’de çimlendirilen tohumlarda % 0.146’lık bir oranla gözlemlenirken diğer uygulamalarda herhangi bir poliembriyonik çimlenme görülememiştir (çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Narince çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri

Çimlendirme Sıcaklıkları (°C)	Yıl	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
24°C	1999	3000	912	30.40	0	0.000	0.000
	2000	5000	1336	26.72	0	0.000	0.000
27°C	1999	3000	1694	56.47	0	0.000	0.000
	2000	5000	1029	20.58	0	0.000	0.000
30°C	1999	2400	684	28.50	1	0.042	0.146
	2000	5000	946	18.92	0	0.000	0.000

Pinot noir çeşidinde ilk yıl en yüksek çimlenme oranına % 36.67’lik bir oranla 27 °C’de ulaşılrken, 24 °C’de % 30.25 ve 30 °C’de % 21.08’lik çimlenme oranları kaydedilmiştir. İkinci yıl ise 24 °C’de % 27.02, 27°C’de % 22.22 ve 30 °C’de % 15.90’lık çimlenme oranları saptanmıştır (çizelge 4.6.). İlk yıl sadece 24 °C’de % 0.275’lik bir oranla poliembriyoni görülürken, ikinci yıl 24 °C’de % 0.148, 27 °C’de %0.090 ve 30 °C’de %0.126’lık oranlarla poliembriyoni frekansı kaydedilmiştir (çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Pinot noir çeşidinde farklı çimlendirme sıcaklıklarının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri

Çimlendirme Sıcaklıkları (°C)	Yıl	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
24°C	1999	1200	363	30.25	1	0.083	0.275
	2000	5000	1351	27.02	2	0.040	0.148
27°C	1999	1200	440	36.67	0	0.000	0.000
	2000	5000	1111	22.22	1	0.020	0.090
30°C	1999	1200	253	21.08	0	0.000	0.000
	2000	5000	795	15.90	1	0.020	0.126

4.3. Farklı asma anaçlarının çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkileri

Deneme farklı anaçlar üzerine aşılanmış Hasandede ve Kalecik karası çeşitleri üzerinde yürütülmüştür. Tohumlar 2000 yılı hasat döneminde Hasandede çeşidinde Bölüm bağlarından, Kalecik karası çeşidinde ise Kalecik Araştırma ve Uygulama Bağı'ndan alınan üzümlerden elde edilmiştir.

80 gün süreyle +5 °C'de nemli kum içerisinde katlanan tohumlar +27 °C'de çimlendirmeye alınmışlardır. Sonuçlar çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Hasandede çeşidinde en yüksek çimlenme oranı % 37.12'lik 99 R anacı üzerine aşıli omcalardan elde edilen tohumlarda, en düşük çimlenme oranı ise % 23.16 ile 41 B anacında gözlenmiştir. En yüksek poliembriyoni frekansına ise % 0.216 ile 99R anacında ulaşılmıştır. 5

BB anacı üzerine aşılı omcalarda elde edilen tohumlarda % 0.147, 1103 P anacında ise % 0.138 poliembriyoni frekansı tespit edilirken, 41 B, 1613 C ve 140 Ru anaçları üzerine aşılı omcalardan elde edilen tohumların çimlendirilmesi sonucunda herhangi bir poliembriyonik bulguya rastlanamamıştır. Hasandede üzüm çeşidinde tohumların elde edildiği omcalarm bulunduğu parsel kenarından geçen Çubuk Çayı'na oldukça yakın olmasının da etkiyle omcalarda ve meyveler üzerinde mantar enfeksiyonlarının, özellikle de *Botrytis* enfeksiyonunun fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle çimlendirme öncesi ve çimlendirme esnasında tohumlara dezenfeksiyon uygulamalarının sayısı artırılmış ve bu sebepten dolayı da yapılan dezenfeksiyon uygulamalarının tohum çimlenmesini, dolayısıyla da poliembriyoni oranının olumsuz olarak etkilediği belirlenmiştir (çizelge 4.7.).

Kalecik karası çeşidinde ise en yüksek çimlenme oranı 41 B anacı üzerine aşılı omcalardan elde edilmiş tohumlarda % 49.52 olarak gözlemlenirken, 5 BB'de % 45.62, 1103 P'de ise % 45.72 oranlarında çimlenme tespit edilmiştir. Poliembriyoni oranları ise 5 BB'de %0.088, 1103 P'de % 0.044 olarak gözlenmiştir. 41 B anacı üzerine aşılı omcalardan alınan tohumlarda herhangi bir poliembriyonik çimlenme gözlemlenememiştir (çizelge 4.7.).

Çizelge 4.7. Hasandede ve Kalecik karası çeşitlerinde farklı anaçların çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkileri

ÇEŞİTLE R	Anaç	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.- I (%)	P.O.-II (%)
Hasandede	41 B	2500	579	23.16	0	0.000	0.000
	5 BB	2500	682	27.28	1	0.040	0.147
	1103 P	2500	723	28.92	1	0.040	0.138
	1613 C	2500	663	26.52	0	0.000	0.000
	99 R	2500	928	37.12	2	0.080	0.216
	140 Ru	2500	634	25.36	0	0.000	0.000
Kalecik karası	41 B	5000	2476	49.52	0	0.000	0.000
	5 BB	5000	2281	45.62	2	0.040	0.088
	1103 P	5000	2286	45.72	1	0.020	0.044

4.4. Omca yaşının asmada çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkisi

Farklı omca yaşlarının çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkisi Kalecik karası çeşidinde denenmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.8.'de verilmiştir. Elde edilen bulgular incelendiğinde genç ve yaşlı omcalarda (sırasıyla % 29.01, % 29.15) orta yaşlı omcalara (% 26.53) göre daha yüksek çimlenme oranları gözlenmiştir. Poliembriyoni frekansı ise orta yaşlı amcalardan elde edilen tohumlarda % 0.101, yaşlı omcalarda % 0.092 olarak gözlemlenmiştir. Genç omcalardan elde edilen tohumlarda yapılan çimlenme denemelerinde poliembriyonik tohuma rastlanmamıştır (çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Kalecik karası çeşidinde omca yaşının çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkisi

Omca Yaşı	Ekilen Tohum (Ad.)	Çimlenen Tohum (Ad.)	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.-I (%)	P.O.-II (%)
Genç Omcalar (0-5 yaş)	3750	1088	29.01	0	0.000	0.000
Orta Yaşlı Omcalar (6-12 yaş)	3750	995	26.53	1	0.027	0.101
Yaşlı Omcalar (30 yaş)	3750	1093	29.15	1	0.027	0.092

4.5. Ekolojik farklılığın çimlenme ve poliembriyoni üzerine etkisi

Bu denemede her dört çeşidin Ankara'daki bağlarda yetiştirilen omcalardan elde edilen tohumları ile her çeşidin orijini olan ve yoğun olarak yetiştigi bölgelerdeki bağlardan alınan tohumları kullanılmıştır. Bu amaçla Kalecik karası için Ankara-Kalecik'ten, Hasandede çeşidi için Kırıkkale ili Hasandede kasabasından, Narince için Tokat ilinden, Emir çeşidi için de Nevşehir ili Ürgüp ilçesinden tohumlar temin edilmiştir. Kalecik karası'na ait tohumlar Fakülte Şaraphane Ünitesinden şaraba işlenen Kalecik karası üzümlerinden alınmıştır. Ancak ezilen üzümler cibre fermantasyonuna tabi tutulduktan sonra tohumlar ayrılabilmiştir. Cibre fermantasyonu ve bu işlem esnasında oluşan sıcaklık tohumların çimlenme gücünü oldukça yüksek oranda etkilemiştir. Tohumlarda neredeyse yok denecek düzeyde, % 1 civarında ortalama çimlenme kaydedilebilmiş, bu sebeple değerlendirmeye alınmamıştır. Yapılan gözlemler neticesinde elde edilen sonuçlar çizelge 4.9.'da verilmiştir.

Elde edilen sonuçlar değerlendirdiğinde bütün çeşitlerde orijinal ekolojilerinden temin edilen tohumların Ankara ekolojisinden elde edilen tohumlardan daha yüksek oranda çimlenme oranlarına sahip oldukları gözlemlenmiştir. Hasandede çeşidinde Kırıkkale ili Hasandede Kasabası'ndan alınan tohumlarda % 66.48, Ankara ekolojisinden alınan tohumlarda % 58.92 oranında çimlenme görülürken; Narince çeşidinde Tokat ekolojisinden alınan tohumlarda % 56.32, Ankara'dan alınan tohumlarda % 50.36 ve Emir çeşidinde de Nevşehir'den alınan tohumlarda % 51.20, Ankara'dan alınan tohumlarda % 48.80 oranında çimlenme görülmüştür. Yine buna paralel olarak Hasandede çeşidinde orijinal ekolojisinden elde edilen tohumlarda poliembriyoni % 0.032 olarak gözlemlenmiş, Ankara ekolojisinden elde edilen tohumlarda ise poliembriyoni görülememiştir. Narince çeşidinin her iki ekolojiden de alınan tohumlarında poliembriyoni görülmezken; Emir çeşidinde Ankara ekolojisinde % 0.041, çeşidin orijinal ekolojisinde (Nevşehir) ise %0.039 oranlarında poliembriyoni tespit edilmiştir (çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. Bazı çeşitlerde ekolojik farklılığın çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkisi

ÇEŞİTLER	Tohum Alınan Ekoloji	Ekilen Tohum Sayısı	Çimlenen Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.- II (%)	P.O.- II (%)
Hasandede	Ankara	5000	2946	58.92	0	0.000	0.000
	Hasandede	4750	3158	66.48	1	0.021	0.032
Narince	Ankara	5000	2518	50.36	0	0.000	0.000
	Tokat	5000	2816	56.32	0	0.000	0.000
Emir	Ankara	5000	2440	48.80	1	0.020	0.041
	Nevşehir	5000	2560	51.20	1	0.020	0.039
Toplam		29750	16438	55.25	3	0.010	0.018

4.6. Yıllara göre iklimsel değişikliğin asmada çimlenme ve doğal poliembriyoni üzerine etkisi

Denemede çeşitlere ait tohumlar 1999 ve 2000 hasat dönemlerinde hasat edilen tüzümlerden elde edilmişlerdir. İklim ve çevre şartlarındaki değişikliklerin çimlenme ve poliembriyoni üzerinde etkisinin saptanması amacıyla yürütölen çalışmaların sonucu çizelge 4.10.'da verilmiştir. Ayrıca 1999 ve 2000 yıllarına ait bazı meteorolojik değerler de çizelge 4.11.'de gösterilmiştir (Anonim 2001). Elde edilen veriler incelendiğinde bütün çeşitlerde yıllar arasında çimlenme oranlarında %50'ye varan bir farklılık gözlemlenmektedir. Bu sonuçlarda 1999 ve 2000 yıllarında iklim şartlarının farklılık göstermesinin etkisi vardır. Bunun yanında, 2000 yılında bağlarda mantari enfeksiyonların daha fazla olması ve enfeksiyonu önlemek amacıyla asmalara, tohuma ve çimlendirme ortamına yapılan her dezenfeksiyon uygulaması çimlenmeyi olumsuz yönde etkilemiştir. Poliembriyoni oranları çeşitlere göre farklı oranlarda değişiklikler göstermiş, Narince'de ilk yıl % 0.059 iken ikinci yıl poliembriyoni görölememiş, Emir'de ise ilk yıl % 0.082 iken ikinci yıl % 0.051 olarak tespit edilmiştir. Yani bu iki çeşitte ikinci yıl bir azalma gözlemlenmiştir. Diğer yandan Hasandede çeşidinde ilk yıl % 0.044, ikinci yıl % 0.098, Kalecik karası'nda ilk yıl % 0.049, ikinci yıl %0.153 ve Pinot noir'de ilk yıl % 0.049, ikinci yıl % 0.09 olarak tespit edilmiştir. Bu üç çeşitte de poliembriyoni oranları ilk yıla göre artmıştır.

Çizelge 4.10. Yıllara göre iklimsel değişikliğin asmada çimlenme ve poliembriyoni oranları üzerine etkisi

ÇEŞİTLER	Yıl	Ekilen Tohum Sayısı	Çimlenen Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	P.T. (Ad.)	P.O.- II (%)	P.O.- II (%)
Hasandede	1999	5000	2281	45.62	1	0.020	0.044
	2000	5000	1017	20.34	1	0.020	0.098
K. karası	1999	4000	2061	51.53	1	0.025	0.049
	2000	2500	652	26.08	1	0.040	0.153
Narince	1999	3750	1694	45.17	1	0.027	0.059
	2000	5000	1029	20.58	0	0.000	0.000
Emir	1999	5000	2455	49.10	2	0.040	0.082
	2000	5000	1956	39.12	1	0.020	0.051
Pinot noir	1999	5000	2044	40.88	1	0.020	0.049
	2000	5000	1111	22.22	1	0.020	0.090

Çizelge 4.11. Ankara iline ait bazı meteorolojik veriler

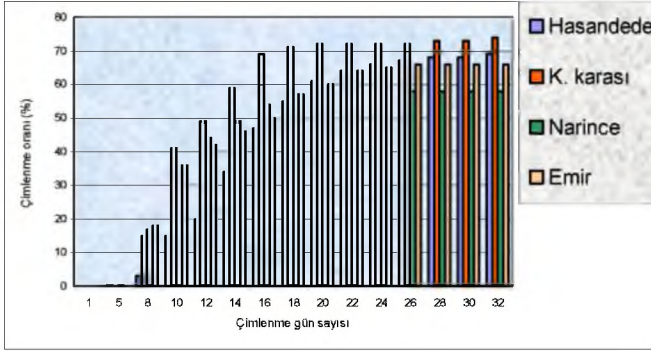
Yıl	Ortalama Sıc. (°C)	Ort. Düşük Sıc. (°C)	Ort. Yüksek Sıc. (°C)	Toplam Yağış (mm)	Ort. Güneşlenme Şid. (Cal/cm ²)
1999	12,9	7,5	18,6	435,3	354,78
2000	11,6	6,0	17,1	346,6	367,45

Kaynak: Anonim 2001

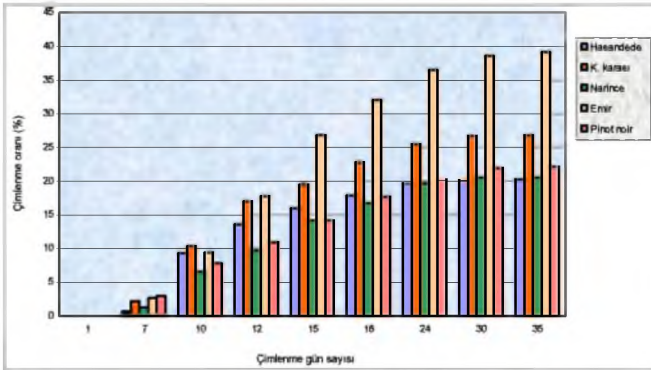
4.7. Tohumların çimlenme kinetiği

Asma tohumlarında çimlenme, tohum ekiminden yaklaşık 5 gün sonra başlamaktadır ve ortam koşullarına göre 4-6 haftada çimlenme tamamlanmaktadır. 1999 yılında alınan ve 2000 yılında çimlendirilen 4 çeşidin tohumlarına ait çimlenme hızları şekil 4.3.'de, 2000 yılında alınan ve 2001 yılında çimlendirilen 5 çeşidin tohumlarına ait çimlenme

hızları da şekil 4.4.'de verilmiştir. Tüm çeşitlerde çimlenmenin büyük bir kısmı ikinci ve üçüncü hafta içerisinde gerçekleşmektedir. Poliembriyonik tohumlarda ise özellikle tohum içi rekabetten dolayı çimlenme biraz daha geç başlamaktadır. Tüm çeşitlerde poliembriyonik tohumlardaki çimlenmenin, monoembriyonik tohumların % 20-25 oranında çimlenmelerinden sonra başladığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3. Tohumların 2000 yılına ait çimlenme kinetiği.



Şekil 4.4. Tohumların 2001 yılına ait çimlenme kinetiği.

4.8. Poliembriyonik tohumlarda kromozom sayımı çalışmaları

Elde edilen poliembriyonik bitkiciklerden öncelikle sağlıklı bitki elde edilmesi yoluna gidilmiştir. Bu sayede elde edilen bu bitkilerde özellikle gelişen yeni teknoloji ve yöntemlerle (flow-cytometry, stoma sayımları vs.) daha kolay kromozom sayımı yapılabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla ilk yıl elde edilen poliembriyonik bitkicikler 1:1:1 oranında hazırlanmış turba:perlit:bahçe toprağı karışımına transfer edilmiş (şekil 4.5.), ancak bitkiler yaşıtılamamış, bir süre sonra ölmüşlerdir. Ölen bitkilerin kökçük oluşturmamış olması ilginç bir gözlem olarak saptanmıştır (şekil 4.6.).

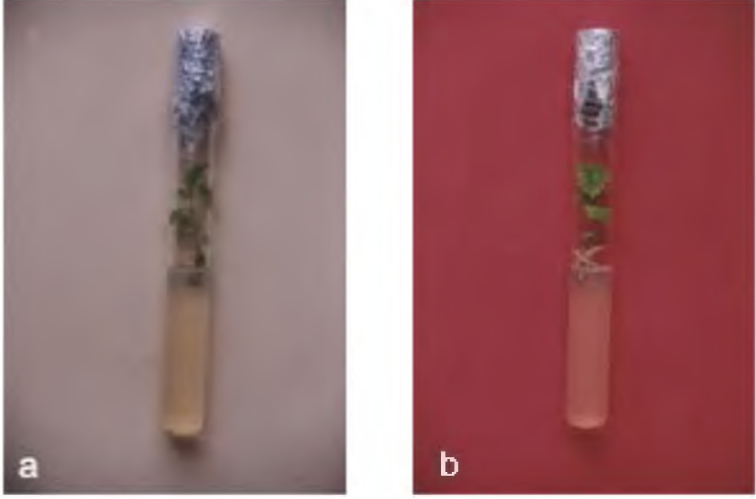


Şekil 4.5. Hasandede çeşidine ait poliembriyonik bitkiciklerin iklim odasında görünüşleri.



Şekil 4.6. İklim odasında normal gelişim gösteremeyen bitkiciklerin kök oluşturmaması.

İkinci yıl elde edilen poliembriyonik bitkicikler $\frac{1}{2}$ kuvvetindeki MS ortamında *in vitro* kültür ortamına aktarılmıştır. Ortama hem augmentin ilavesi ve hem de bitkiciklerin transfer öncesi dezenfeksiyon uygulamasına tabi tutulmasına rağmen bitkiler enfeksiyona yakalanmış ve kurtarılamamış ve sağlıklı bitki eldesi mümkün olmamıştır (şekil 4.7-a, b).



Şekil 4.7.a-b. Emir çeşidine ait poliembriyonik bitkilerin *in vitro* kültür ortamında farklı zamanlardaki görünüşleri.

Tüm bunların yanında elde edilen bazı poliembriyonik bitkiler ise karyolojik analizler ile kromozom sayımı yapılması için Bouquet (1978 b) ve Martens and Reisch (1988)'e göre analizlere tabi tutulmuş, asma genomlarının küçüklüğü, asmada karyolojik analizlerin zor olması ve eldeki materyalin az olması gibi sebeplerden dolayı kromozom sayımları gerçekleştirilememiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

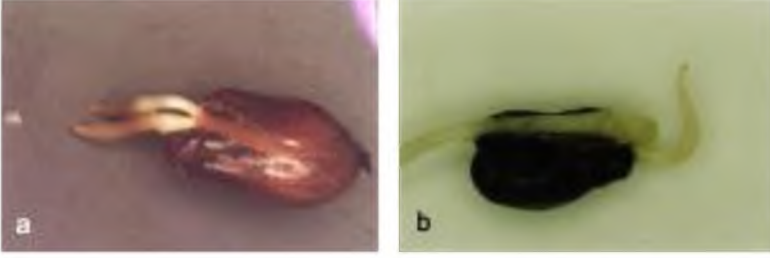
Ülkemizde bugüne kadar asmada poliembriyoni konusunda hiçbir çalışma yapılmamıştır. Son yıllarda melezleme ıslahı konusunda yapılan denemeler sonucu yeni çeşitlerin ortaya çıkışı ile başlayan ıslah çalışmalarında ebeveyn olarak kullanılan veya kullanılabilircek önemde bazı yerli üzüm çeşitlerimizin tohumlarında doğal poliembriyoni frekansının saptanması, poliembriyoni üzerinde genotip ve çevre faktörlerinin etkilerinin tespit edilmesi ve elde edilebilirse haploid bitki yakalama şansının ortaya konması amacıyla bu çalışma yürütülmüştür. Bu araştırmada ülkemizin önemli şaraplık çeşitlerinden Kalecik karası, Hasandede, Narince ve Emir çeşitleri ile yabancı kökenli Pinot noir çeşidine ait tohumlarda çimlenme ve poliembriyoni oranları tespit edilmiş, çimlenme ve poliembriyoni üzerinde genetik farklılığın, çimlenme sıcaklığının, anaçların, omca yaşının, farklı ekolojilerin ve iklimin etkileri araştırılmıştır.

Diğer tüm faktörler sabit tutularak poliembriyoni üzerinde sadece genetik farklılığın incelendiği ilk denemede beş çeşide ait toplam 22750 tohum çimlenmeye alınmış, bunlardan 10535 tohum çimlenmiştir (% 46.31). Çeşitlere bağlı olarak çimlenmiş tohumlar arasında % 0.04 ile %0.08 arasında doğal poliembriyoni frekansı tespit edilmiştir. En yüksek poliembriyoni oranı Emir çeşidinde % 0.082 olarak gözlemlenirken, Hasandede’de % 0.044, Kalecik karası ve Pinot noir’de

% 0.05, Narince’de % 0.06 olarak tespit edilmiştir. Çeşitlerin tamamında görülen ortalama poliembriyoni frekansı % 0.057’dir. Bu sonuçlara göre asmada poliembriyoninin bir çeşit karakteristiği olduğu ve çeşitlere göre genetik kontrol altında tutulduğu söylenebilir.

Bu sonuçlar, benzer şekilde Fransa’da Thevenot (1972), Bouquet (1978a) ve Bouquet (1980) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgularla desteklenmektedir. Thevenot (1972), M. Ottonel, Auxerrois, Pinot noir, Riesling, Gewurtztraminer, Chasselas, Silvaner, Riesling, Pinot gris ve Müller-Thurgau çeşitlerinde yaptığı denemelerde poliembriyoninin % 0 ile % 0.13 oranları arasında, çeşitlere bağlı olarak değiştiğini gözlemlemiştir. Bouquet (1978a, 1980) de benzer şekilde 35 asma çeşidi üzerinde yaptığı çalışmalarda çeşitlerin ortalama % 0.054 oranında bir poliembriyoni frekansı gösterdiğini ve bunun çeşitlere bağlı olarak % 0 ile % 0.35 arasında farklılık gösterdiğini saptamıştır.

Bouquet (1980) Merlot çeşidine ait tohumlarda % 88 ikiz, % 11.5 üçüz ve % 0.5 oranında da dördüz bitkicikler tespit etmiştir. Bizim çalışmalarımız esnasında elde edilen tüm poliembriyonik bitkilerin tamamı ikizdir. Üçlü ve dördü embriyo yapısına rastlanmamıştır. Elde edilen ikiz bitkiciklerden bazıları simetrik bir yapı gösterirken (şekil 5.1-a), bazıları da birbirinin simetriği olmayıp asimetrik bir yapı göstermiştir (şekil 5.1-b).

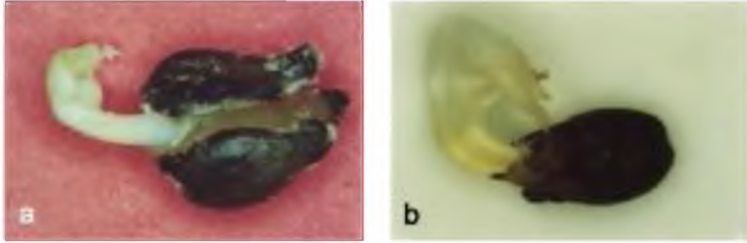


Şekil 5.1. Asma tohumlarında simetrik (a-Kalecik karası) ve asimetrik (b-Hasandede) çimlenme gösteren ikiz bitkiciklerin görünüşü.

Poliembriyoni üzerinde çevresel faktörlerin de önemli ölçüde etkisi vardır. Bu faktörlerin başında çimlenme sıcaklığı gelmektedir. Asma tohumları optimum çimlenme sıcaklıkları olan 27°C’de (Ağaoğlu 1999) hem hızlı hem de daha yüksek oranda bir çimlenme gösterebilmektedirler. Poliembriyoni üzerinde ise, bu araştırmada da gözlemlendiği gibi, daha düşük sıcaklıklar daha olumlu sonuçlar vermiştir. Her iki yılda da elde edilen sonuçlar incelendiğinde 27°C ve 24°C’de çimlenen tohumlarda 30°C’de çimlenen tohumlara göre daha yüksek oranda poliembriyoni gözlemlenmiştir. Bouquet (1980) poliembriyonik tohumların monoembriyonik tohumlara göre daha geç ve yavaş çimlendiğini; yüksek sıcaklıkların tohum içindeki rekabeti artıracığından poliembriyonik tohumlarda gizli ikizliğin arttığını öne sürmekte ve poliembriyonik tohumlar için optimum çimlendirme sıcaklığının 24°C olduğunu belirtmektedir. Çünkü poliembriyonik bir tohumda bu rekabetin sonucu olarak daha kuvvetli ve büyük olan embriyo daha zayıf olan diğer embriyonun gelişimin baskı altına alacak ve çimlenme, monoembriyonik bir çimlenme gibi gözlemlenebilecektir. Bununla birlikte daha düşük çimlenme sıcaklıklarında çimlenme hızı

daha düşük olduğundan zayıf embriyoların da tohum dışına çıkma şansı yüksek olmaktadır.

Yaptığımız çalışmalar esnasında -nadiren de olsa- tohum içerisinde bu rekabetin artması sonucu kökçüğün tohum kabuğunu tohum ağzı denilen kısımdan delerek dışarı çıkamadığı durumlarda kotiledonların tohum çeperine yaptığı baskı sonucu tohumun dorsal (sırt) kısmını yırtarak tohum dışına çıkabildikleri (şekil 5.2-a) veya yapışık ikiz durumların olduğu saptanmıştır (şekil 5.2-b).



Şekil 5.2. Çimlenme esnasında (a) bazı tohumlarda (Pinot noir) rastlanan dorsal'dan çıkışın görünüşü, (b) yapışık ikiz embriyoların görünüşü (Narince).

Üzüm çeşitlerinde üzerinde aşılı bulunduğu anaçların da poliembriyoni üzerinde etkisi bulunmaktadır. Bouquet (1980) omcanın gelişme kuvveti ile poliembriyoni arasında ters bir orantı olduğunu ileri sürmüştü, ancak buna karşın aşılınmamış Mourvèdre omcalarının tohumlarında 420 A üzerine aşılı omcalarından elde edilen tohumlara göre oldukça yüksek oranlarda poliembriyoni gözlemlenmiştir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlarda poliembriyoni oranları üzerine anaçların etkileri bakımından farklılık

görülmekle birlikte anaç ve kalem gelişme kuvveti ile poliembriyoni arasında net bir korelasyon kurulamamıştır. Yalnız omcanın beslenme ve gelişme kuvveti açısından yaşayabileceği streslerin poliembriyoni frekansını artırabileceğini tahmin etmekteyiz.

Ünal (1988) genel olarak *Angiosperm*'lerde bitki yaşının poliembriyoni artırıcı bir sebep olduğunu öne sürmekte, Bouquet (1980) ise omca yaşının poliembriyoni frekansı üzerinde önemli bir farklılık olmamakla birlikte çok az bir düşüşe sebep olduğunu bildirmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada da genç (0-5 yaş) omcalarda hiç poliembriyoniye rastlanmazken, orta yaşlı (6-12 yaş) ve yaşlı (30 yaş) omcalarda birbirine yakın, % 0.1 ve % 0.09 oranlarında poliembriyoni saptanmıştır.

Ekolojik farklılık da poliembriyoni üzerinde etkilidir. Her çeşit, kendi orijinal ekolojisinde tozlanma, dölleme ve meyve tutumu açısından daha optimal şartlara sahiptir. Bouquet (1980) iklimsel şartlar veya diğer faktörler sebebiyle ortaya çıkabilecek düşük meyve tutumunu genellikle yüksek bir poliembriyoni frekansı ile ilişkilendirmektedir. Bu durum çeşitlerin adaptasyon yetenekleri ve o bölgeye adapte olup olmadıkları ile ilgilidir. Bizim yaptığımız çalışmada ise ekolojiler ile poliembriyoni frekansı arasında bir ilişki kurulamamıştır. Bunda tohum aldığımız ekolojilerin birbirine yakın özellikler taşıyor olması da etkili olmuştur.

Yıllara göre iklimsel değişikliğin de poliembriyoni üzerinde etkisi mevcuttur. Yaptığımız çalışmada daha serin geçen ve daha az yağış alan 2000 yılında alman tohumlarda 1999 yılında alman tohumlara göre Hasandede, Kalecik karası ve Pinot noir çeşitlerinde daha yüksek

poliembriyoni frekansı gözlemlenmektedir. Bu sonuçlar da Bouquet (1980) tarafından bildirilen, iklim şartlarının tozlanma, dölleme ve meyve tutumu üzerindeki olumsuz etkisinin embriyonun erken gelişimi sırasında ortaya çıkacak anormalliklerle poliembriyoniye artıracığı görüşü ile desteklenmektedir.

Sonuç olarak söylenebilir ki, poliembriyoni genetik olarak çeşitlere bağlıdır ve genetik kontrol altındadır. Çevre faktörlerinin de poliembriyoni üzerinde etkisi mevcuttur. Asmanın normal yetiştiği şartlara göre daha farklı şartlarda yetiştirildiğinde, özellikle dölleme, meyve tutumu ve embriyonun erken gelişme dönemlerinde bazı anormallikler ortaya çıkabilmekte ve poliembriyoni frekansı artmaktadır.

Doğal haploidinin kaynağı olarak asmada poliembriyoni, bitki ıslahı çalışmalarında önümüzdeki yıllar için büyük önem taşımaktadır. Yalnız poliembriyoninin bu kadar düşük oranlarda görülmesi, araştırmaları ve elde edilmesi beklenen sonuçları oldukça geciktirmektedir. Poliembriyoni üzerinde yapılan bu çalışmalar değerlendirilerek ve *in vitro* embriyo ve doku kültürü teknikleri ile araştırmaların desteklenmesi, daha net ve hızlı sonuçlar elde edilmesi için önemlidir. Özellikle dölleme, meyve tutumu ve zigotun geliştiği safhalarda yapılacak hormonal müdahaleler ve poliembriyoniye artırıcı nitelikteki embriyo kültürü çalışmalarıyla poliembriyonik bitkiler elde edilebileceği ve bu bitkilerin asma ıslahında başarıyla kullanılabileceği kanısını taşımaktayız.

6. KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S. 1999. Bilimsel ve Uygulamalı Bağcılık. Cilt:1. Asma Biyolojisi. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No:1, 205s., Ankara.
- Anonim, 2001. Başbakanlık Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü Meteorolojik Gözlem ve Kayıtları, Ankara.
- Balthazard, J. 1978. Relations entre la véraison des baies et la maturation des graines de Vigne. Génétique et Amélioration de la Vigne. C.R. du 2° Symp. Intern. Amélior. Vigne, Bordeaux, France.
- Bhojwani, S.S. and Bhatnagar, S.P. 1979. The embryology of Angiosperms. Vikas Publishing House. New Delhi, Bombay.
- Bouquet, A. 1978a. La polyembryonie spontanée chez *Vitis vinifera* L.: Intérêt pour la génétique et l'amélioration de la vigne. 2° International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, p.17-25, Paris.
- Bouquet, A. 1978b. Méthode de dénombrement chromosomique dans le genre *Vitis*. Ann. Amélior. Plantes, 28(2); 251-255.
- Bouquet, A. 1980. Effect of some genetic and environmental factors on spontaneous polyembryony in grape (*Vitis vinifera* L.). Vitis, 19; 134-150.
- Bouquet, A. 1982. Premières observations sur le déterminisme génétique de la polyembryonie spontanée chez un interspésifique *Vitis vinifera* x *Vitis riparia*. Vitis, 21; 33-39.
- Durham, R.E., Moore, G.A., Gray, D.J. and Mortensen, J.A. 1989. The use of leaf GPI and IDH isozymes to examine the origin of polyembryony in cultured ovules of seedless grape. Plant Cell Rep., 7;669-672.

- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1021, Ders kitabı: 295, 381 s., Ankara.
- Emershad, R.L. and Ramming, D.W. 1984. *In ovulo* embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. "Thompson Seedless". Amer. J. Bot., 71; 873-877.
- Emershad, R.L., Ramming, D.W. and Serpe, M.D. 1989. *In ovulo* embryo development and plant formation from stenospermic genotypes of *Vitis vinifera*. Amer. J. Bot., 76(3); 397-402.
- Johansen, A.D. 1950. Plant Embryology. Published by the Chronica Botanica Company, Waltham, Mass., 305 p., USA.
- Mariscalco, G. and Crespan, M. 1995. Polyembryony and somatic embryogenesis of *in vitro* cultured *in ovulo* embryos of seedless grapes. Wein-Wissenschaft, 50(2); 39-43.
- Martens, R. and Reisch, B.I. 1988. An improved technique for counting chromosomes in grapes. Hortscience, 23(5); 896-899.
- Mullins, M.G. and Srinivasan, C. 1976. Somatic embryos and plantlets from an ancient clone of the grape vine (cv. "Cabernet-Sauvignon") by apomixis *in vitro*. J. Exp. Bot., 27; 1022-1030.
- Negrul, A.M. 1934. Contribution to the question of parthenocarpy and apomixis in the grape. Tr. Prikl. Bot. Genet. Selek., Ser. VIII (2); 229-268.
- Stout, A.B. 1936. Seedlessness in grapes. New York State Agric. Exp. Station Tech. Bulletin, No:238, Geneva.
- Tepe, Ş. 2000. Poliploidi ve bitki ıslahında kullanım alanları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış Yüksek Lisans Semineri), 28 s., Ankara.

- Thevenot, J. 1972. Etude de la polyembryonie comme préliminaire à la recherche d'haploidie et amélioration. Ann. Amélior. Plantes, 18; 327-365.
- Tsolova, V. and Atanassov, A. 1994. Induction of polyembryony on secondary embryogenesis in culture for embryo rescue of stenospermocarpic genotypes of *Vitis vinifera* L.. Vitis, 33; 55-56.
- Ünal, M. 1988 Bitki (*Angiosperm*) Biyolojisi. Marmara Üniversitesi Yayın No: 945, Fen Edebiyat Fakültesi Yayın No: 11, 256s., İstanbul.