T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

‘NARİNCE’ ÜZÜM (*Vitis vinifera* L.) ÇEŞİDİNDE KOLHİSİN UYGULAMALARININ MORFOLOJİK VE SİTOLOJİK ETKİLERİ

Abdulrahman Shakir Shakor ALBANAA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalını

Aralık-2017

KONYA

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

'NARİNCE' ÜZÜM (*Vitis vinifera L.*) ÇEŞİDİNDE KOLHİSİN UYGULAMALARININ MORFOLOJİK VE SİTOLOJİK ETKİLERİ

Abdulrahman Shakir Shakor ALBANAA

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Unvanı Adı SOYADI

2017, 56 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Zeki KARA
Prof. Dr. Ali SABIR
Yrd. Doç. Dr. Filiz HALLAÇTÜRK

Türkiye sofralık üzüm üretimi, tüketimi ve uluslararası pazarında önemli ülkeler arasındadır. Sofralık üzüm pazarı artan bir trend içerisinde olup bu alandaki rekabette geleneksel çeşitlerin geliştirilmesi ve yeni üzüm çeşitleri ıslahının gerekli olduğu kılmaktadır. Bu projede 'Narince' üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinde kolhisin uygulamalarıyla poliploidinin teşviki *in vivo* koşullarda denenmiştir. Bu çeşidinin tek gözlü kışlık gözleri serada 1:1 torf: perlit ortamında köklendirilmiş, gelişen sürgünlerin 7-10 cm olduğu dönemde 4 kolhisin dozu (%0, %0.25, %0,5, %0,75, %1) %5'lik gliserinle birlikte 2 farklı sürede (48 ve 96 saat) sürgün ucuna damlatılarak uygulanmıştır. Uygulamanın ardından sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılarak ve açık bırakılarak etkiler sürgün ucu canlılık oranı, sürgün uzunluğu, stoma boyutları (uzunluk, genişlik, alan ve yoğunluk) ve ploidi düzeyi flow sitometri (FC) analizleriyle değerlendirilmiştir. Morfolojik özellikler bakımdan önemli değişimler tespit edilmekle birlikte FC analizlerinde ploidi seviyesinde önemli bir değişim belirlenememiş, test edilen materyali orijinal diploit 2n yapıda olduğu belirlenmiştir. Tespit edilen morfolojik farklılıklar ve FC analizlerindeki varyasyon nedeniyle materyal, takip edilmek için araziye aktarılarak izlenmeye alınmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre 'Narince' üzüm çeşidinde kolhisin uyartımı ile poliploidi teşvikine yönelik mitotik tam mutasyon frekansı 1/120'den daha düşüktür.

Anahtar Kelimeler: Üzüm, *Vitis vinifera* L., ıslah, mutasyon, poliploidi.

ABSTRACT

MS. D THESIS

MORPHOLOGICAL AND CYTOLOGICAL EFFECTS OF COLCHICINE TREATMENTS ON 'NARINCE' (*Vitis vinifera* L.) GRAPE CULTIVAR

Abdulrahman Shakir Shakor ALBANAA

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN HORTICULTURE

Advisor: Prof. Dr. Zeki KARA

2017, 56 Pages

Jury
Advisor
Prof. Dr. Zeki KARA
Prof. Dr. Ali SABIR
Yrd. Doç. Dr. Filiz HALLAÇTÜRK

Turkey is among the important countries in table grape production, consumption and international marketer. The table grape market is in an increasing trend and the development of the traditional varieties in this area and the breeding of new grape varieties are necessity. In this project induction of polyploidy with colchicine applications in 'Narince' grape (*Vitis vinifera* L.) variety has been tested in vivo conditions. Single node cuttings are sprouted in greenhouse in 1:1 *peat:perlite*, 4 colchicine dosages (0%, 0.25%, 0.5%, 0.75%, 1%) with 5% glycerine were applied by dropwise to the shoot tip with two different times (48 and 96 hours). After the application, the shoot tips were covered with aluminium foil and left open, and the effects were assessed by the shoot tip viability rate, shoot length, stoma dimensions (length, width, area and density) and flow cytometry (FC) analysis. Although some changes in the morphological characteristics were observed, a significant change in the level of ploidy was not determined according to FC analysis, that all the tested material found as original 2n diploid. Due to the detected morphological differences and variation in FC analysis, the material has been monitoring by transferring it to the open area to follow up the future developments. The present study reveals that in 'Narince' grape variety, the exact frequency of colchicine-induced polyploidy induction was less than 1/120.

Keywords: Grape, *Vitis vinifera* L., breeding, mutation, polyploidy.

ÖNSÖZ

Beni bağcılık konusuna yönlendiren ve bu tez çalışmasının planlanmasını sağlayan, çalışmalarım sürecinde her aşamada yol gösteren, yardımlarını eksik etmeyen, akademik kariyerimin oluşmasında bana derin bilgisiyle yardımcı ve destek olan Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi danışman hocam Prof. Dr. Zeki KARA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın arazi ve laboratuvar aşamalarında sınırsız yardım ve desteklerini gördüğüm Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocam Sayın Prof. Dr. Ali SABIR'a, Araş. Gör. Kevser YAZAR'a, Araş. Gör. Osman DOĞAN'a teşekkür ederim.

Özellikle yoğun çalışma gerektiren zamanlarda yanımda olan arkadaşlarıma teşekkürlerimi arz ederim.

Uzun ve yorucu laboratuvar çalışmalarımda yardım eden, destek veren ve isimlerini burada sayamadığım Ziraat Fakültesi Lisans Öğrencilerine, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencilerine şükranlarımı sunarım.

Bu günlere ulaşmamda her türlü maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan aileme şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Abdulrahman Shakir Shakor ALBANAA

KONYA-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **20**

3.1. Materyal 20
3.1.1. Narince 20
3.1.2. Gliserin 20
3.1.3. Kolhisin 21
3.2. Metot 21
3.2.1. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamaları 21
3.2.2. Tek göz çeliklerine kolhisin uygulamaları 22
3.3. Yapılan Ölçüm ve Analizler 23
3.3.1. Sürgün ucu canlılık oranı (%) 23
3.3.2. Sürgün uzunluğu (cm) 23
3.3.3. Stomaların tırnak cilası ile kalıba dökülmesi 24
3.3.4. FC ile ploidi analizi 26

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **28**

4.1. Arazi ve Sera Koşullarında Yapılan Kolhisin Uygulamaların Sonuçları 28
4.1.1. Sürgün canlılık oranı (%) 28
4.1.2. Sürgün uzunluğu (cm) 30
4.1.3. Stoma yoğunluğu (adet μm^{-2}) 32
4.1.4. Stoma genişliği (μm) 34
4.1.5. Stoma uzunluğu (μm) 36
4.1.6. Stoma alanı (μm^2) 38
4.1.7. Ploidi seviyeleri 40
4.2. Tartışma 40
4.2.1. Sürgün ucu canlılık oranı (%) 40
4.2.2. Sürgün uzunluğu (cm) 41
4.1.3. Stoma özellikleri (uzunluk, genişlik, yoğunluk ve alan) 43
4.2.4. Ploidi seviyeleri 46

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **48**

5.1. Sonuçlar 48
5.2. Öneriler 50

KAYNAKLAR **51**

ÖZGEÇMİŞ.....56

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde
cm : Santimetre
ºC : Santigrat Derece
g : Gram
g L^{-1} : Gram/litre
mg L^{-1}: Miligram/litre
mm : Milimetre
mm^2 : Milimetrekare
µm : Mikrometre
μm^2 : Mikrometrekare
n : Kromozom Sayısı
GA3 : Giberellik asit
T : Ton
Ha : Hektar
pH : Hidrojenin Potansiyeli

Kısaltmalar

SSCP : Tek Telli Konformasyonal Polimorfizm
PCR : Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu
FC : Flow sitometri

1. GİRİŞ

Asmanın anavatanı Anadolu çevresi ve Mezopotamya Bölgesi olup bu alanda günümüzden 6000 yıl öncesine ait kalıntılar bulunmaktadır. Bağcılık buradan Güneybatı Asya ve Avrupa'ya oradan da dünyanın diğer bölgelerine yayılmıştır (Kara, 2012).

Dünya üzerinde ekonomik olarak çok büyük bir önemi olan bağcılık, üzümden elde edilen ürünlerin çeşitliliği ve zenginliği sayesinde birçok yönden ele alınmakta ve araştırılmaktadır. Faostat (2017), verilerine göre dünyada 7124512 ha alanda bağcılık yapılmakta ve toplamda 74499859 ton üzüm üretilmektedir. Üzüm üretiminde 12.6 milyon tonluk bir üretimle Çin ilk sırada yer alırken yaklaşık olarak 4.2 milyon ton üretimle Türkiye ise 6. sırada yer almaktadır (Anonim, 2017).

Bu çalışmada 'Narince' üzüm çeşidi kullanılmıştır. Bu çeşit Tokat yöresinde yaygın olarak üretilmekte, yöresel olarak sofralık maksatla kullanımının yanı sıra şarapçılıkta da değerlendirilmektedir. Narence üzüm çeşidinin salkımları kanatlı veya konik, dolgundur. Taneleri beyaz, tatlı, yuvarlak, orta irilikte, tane kabukları orta kalınlıkta ve taneler 2-3 adet çekirdeklidir. Verimli bir çeşittir, kısa budanır (Kara ve Ağaoğlu, 1990). Salamuralık yaprak üretiminde tercih edilen çeşitlerimizden birisidir. Yaprağı için üretim bazı bölgelerde meyvenin önüne geçebilmektedir. Tokat Yöresinde salamuralık yaprak ve üzüm üretiminin bir arada gerçekleştirildiği bağlarda, kısa budama tercih edilmektedir (Ağaoğlu ve ark., 1988).

'Narince' üzüm çeşidinin ampelografik tanımı (Kara ve Ağaoğlu, 1990) tarafından yapılmıştır. Ayrıca bu çeşidinin göz verimliliği incelenmiş, en verimli gözün 6. göz olduğu, 99R anacının 1.88 salkım/göz ile bu anaçta en yüksek salkım doğuş oranı değeri verdiği bildirilmiştir (Kara ve Ağaoğlu, 1992).

'Narince' üzüm çeşidinin yaprakları genelde orta yoğunlukta tüylü, az dilimli, orta sertlikte ve yaprak pH'sının 5 olduğu belirlenmiştir (Göktürk ve ark., 1997).

Bağcılık, sağlıklı asma yetiştirme ve değişik amaçlara göre kaliteli üzüm elde etme sanatı olup, ileri bir tarım uygarlığının göstergesidir (Fidan, 1985). Tüm bitkilerde olduğu gibi asma ıslahında amaç, verimi arttırmak, kaliteyi yükseltmek, asmanın genetik yapısını insanların gereksinimlerini karşılayacak biçimde değiştirmek ve iyileştirmektir.

Türkiye'de özellikle sofralık üzüm çeşitlerine yönelik ıslah programları, klon seleksiyonu ve melezleme ıslahı teknikleri ile yürütülmektedir. Yeni çeşit

geliştirilmesinin hedeflendiği melezleme ıslahı çalışmaları, ıslah sürecinin çok uzun olmasına karşılık, değişen tüketici talepleri ve pazar ihtiyaçlarını beklenildiği ölçüde karşılayamamaktadır. Asma tür ve çeşitlerinin uzun yıllar vegetatif çoğaltılan popülasyonlar olduğu dikkate alındığında, popülasyon içerisinde yüksek mutasyon birikiminin bulunduğu açıktır. Bununla birlikte, klon düzeyinde yüksek oranda varyasyon gösteren üzüm çeşitlerinde gözlenen bu varyasyonlar, çevre koşullarından kaynaklandığı gibi, kalıcı nitelikte somatik mutasyonlardan da kaynaklanabilmektedir.

Bu çalışmada tane kalite özelliklerinin üstünlüğünün yanı sıra orta ve geçit kuşağı iklimine adaptasyonunun mükemmelliği gibi nitelikleri ile ilgi çeken 'Narince' üzüm çeşidinden global pazarın daha çok talep ettiği iri taneli çeşit geliştirilebilmesi maksadıyla kromozom katlanması planlanmıştır. Bağcılıkta, özellikle sofralık üzüm ıslahına yönelik çalışmalarda kolhisin uygulamalarıyla kromozom katlanma çabalarından olumlu sonuçlar alındığı birçok bildirilmektedir.

Dünya'da 20. yüzyılda klasik ıslah yöntemleriyle elde edilen yeni çeşitler, bitkisel üretimi önemli bir düzeyde artırmasına rağmen, 21. yüzyılda artacak nüfusun ihtiyaç duyacağı bitkisel ürünü karşılamada yetersiz kalacağı düşünülmektedir. Klasik ıslah yöntemleriyle yürütülen ıslah programları yıllarca devam etmekte, kısırlık ve uyuşmazlık gibi durumlarda işlevini yitirmekte ve organizmalar arasında gen alışverişini sınırlamaktadır. Bu gibi durumlarda yeni yöntemlere başvurulması gerekmektedir.

Sofralık ve kurutmalık üzümlerde çekirdeksizlik öncelikli aranan özelliklerden birisidir. Dünya pazarlarında tüketilen kuru üzümün tamamına yakını çekirdeksiz kuru üzüm çeşitlerine ait olup, özellikle sofralık üzüm ticaretinde çekirdeksiz çeşitlere olan talep yıldan yıla artış göstermektedir. Bu nedenle, sofralık tüketime uygun çekirdeksiz ve iri taneli üzüm çeşitlerinin elde edilmesi bağcılıkta ıslah çalışmalarının önemli amaçlarından birisini oluşturmaktadır.

Üzüm çeşidi ıslahı programlarının en güncel hedefi çekirdeksiz yeni çeşitlerin geliştirilmesidir. Çekirdeksizlik doğal ve yapay mutasyonlarla sağlandığı gibi, diploit ebeveyn bitkiler ve tetraploit ebeveyn bitkiler arasında gerçekleşen melezlemelerle de sağlanabilmektedir.

Yapay yollarla tetraploit bitki elde edilmesi için sürgün uçlarına kolhisin uygulaması ve mikro aşılama yöntemleri kombinasyonu veya embriyogenik kallusların kolhisin içeren ortamlarda kültüre alınarak rejenerasyonu yöntemleri kullanılmaktadır (Tachikawa ve ark., 1961; Barrett, 1974; Gmitter ve Ling, 1991; Aleza ve ark., 2009).

Kolhisinin 1930'lu yıllarda keşfiyle beraber birçok bitki türünde elit tiplerin ve dolayısıyla genetik çeşitliliğin oluşturulmasında kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde kromozom katlaması için bitki ıslahçıları tarafından en yaygın kullanılan kimyasal maddelerden birisidir.

Kolhisin ($C_{22}H_{25}O_6$) güz çiğdemi *Colchicum automnale* L. bitkisinin köklerinden elde edilir. Alkoloid yapısında, renksiz, kuvvetli bir zehirdir. Alkol, kloroform ve soğuk suda erir, eter ve sıcak suda erimez (Genç, 1993). Kolhisin uygulandığı dokuların hücrelerinde mitoz bölünmenin metafaz safhasında iğ ipliklerinin oluşumunu engeller ve replikasyona uğramış kromozomların kutuplara çekilmesi önlenerek, kromozom sayısının iki katına çıkması sağlanır (Köksal, 1999).

Bu çalışmada 'Narince' üzüm çeşidine bağda omca üzerinde ve tek göz çelikleri serada köklendirilerek gelişen sürgünlere farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulanarak poliploidi teşvikine etkileri morfolojik ve sitolojik değişimin takibiyle incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Euvitis cinsi üzümlerin Amerika'nın güneyine adaptasyonunu sağlamak amacıyla *Euvitis* ve *Muskadin* üzümleri arasında yapılan melezlemelerde ilk dönem ıslahçıları başarışız olmuşlardır. İki üzüm çeşidinin kromozom sayılarının farklı oluşu (*Euvitis*=2n=38; *Muskadin*=2n=40) nedeniyle yüksek ya da tamamen kısır çok az melezin elde edildiği bildirilmiştir. Bu tür melez olduğu bilinen 'N.C. 6-15', ve 'N.C.6-16' bireyleri tamamen verimli olup kolhisinle kromozom katlanması sonucunda elde edilmişlerdir. Kolhisin uyartımlı 2 amfidiploitten küçük bir tetraploit birey popülasyonunun ortaya çıktığı belirtilmiştir. Tetraploid bitkilerin, ebeveyn türlere göre iyi polen verdiği, vegetatif ve tane özellik yüzdeleri bakımından yeterli varyasyon gösterdiği bildirilmiştir. Son yıllarda bazı yetiştiricilerin 2x hibrit 'N.C. 6-15' bitkilerinde çok az miktarda tane üretimi gerçekleştirdiği kaydedilmiştir. Bu bitkilerin bazılarında *V. vinifera*'nın spesifik özelliklerinden uzun salkım doğuşu ve tane bağlama gerçekleştiği belirlenmiştir. Tane ve şıra özelliklerinin her iki ebeveynin de önemli özelliklerini gösterdiği belirtilmiştir. *Euvitis* cinsi üzümlerin önemli hastalık zararlılara dayanımı, sıcak ve nemli bölgelere adaptasyonunun geliştirilebileceği belirlenmiştir (Dermen, 1964).

Asmalarda kolhisin uygulamasının çeşitli yöntemleri denenmiş ve üzerinde çalışılan 13 genotipten 11 tanesinde tetraploidi başarıyla uyarılmıştır. Kışlık göz uygulamaları pozitif sonuç verirken, tohum ve kısa süreli kolhisin uygulamaları başarısızlıkla sonuçlanmıştır. %0.2'lik kolhisin dozunun kotiledon aşamasındaki fidelere günaşırı 3 defa uygulanması etkili bulunmuştur. Kışlık gözlere %5'lik gliserin içerisinde %0.25 ve %0.5'lik kolhisinin günaşırı 3 defa uygulanması en iyi sonucu vermiştir. Farklı çeşitlerde değişen sonuçlar alınmış en yüksek oran (%29.1) tetraploit bitki oluşumu 'Beauty Seedless' üzüm çeşidinde %5'lik gliserin + %0.5'lik kolhisin uygulamasından elde edilmiştir. Yeni köklenmiş çeliklere göre, 1 ya da 2 yaşlı köklenmiş çeliklerin kullanılması daha iyi sonuç vermiştir. Kışlık gözlere kolhisin uygulamasının aktif dönem öncesinde (tomurcuk büyümesinin aktif olması) veya sonrasında (aktif büyümede istenmeyen ve intrasomatik seçimin büyüme uyarısından etkilenmemiş, kabarma olmamış tomurcuk yapılarının kopartılması) yapılmasının uygulama başarısını garantiye almak için önemli bulunmuştur. Tetraploit sürgünlerin izolasyonunda ve doğrulanmasında uyarılmış tetraploit yapılar, kuvvetli gelişme, yapraklarda artan dişlilik ve yaprak alanıyla birlikte, kalınlaşma ve renklerde

koyulaşma, boğum aralarında kısalma ve kalınlaşma, sülükler vb gibi tanımlamayı kolaylaştıran özellikler göstermiştir (Das ve Mukherjee, 1967).

'Neo Muskat'ın dört ve 'Thompson Seedless'in üç tetraploit formu kışlık tomurcuklara %0.25 kolhisin çözeltisi uygulanarak elde edilmiştir. 'Muscat Bailey B' x 'Muscat Alexandria', 'Neo Muscat' ve 'Koshu Sanzyaku'nun kotiledon safhasındaki sürgünleri %0.25 kolhisin çözeltisiyle muamele edilerek birkaç tetraploit form elde edilmiştir. Hem kışlık tomurcuklar ve hem de sürgünlerin kolhisinle muamelesiyle çok sayıda miksoploid üretilmiş olup bunların bir kısmı periklinal kimera formlarındadırlar. 'Neo Muskat'ın tetraploit bitkileri yapraklarının morfolojik yapısı, diploit orijinlerinden farklı ve stoma hücresi iriliği %40 daha fazla ve birim olana düşen stoma sayının ise diploit orijinlerinden %40 daha az olduğu bildirilmiştir (Yamane ve Kurihara, 1980).

V. vinifera, V. amurensis, V. berlandieri, V. cinerea, V. rupestris ve V. riparia x *V. vinifera*'yı temsil eden 14 çeşit arasında, stomaların yalnızca yaprakların alt yüzeyinde olduğunu belirlenmiştir. *V. cinerea* ve *V. rupestris*'in en yüksek ve en düşük stoma sayıları (sırasıyla mm^2 yaprak alanı başına 349 ve 174 stoma) saptanmıştır. *V. vinifera* dışındaki tüm türlerde, stoma sıklığının olgun yapraklarda genç yapraklardan daha düşük olduğunu açıklanmıştır. Türler arasında, stomatal frekans ile kuraklık direnci arasında pozitif bir ilişki olduğu belirtilmiş, ancak *V. vinifera*'da bu ilişkinin belirgin olmadığı açıklanmıştır (During, 1980).

'Meunier' çeşidinde olası bir periklinal kimera için apikal parçalar adventif sürgün oluşumu için uyarılmıştır. Bu sonuçlar asma üzerinde adventif gözlerin tek bir hücreden üretilmediğini, orijinin çok hücreli olduğunun kanıtıdır. Ayrıca, asmada parçalara ayrılmış sürgün ucu kültürünün periklinal kimera olan apikal dokularda birleşik dokuların ayrılmasına ve bütünlüğünün bozulmasına neden olduğu sonucuna varılmıştır. Sürgün ucu kültüründe meydana gelen kimeralar, tipe doğruluğun önemli olduğu yerlerde kabul edilmemektedir. Ancak, bu tekniğin ayrılmış kimerik genotiplere hangi koşullarda kullanışlı bir şekilde uygulanabileceği tartışmalıdır (Skene ve Barlass, 1983).

Üzüm çeşitlerinde ışınla mutasyon teşvikine yönelik bir yöntemden bahsedilmiştir. Bazı uygulamalarda ilginç mutantların oluşumuna sebep olarak popülasyonda azda olsa değişkenlik artırılmıştır. 'Dolcetto'da mutantlarda erken olgunlaşma etkileri bulunamamıştır. Poliploidi 'Barbera' da *Botrytis cinerea*'ya daha iyi direnç gösteren büyük taneler oluşturmuştur. Poliploid Queen of Vineyards çekirdeksiz, taneleri tatlı ve sulu fakat küçük boyda olmuştur. Bunun yanında ışın mutantlarında çok

küçük meyve oluşumu ve yapraklarda pigmentasyon kusurları gibi olumsuz etkileri de gözlemiştir (Botta ve ark., 1987).

Avrupa *Vitis vinifera* üzüm çeşitlerinin salkımlarının genellikle verim ve kalite bakımından yüksek ve farklı hava koşullarına karşı dayanaklıdır. Ancak Avrupa çeşitleri mantari hastalıklara karşı hassastırlar. Özellikle de soğuk ve nemli hava koşulları hastalık riskini artırır. Dünya çapında birçok asma yetiştirme programının amacı, Avrupa *Vitis* ve Amerikan *Vitis* türleri arasında melezleme yaparak elde edilen hastalıklara karşı dirençli yeni çeşitler geliştirmektir. Bu tür programlarda heterozigotluğu korumak esastır. Meydana gelen melezlerin vegetatif yöntemler ile çoğaltılması istenmektedir. Asma ıslahında eşey uyuşmazlıklarının üstesinden gelmek için kullanılan yeni yöntemlerden biri protoplast füzyonudur. Bunun yanında, protoplastlardan ve kalluslardan alınan bitkilerin normal olarak gelişmesi zordur. Stenospermokarpi tohumları olan çeşitlerin *in vitro* yumurta kurtarma tekniği ile çekirdeksiz üzüm yetiştiriciliğinde olumlu etki beklenmektedir. İstenilen genetik özellikleri kodlayan DNA parçalarını eklemek için bitki ıslah tekniklerinin kullanılması, iyi bilinen üzüm çeşitlerinin yeni özelliklere sahip olması için fırsatlar sağlayacaktır (Alleweldt ve Possingham, 1988).

On yıl süreyle mutasyon teşviki yapılarak elde edilen autotetraploit Hamburg Misketi üzüm çeşidinin morfolojik özellikleri incelenmiştir. Autotetraploit Hamburg Misketi üzüm çeşidinin gelişmesi daha güçlü ve çekirdekli meyve oranının diplerinden daha yüksek olduğu; ayrıca olgunlaşmasının daha erken, tanelerinin daha iri ve iyi kalite özellikleri gösterdiği ve bu yüzden autotetraploit genotipin popüler olmaya aday olduğu bildirilmiştir (Ziying ve ark., 1995).

Hamburg Misketi üzüm çeşidi, tatlı lezzeti ve yüksek aroması ile ünlüdür. Bu çeşidin sürgün uçları 45 saat %0.2 kolhisin konsantrasyonunu ile muamele ederek 2n = 4x = 76 kromozom sayısına sahip olan mutantı elde edilmiştir. Autotetraploitin meyvesi, ortalama olarak diploitlerden %63 daha büyük ve 10 gün önce olgunlaştığı bildirilmiştir. ‘Muscat Hamburg’ çeşidinin kalitesinin autotetraploit nesle de aktarıldığı belirlenmiş, autotetraploit üreticiye önerilmiş, 5000'den fazla bitki üreterek kullanılmaya başlanmıştır (Luo ve ark., 1996).

Asma ıslahı çalışmalarının 1950 yılında Yamanashi Meyve Ağaçları Deneme İstasyonunda, ıslah amaçlarının mükemmel şarap kalitesine sahip ve bölgenin nemli iklim koşullarında kolay bir şekilde yetiştirilebilecek şaraplık üzüm çeşitlerini geliştirmek için başlatıldığı bildirilmiştir. ‘Kai Noir’ üzüm çeşidinin meyve çatlaması ve

hastalıklara dirençli, iyi kaliteli kırmızı şaraplık olduğu, ‘Kai Blanc’ üzüm çeşidinin iyi gelişme gösterdiği ve beyaz şaraplık olarak kullanıldığı, ‘Summer Black’ üzüm çeşidinin triploit, çekirdeksiz ve koyu morumsu siyah bir üzüm çeşidi olduğu ve ‘Pizzutello Bianco’ üzüm çeşidinin de kolhisin uygulanarak elde edilmiş poliploid bir çeşit olduğu FC yöntemiyle onaylandığı bildirilmiştir (Bessho ve ark., 1999).

Autotetraploid Hamburg Misketi I, autotetraploid Hamburg Misketi II asma genotipleri ve onların sürgünlerinden elde edilen üç yeni neslinde epidermis dokusundaki stoma özellikleri, polen tanelerinin yapıları, kök ucu örneklerinde kromozom sayıları, sürgün ucu ve sülüklerin özellikleri incelenmiştir. Autotetraploid Hamburg Misketi I ve autotetraploid Hamburg Misketi II çeliklerinden geliştirilen yeni genotiplerde doku yapılarında bir değişim olmadığı; autotetraploid Hamburg Misketi I ve autotetraploid Hambur Misketi II’in genetik olarak stabil oldukları bildirilmiştir (Qing ve ark., 1999).

Polyploid çiçekli bitkilerin avantajlı yönlerinden çiçeklenme periyodunun fazla uzaması ve çiçek büyümesi gibi özellikler kromozomu katlanan bitkilere eklenebilmesidir. *In vitro* olarak yetiştirilen üç Rhododendron kültüründe poliploidiye yönelik kolhisin ve oryzalinin etkinliğini test edilmiştir. Kimyasallar, 24 saat ve 48 saat süreyle iki farklı konsantrasyonda kullanılmıştır. Bitkilerin hayatta kalma oranları, oryzalin uygulananlardaki kolhisin uygulamasına göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. İki kimyasalda da yüksek konsantrasyonun etkisinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Oryzalin uygulamasında 24 ile 48 saat arasında farklılık görünmemiş, ancak kolhisin uygulamasında 48 saatin 24 saatten daha etkili olduğu saptanmıştır. Canlılık oranın düşük olmasının dezavantaj olabildiği bildirilmiştir. FC ile ploidi seviyesi analiz edilmiştir. Oryzalin, poliploidiye etkisi kolhisinde'den daha etkili olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyon ve uygulama sürelerinin etkilerinin temel faktör olduğu bildirilmiştir. Tetraploid bitkiler en fazla (hayatta kalan bitkilerin %18.2) %0.005 oryzalin'le 24 saat uygulamadan elde edilmiştir. Uygulamadan hemen sonra ployploid bitkilerin büyümesinin diploitlere göre çok daha yavaş olduğu belirlenmiştir (Väinölä, 2000).

In vitro ve arazi koşullarında kültüre alınan asma yapraklarındaki klorofil içeriği ve stoma indeksleri incelenmiş ve Fisher kuralına göre ayrım işlemi yapılmıştır. Dört özellik (stoma uzunluğu, stoma boyu, stoma yoğunluğu ve klorofil içeriği) arasındaki ilişki ve ploidi seviyesi fonksiyonel bir şekilde analiz edilmiş ve asmanın kromozom sayısını tanımlamak ve yukarıda bahsedilen dört özelliği analiz etmek için kullanılan fonksiyonun çok güvenli olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2004).

Triploid çekirdeksiz asma ıslahındaki gelişmeleri derlenmiştir. Triploid asma ıslah metotları başlıca; diploid ve triploid çeşitler arasındaki melezlemeler, endosperm kültürü, 2n gamet kullanımı ve tomurcuk mutasyonundan oluşmaktadır. Triploit çekirdeksizlik mekanizması, triploid asmaları değerlendirme yaklaşımları ve embriyo kurtarma teknikleri tartışılmıştır. Dünyada yeni ıslah edilen önemli yedi triploid çekirdeksiz çeşitlerin 'Yilevi, KingDela', 'Honey Seedless', 'Kai Mirei', 'Summer Black', 'Earlyred Seedless' ve 'Polivitis Magaracha' çeşitleri olduğu bildirilmiştir. Mevcut problemler ve ebeveyn seçimi, triploid embriyonu gelişimi ve çekirdeksizlik özelliğinin kalıtımı da tartışılmıştır (Shengjian ve Zijuan, 2004)

Besin ortamına kolhisin eklenerek tetraploid bitki elde edilmiştir. Micro çoğaltma yöntemi kullanarak uygulamadan 2 veya 4 nesil sonra tetraploid bitki elde edebilmişlerdir. Kullanılan sürgün uçları 48 veya 48 saat süreyle 2000 ml L^{-1} kolhisin çözeltisine batırılmış, aynı zamanda 3000 ml L^{-1} kolhisin konsantrasyonu 3 veya 4 günlük süre ile ve 4000 ml L^{-1} kolhisin konsantrasyonu ise 2 veya 4 gün süre ile uygulandığı zaman ilk nesillerden kolayca saf tetraploid bitki elde edilmesinin mümkün olduğu saptanmıştır. Çalışmaya göre en iyi sonucun 3 veya 4 gün uygulanan 3000 ml L^{-1} 1 kolhisin uygulamasından alınmıştır. Bu dozlardaki verim %16.7 - %23.3 olarak kaydetmişlerdir (Ma ve ark., 2004).

'Bidaneh' çekirdeksiz üzüm çeşidi sürgün uçlarına %0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 ve 1.1'lik kolhisin dozları 24, 48, 72 ve 96 saat sürelerle pamuğa emdirme yoluyla uygulamışlardır. Uygulama sonrası sürgünler distile su ile yıkanmış ve 60 gün sonrasında uygulama yapılan her sürgün için 4 adet yaprak örneği alınmış ve bunlardan stoma incelemeleri yapılmıştır. Denemede autotetraploidinin teşviki için en iyi sonucun %0.9 ve %1.1'lik kolhisin dozunun 96 saat süreyle uygulanmasıyla elde edildiği bildirilmiştir (Rassoulli ve Mahmoodzadeh, 2005).

'Jiny' ile 'Zizhenxiang' melezinden Hu 30 adında yeni bir tetraploid sofralık üzüm elde edilmiştir. Elde edilen Hu 30 üzüm çeşidinin salkımları silindirik, ortalama 400 g ağırlığında, taneler oval, mor-siyah renkli, ortalama 8 g, kuru madde içeriği %14.0 - %16.5 olduğu, yıllık ortalama veriminin düzenli, erkenci, tanelerin dengeli ve kaliteli renklendiği, Güney Çin bölgelerinde sera ve arazi koşullarına uygun bir çeşit olduğu Şanghay bölgesinde meyvenin ağustos ayında olgunlaştığı, olgunlaşan meyvelerin çilek aromasına yakın bir kokuya sahip olduğu bildirilmiştir (Jiang ve ark., 2006).

Diploid asmalarda *in vitro*'da olgunlaşmamış zigotik embriyolardan kolhisin uygulaması ile tetraploitinin uyarım protokolü rapor edilmiştir. 1.0 mg L^{-1} 2.4-D ilave edilen Nitsch ve Nitsch (NN) ortamında olgunlaşmamış zigotik embriyolardan embriyonik kallus oluşturulmuştur. Somatik embriyogenesisin sağlanması için kallus, 1 mg L^{-1} NAA, 0.5 mg L^{-1} BA içeren NN ortamına aktarılmıştır. Güçlü gelişme gösteren küresel embriyolar seçilmiştir. Seçilen embriyolar 1, 2 ya da 3 gün süreyle 0, 10, 20 mg L^{-1} kolhisinle muamele edildikten sonra somatik embriyo oluşturma ve bitki rejenerasyonu için 0.03 mg L^{-1} NAA ve 0.5 mg L^{-1} BA ilave edilen NN ortamına aktarılmıştır. Kolhisin uygulaması sonrasında artan kolhisin dozu ve uygulama zamanı ile hayatta kalan embriyo ve bitkiye dönüşüm sayılarında azalma tespit edilmiştir. Somatik embriyoya kolhisin uygulamasıyla geliştirilen 29 bitkide kromozom sayımları sonucunda 5 tanesinin (2n=4x=76) saf tetraploid diğerlerinin diploit olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca rejenere olan bitkilerin yaprak örneklerinde ploidi seviyeleri FC yöntemiyle tespit edilmiştir. Kolhisin uygulanmış somatik embriyolardan oluşan 2C ve 4C çekirdeklerin her ikisinde de kimeraya rastlanılmamıştır. Diploit ve tetraploid bitkilerin yaprak stoma parametreleri arasında önemli farklılıklar bildirilmiştir (Yang ve ark., 2006).

Kolhisin kullanarak elde edilen tetraploid asmalardaki gelişmeler, kolhisinin etki faktörü ve kromozom katlamadaki uyarı yöntemleri tartışılmıştır. Kolhisinle uyarılarak elde edilen tetraploid asma özellikleri morfoloji, histoloji, spor-polen, sitoloji, moleküler biyoloji, fizyoloji ve biyokimyasal olarak tanımlanmıştır. Ayrıca tetraploit asmaların tanımlama yöntemleri de bildirilmiştir. Poliploid asma ıslahı için mevcut problemler ve gelecekteki araştırma yönleri tartışılmıştır (Aihong ve ark., 2006).

Çekirdeksiz üzümlern en önemli özelliklerinden birisi tanesinde çekirdek olmadığı ve bu olgu sonucunda tanelerin küçük kaldığıdır. Bu sebepten dolayı çekirdeksiz üzüm çeşitlerindeki verim artışı ve poliploidi kullanılarak tane gelişimin gerekli olduğu; üzüm tane iriliği, satış ve verimde artış sağlamak için en iyi kolhisin kullanım süresi ve konsantrasyonu araştırılmıştır. Sürgünler iki tomurcuk üzerinden budanıp uyanmaya başladıklarında pamukla kolhisin uygulanarak uygun konsantrasyon ve uygulama süresi belirlenmiştir. En iyi sonuç için kolhisin uygulamasından sonra spurlar streçle kapatılmış ve uygulama bittikten sonra sürgünler distile su ile yıkanmıştır. Deneme 4 tekerrürlü faktöriyel tesadüf blokları deseninde planlanmıştır. Kolhisin 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 ve 1.1%'lik konsantrasyonlarda 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile denenmiştir. Uygulamadan 60 gün sonra yaprak örnekleri alarak stoma hücrelerinde

ploidi seviyesi mikroskopla incelenmiştir. Kontrol gruplarıyla uygulama ortalamalarının karşılaştırılması, varyans analizleri sonrasında %0.9 ve 1.1'lik kolhisin çözeltisinde 96 saat bekletmenin *Vitis vinifera* cv. Bidaneh çeşidinde autotetraploid teşvikinde en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir (Rasuli ve Sotudeh, 2007).

Red Globe üzüm çeşidi sürgünlerinden son yıllarda yeni bir genotip elde edildiği bu genotipin ploidi yapısını tespit amacıyla stoma bekçi hücrelerinin boyutu ve bu hücrelerdeki kloroplast sayısını tespit için ölçüm ve sayımlar yapılmış ve aynı zamanda kök ucu hücrelerinin kromozomları da sayılmıştır. Yeni genotip ve ebeveyninin L_1, L_2 ve L_3 yapıları incelenmiştir. Yeni Red Globe genotipinde stoma bekçi hücrelerinin Red Globe üzüm çeşidinden birazcık daha uzun ve genişliği ise birazcık daha dar olduğu, ebeveyn ve yeni genotipte stoma bekçi hücrelerinin kloroplast sayılarının sırasıyla 10.63 ve 11.35 olduğu belirlenmiştir. Stoma bekçi hücrelerinde hem kloroplast sayıları ve hem de boyutunda önemli bir farklılık olmadığından yeni genotipin L_1 katmanının diploit olduğu bildirilmiştir. Yeni genotip ve ebeveyn Red Globe polen tanelerinin büyüklüğünün sırasıyla 35.46 ve 33.03 µm olduğunu ve polen tanelerinin genişliğinin de sırasıyla 22.95 ve 18.04 µm olduğu bildirilmiştir. Yeni genotipin polen tanelerinin uzunluk ve genişliğinde önemli bir uzunluk farkı olduğu ve bu yüzden yeni genotipin L_2 yapısının ploidi seviyesinin tetraploid olduğu sonucuna varılmıştır. Yeni genotipin kök ucu hücrelerindeki kromozom sayısını 2n=4x=76, Red Globe üzüm çeşidinin 2n=2x=38 olduğu ve bu sonuca dayanarak Red Globe üzüm çeşidi yeni genotipinin L_3 yapısında ploidi seviyesi tetraploid olarak tanımlanmıştır. Dahası sürgün ucu kesitlerindeki gözlemlerle Red Globe ve yeni genotipin L_1 hücreleri arasında önemli bir fark görülmemiştir. Yeni genotipin L_2 ve L_3 hücrelerinin Red Globe üzüm çeşidinden daha büyük olduğu, tüm verilerle Red Globe üzüm çeşidi tomurcuklarından geliştirilen yeni genotipin ploidi düzeyinin periklinal kimera (2-4-4) olduğu bildirilmiştir (Jun ve ark., 2009).

Victoria üzüm çeşidinin sürgün çelikleri 24 veya 48 saat kolhisin çözeltisinde (%0.05 veya %0.1) bekletildikten sonra kültüre alınmış, kromozom katlama için en iyi sonucun 48 saat %0.05'lik veya 24 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisinde bekletilen üçüncü ve dördüncü boğumlardan elde edildiği, ilk generasyonda hücrelerinin katlanma oranlarının sırasıyla %33 ve %31 olduğu, kimeraların alt kültüre alınmasıyla poliploid hücre oranının yaklaşık %10 arttığı, kimeraların alt kültürde 4. -6. generasyonunda poliploid hücre oranının %75.8 - 96.6 düzeyine ulaşabildiği bildirilmiştir. Kök ucu hücreleri kromozom incelemelerinde kültüre alınan fidelerde kısa süreli aydınlatmanın

kök ucu hücrelerinin bölünme döngüsünde küçük bir etki meydana getirdiği, kromozom gözlemleri için kök uçlarından optimum örnekleme zamanının saat 9.30 olduğunu bildirilmiştir (Chang ve ark., 2010).

'Trakya İlkeren' ve 'Flame Seedless' çeşitlerinde, *in vitro* ve *in vivo* denemeleriyle poliploidinin oluşturulmasına neden olan en uygun kolhisin dozu ile Co60 gama ışını 15, 25, 35 ve 45 Gy dozları denenmiştir. *In vivo* kolhisin uygulamasında sürgün uçları %0.5, %0.75 ve %1'lik kolhisin çözeltisine batırılmış pamuklara sarılarak 1, 3 ve 5 gün; *in vitro* denemelerinde ise mikro çelikler %0.3, %0.6 ve %0.9 dozlarındaki kolhisin çözeltilerinde 1, 3 ve 5 saat süreyle tutulmuşlardır. *In vivo* ve *in vitro* uygulamalarında 45 Gy Co60 dozunun öldürücü etki gösterdiği Gama ışınım dozlarının artışına bağlı olarak gözlerin kabarma, uyanma ve sürme süresinin geciktiği çeliklerde canlılık oranı ED50 değerinin 'Trakya İlkeren'de 23.6- 24.5 Gy; 'Flame Seedless'te 21.7-24.9 Gy arasında olduğu, artan gama ışınım dozlarının her iki çeşitte de yaprak ve kök sayısının azalması, sürgün ve kök uzunluğu azalmasına neden olduğu, 35 Gy Co60'nın yapraklarda küçülme ve dişliliğin kaybolmasına neden olduğu, gama ışın uygulamalarının stoma yoğunluğu, genişliği ve uzunluğu ile kromozom sayısı bakımdan farklılığa neden olmadığı bildirilmiştir. *In vivo* kolhisin denemesinde 'Trakya İlkeren' çeşidinde %1; 'Flame Seedless' çeşidinde %0.75 ve %1 dozlarının sürgün uçlarının tamamının kurumasına neden olduğu saptanmıştır. 'Trakya İlkeren' çeşidinde %0.75'lik dozun 3 ve 5 gün süreyle uygulanmasında ise canlılık oranının %50'nin altına düştüğü; kolhisin uygulama doz ve sürelerindeki artışa bağlı olarak her iki çeşitte de yaprak alanı ve sürgün uzunluğu değerleri ile stoma sayısında azalma; stoma genişliği ve uzunluğunda artış saptandığı; 'Trakya İlkeren' çeşidinde %0.9'luk kolhisinle 3 ve 5 saat; 'Flame Seedless' çeşidinde ise 5 saat süreyle muamele edilen mikro çeliklerin tamamının kuruduğu bildirilmiştir (Ekbiç ve Tangolar, 2010).

'Qiheibao' yeni orta olgunlukta Avrupa-Asya tetraploid üzüm çeşididir. 'Guibao' (diploit) × 'Qiuhong' (diploit) ilk çeşidin melezinden seçilen sonra pomoloji enstitüsü tarafından kolhisinle kromozomu ikiye katlanan bir çeşittir. Salkımları ortalama 437 g ağırlığında, geniş ve konik şekilli, taneleri ortalama 7.13 g ağırlığında siyah mor renkli, tane etine yumuşak, yüksek aromalı ve tatlı, 1-2 iri çekirdekli, oldukça iyi kaliteye sahip, kuru maddesi %23.40, toplam şekeri %19.96 ve toplam asitliği %0.40, şeker / asit oranı 49.9:1 olduğu, Ağustos ortasından sonuna doğru olgunlaştığı, çevreye iyi uyum sağladığı, hastalıklara direnci yüksek olduğu bildirilmiştir (XiaoHe ve ark., 2010).

FC yöntemiyle ‘Campbell Early’ (*Vitis labruscana*) üzüm çeşidi sürgün uçlarından gelişen 3 farklı genç bitkide ploidi seviyesi belirlenmiş, genç bitkilerin farklı ploidi seviyelerinde olduğu, FC analizleri ile 4C DNA tetraploid hücre yapısına sahip ‘Kyoho’ üzüm çeşidinin pik düzeyi 70-80’e ulaşırken 2C DNA diploit hücrelere sahip olan ‘Campbell Early’ üzüm çeşidinde pikin 25-40 civarında tepe noktasına ulaştığını, fakat genç bitkilerin analizlerinde hem 2C hem de 4C çekirdeğe sahip olanların 2 pik’li bir histogram oluşturdukları bildirilmiştir. Diploit (‘Campbell Early’), tetraploid (‘Kyoho’) ve üç genotipin kromozom sayılarını mikroskopla incelemişler ve ‘Campbell Early’ ve ‘Kyoho’ üzüm çeşitleri kromozom sayılarının sırasıyla 38 ve 76 olduğu bildirilmiştir. Üç farklı genotipin miksoploid olduğu ve bunlarda diploit ve tetraploid hücrelerinin karışık bulundukları, ‘Campbell Early’ üzüm çeşidi sürgün ucu kültüründen alınan sürgün uç meristemi mikroskobik gözlemlerde bitki kimera durumunu belirlemede kullanılmıştır. ‘Campbell Early’ (diploit) ve ‘Kyoho’ (tetraploid) üzüm çeşitlerinin hem korpus hücrelerini kaplayan tunika katmanları olduğu belirlenirken hem de 3 farklı yeni genotipin çoğunlukla bölünmede sapma gösteren tunika katmanlarına sahip oldukları bildirilmiştir. ‘Kyoho’ çeşidinden alınan hücrelerin çoğunun ‘Campbell Early’ üzüm çeşidininkinden daha büyük olduğu, üç genotipin L_2 ve L_3 katmalarından alınan hücrelerin ‘Kyoho’ üzüm çeşidinin boyutuyla benzer olduğu belirlenirken L_1 yüzey katmanındaki tüm hücrelerin ‘Campbell Early’ çeşidiyle benzer olduğu belirlenmiştir. FC analizlerinde hem normal hem de poliplod hücrelerin sporları birbirine karışmış ve tetraploid ve diploidlerden oluşan miksoploid bitkiler olduğu belirlenmiştir. Testlerde kullanılan tüm sporların iki farklı L_1 ve L_2 hücre katmanlarıyla periklinal kimera yapısında oldukları ve bu çalışmada ‘Campbell Early’ üzüm çeşidinden alınan üç genotipin de 2-4-4 tipte kimera yapısına sahip olduğunu bildirilmiştir (Noh ve ark., 2010).

Açık tozlanan, kontrollü melezlenen ve seçilmiş anöploid fide kotiledonlarında kotiledon morfolojisi anormal, hypo ve hiper tetraploid fideler gözlenmiştir. 5 tipte morfolojik olarak anormal kotiledonlar belirlenmiştir. Açık tozlanan 4 tetraploid üzümde anormal kotiledon oluşma sıklığı %1.6 (3029 bitkiden 49’u)’, anormal kotiledonlu fideler içerisinde anöploidlerin oranı %20.4 (49 fideden 10’u) olarak belirlenmiş, açık tozlananlarda anöploid fidelerin yapısı 3 (4n=4x-2), 4 (4n=4x-1), 3 (4n=4x+1), karşılıklı tozlanan tetraploidlerde anormal kotiledon sıklığı %3.4 (1729 tohumdan 59’u); anormal kotiledonlu fidelerde anöploidlerin oranı %22 (59 fideden 13’ü); karşılıklı tozlanan tetraploidlerde anöploid fide yapısı 2 (4n=4x-2), 9 (4n=4x-1),

1 (4n=4x+1) ve 1 (4n=4x+3) olarak belirlenmiştir. Tetraploid üzüm çeşitleri arasındaki melezlenmeden elde edilen fidelerde anormal kotiledon görülme oranı %2.3, anöploid fide oluşumunun en yüksek %22 olmasının bu seleksiyon stratejisinin fide döneminde yapılmasının daha etkili olabileceği bildirilmiştir (Park ve ark., 2010).

FC ve mikrosatellit analizleri ile altı önemli İspanyol üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinden somatik embriyogenesisle elde edilen bitkilerin ismine doğruluğu test edilmiştir. 'Merenzao' çeşidi dışında test edilen tüm çeşitlerden somatik embriyogenesis yoluyla tetraploid bitkilerin elde edildiğini, ayrıca 'Albarin˜o' çeşidinden oktoploit bir bitki ve 'Torronte´s' çeşidinden de miksoploit iki bitki elde edildiği bildirilmiştir. Bu ploidi çeşitliliğinin en muhtemel kökeninin de somaklonal varyasyon olduğu bildirilmiştir. 'Brancellao' çeşidinin diğer çeşitlerden önemli derecede daha fazla poliploit (%28.57) olduğu fakat 'Brancellao' çeşidinin ana bitkilerinin analizinde arazide olgun bitkilerin yüzde ellisinin miksoploid olduğu, bu yüzden bu poliploid bitkilerin hem somaklonal varyasyonla hem de somatik embriyogenesis yoluyla genotipik olarak farklı hücre katmanlarının ayrılmasıyla oluşabileceği bildirilmiştir. Alt kültürden üretilen bitkilerin somatik embriyogenesislerin mikrosatellit analizlerinde VVMD5 lokusunda normal olan (237) hariç mutant allel (231) özellik gösteren 'Torronte´s' çeşidinin 6 bitkisi hariç tüm bitkiler gerçek çeşit genotipi gösterdiği bildirilmiştir. Elde edilen mutant bitkilerin gözlemleriyle kallus teşviki için ortam bileşimi, çiçek salkımı gelişim durumu, kültüre başlamak için kullanılan ekplantın türü veya 'Torronte´s' çeşidi hariç test edilen tüm çeşitlerdeki çimlenme tipi arasında bir benzerliğin olmadığı, bu noktada mutant olarak tanımlanan bitkilerin olası fenotipik özelliklerinin etkilerini ileride değerlendirmek için araziye aktarıldığı, bu mutant bitkilerin hem ıslah programları hem de asma biyolojisindeki bilginin artması amacıyla fonksiyonel geneomik yaklaşımlar için kullanılabileceği bildirilmiştir (Prado ve ark., 2010).

Mutasyonlar, DNA dizininde gerçekleşen kalıtsal değişimler olarak tanımlanmakta, *Vitis vinifera* L. çeşitlerinin uzun yıllardır vegetatif çoğaltılan popülasyonlar olması nedeniyle yüksek mutasyon birikimine sahip oldukları kabul edilmektedir. Bağcılıkta mutasyon ıslahı asmalarda önemli bir veya birkaç özelliğin değişiminde etkin rol oynamakta, spontan ve uyarılmış mutasyonların yeni çeşitlerin geliştirilmesindeki önemi vurgulanmıştır (Kunter ve Karataş, 2011).

Tetraploid üzümlerin piyasada iyi karşılandığı, ancak pazarda sınırlı sayıda tetraploid üzüm çeşidi olduğu, bu nedenle, 'Jingxiu' üzüm çeşidinin hücre ve dokuları

üzerine farklı kolhisin konsantrasyonları ve farklı yöntemler uygulandığı, indüksiyonun etkisini belirlemek için FC kullanıldığı, konsantrasyonun etkisinin tek gözlü çeliklerde süresinden daha güçlü olduğu ve en iyi muamelenin 24 saat süreyle %0.3'lük kolhisinden alındığı, karışık kültür yönteminde, işlem süresinin rolü konsantrasyondan daha kuvvetli olduğu ve en iyi muamelenin 30 gün süreyle 2000 mg L^{-1} olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2011).

In vitro'da bazı mitoz bölünmeyi engelleyicilerle kromozom katlanmasının teşvik edilebildiği, en yaygın olarak kullanılanların kolhisin, orizalin ve trifluralin olduğu; *in vitro*'da kromozom katlama süreçlerinin tipik olarak birbirini izleyen alt süreçleri içerdiği, alt süreçlerin, uyarma aşaması ve başarı oranı ölçümünü doğrulama olduğu; uyarma aşamasının çok sayıda değişkene bağlı olduğu; ortam, mitozu önleyen etken, eksplantın tipi, uygulama süresi ve konsantrasyonları olduğu bildirilmiştir. Poliploidi uyarımı değerlendirilmesinde FC'nin en önde gelen metot olduğu, kromozom sayımı ve morfolojik gözlemlerin alternatif doğrulama yöntemleri olduğu, poliploidizasyonun bitki büyüme ve gelişmesinde, kromozom katlanmasında, yıllardır yoğun olarak çalışıldığı ve bitki ıslahında birçok uygulamaları olduğu bildirilmiştir (Dhooghe ve ark. (2011a).

'Venus Seedless' üzüm çeşidinde kolhisin ile uygulamasıyla elde edilen bireylerden boğum arası kısa olan (3-2D-05) mutant birey keşfedilmiştir. 'Venüs Seedless' ve '3-2D-05' bitkilerinin yeni gelişen sürgünlerinden materyal olarak sap, sürgün ucu ve genç yapraklar alınmıştır. İçsel giberellin (GA_3), Indol Asetik Asit (IAA) ve Absisik Asit (ABA) miktarı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yaprakların ploidi seviyesi FC yöntemi ile test edilmiştir. RAPD ve SSR yöntemleri 'Venus Seedless' ve '3-2D-05' üzüm çeşit ve mutantının moleküler seviyesini belirlemek için kullanılmıştır. '3-2D-05' mutant üzüm çeşidinin sürgün ucu, genç yaprak ve yaprak sapı GA_3, IAA ve ABA oranlarının 'Venus Seedless' çeşidine göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Ploidi analizinde kromozomların ploidi seviyeleri arasında fark olmadığı, PCR sonuçlarına göre DNA dizilimlerinde de çok az fark olduğu ve genetik geçmişlerinde yüksek tutarlılık olduğu tespit edilmiştir. Kolhisin ile kromozom katlama olmaksızın kısa boğum varyasyonu üretiminin içsel hormon içeriklerini düzenleyen genlerle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Kısa boğumlu mutant yeni çeşidin kolhisin uyarımı ile meydana gelen gen mutasyonu sonucunda elde edildiği tespit edilmiştir (Wu ve ark., 2011).

Triploid üzüm çeşidi ıslahı amacıyla, ‘Ruby Seedless’ (*Vitis vinifera*) × ‘Fujiminori’ (*V. vinifera* x *V. labrusca*), ‘Dawn Seedless’ (*V. vinifera*) x ‘Fujiminor’ (*V. vinifera* x *V. labrusca*), ‘Emerald Seedless’ (*V. vinifera*) x ‘Black Olimpia’ (*V. vinifera* x *V. labrusca*), ‘Fujiminori’ x ‘Beichun’ (*V. vinifera* x *V. amurensis*) and ‘Black Olimpia’ x ‘Beichun’ uygulanmış ve embriyo kurtarma teknikleri kullanılmış, 41 melez fide elde edilmiştir. Bu melezlerin kromozom ploidi düzeyleri FC ile belirlenmiş, melezlerin 10 triploid, 6 tetraploid, 4 anöploid ve 21 diploit bitkiden oluştuğu, triploid çeşitler ve çoğaltma materyalinin daha fazla çoğaltılmasında kullanılacağı bildirilmiştir (Shi ve ark., 2012).

Geleneksel melezleme ıslahını kimyasal kaynaklı varyasyon ile birleştiren bir strateji kullanılarak bir dizi yeni polipoid üzüm çeşidi ıslah edilmiştir. Bu stratejide, çimlendirilmiş diploit melez üzüm çekirdekleri gündüz 25 ºC, gece 20 ºC'de 48-72 saat süreyle %0.6’lık kolhisinle muamele edilip araziye ekilmiş; melez fideler önce morfolojik ve ardından L_1 ve L_2 katmanlarından meristematik hücrelerin ploidi yapısını doğrulamak için analiz edilmiştir. Kök uçlarından kromozom sayımı sonuçlarına göre nesiller 2n = 4x = 76, ebeveynleri ise 2n = 2x = 38'dir. Bekçi hücreleri, polen, stomaların boyut ve şekilleri ve kloroplastların sayısı analiz edilerek bu üzüm çeşidinin tetraploid olduğu sonucuna varılmıştır. Bu strateji kullanılarak Ağustos başında, Ağustos sonlarında ve Eylül sonunda olgunlaşan hepsi siyah mor renkte 'Zaoheibao', 'Qiuheibao' ve 'Wanheibao' olarak adlandırılan üç tetraploid çeşit oluşturmuş; 'Muscat’, çeşidnin çevreye uyumunun iyi ve hastalık direncinin yüksek oldu tespit edilmiştir (Ma ve ark., 2014).

In vitro’da poliploidi verimliliği çeşitli değişkenler ve antimikrotübül ajanların bu değişkenlerle interaksiyonuna bağlı olduğu, en iyi uygulama ortamının belirlemesi ‘Crimson Seedless’, ‘BRS Clara’ çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin somatik embriyoları ve sürgün uçları kolhisin ve orizalin ile muamele edilerek çalışılmıştır. Artan orizalin konsantrasyonu ve uygulama süresi ile organogenesis ve somatik embriyolardan elde edilen rejenere canlı bitki sayılarında doğrusal azalma; her iki bitki eksplant tipinde kolhisin etkileri ikincil olarak belirlenmiştir. Kolhisin ve orizalin ile kromozom katlama uygulamalarında en yüksek oranda hayatta kalan bitki her iki çeşitte de sürgün ucu ve somatik embriyolardan elde edilmiş; bu yöntem kimerik olmayan autotetraploid bitkilerin her iki çeşitte de %30’dan fazla olmasını sağladığı; stoma ölçümlerinin rejenere olan bitkilerde ilk ploidi taramasında istatistiksel olarak korelasyon gösterdiği;

yapılan çalışmanın orizalinle kromozom katlama matematiksel modellemesinde ilk rapor olduğu bildirilmiştir (Sinski ve ark., 2014).

Kimyasalla uyarılmış mutasyonla geleneksel melezleme ıslahının kombinasyonu yeni bir ıslah stratejisi olarak tanımlanmış olup 'Guibao', 'Guibao' x 'Zaomeigui', 'Guibao' x 'Fenghuang 51' ve 'Guibao' x 'Jingfeng' üzüm çeşitleri melezlerinin çimlenmiş diploit tohumları, iki sıcaklık derecesinde (gündüz 25 ºC, gece 20 ºC) kolhisinle muamele edilmiştir. Muameleden sonra fideler araziye dikilmiş, ilk önce morfolojik olarak incelenmiş, kromozom sayımını takiben ploidi düzeylerini kontrol edilmek üzere sürgün uçları meristematik hücrelerinden kesitler alınarak L_1, L_2 ve L_3 tabakalarının ploidi düzeyleri incelenmiştir. Bu yöntemin, yeni bir çeşidin seçilmesine yön veren seçici ıslahı için bir temel olabileceği; melezleme ıslahıyla üretilen farklı genotiplerde çoklu ıslah gruplarının seçilmesinde, kimyasal mutasyonla kromozom katlanmasıyla oluşan poliploid yeni çeşitler geliştirmede kullanılabileceği; bu metodun vegetatif uyarımla mutasyon sağlamaya yönelik poliploid ıslahında karşılaşılan, popülasyondan seçimi zorlaştıran bir seferde yalnızca bir genin katlanılması engelinin aşılmasında kullanılabileceği; yine bu yöntemin heterosisin kullanımı ve poliploidinin biyolojik etkisini daha fazla açığa çıkaran çekirdek teknoloji yeniliği ve entegrasyonunu başarabileceği; aynı zamanda daha iri taneli üzüm ıslah etkinliğinin artırılması ve kalite yaklaşımı alanlarında yeni bir ıslah stratejisi olarak genişleyebileceği; erken olgunlaşan tetraploid Avrasya çeşidi 'Zaoheibao' (ploidi yapısal tipi 4-4-4) ıslahında başarıyla uygulanabileceği bildirilmiştir (Chen ve ark., 2014b).

In vitro kromozom katlama teknikleri sofralık üzümleri de içine alan çeşitli türlerde kullanılmakla birlikte şaraplık üzümlerde kullanımı sınırlıdır. Şaraplık üzüm çeşidi 'Mencia' çeşidinin süspansiyon kültüründe gelişen embriyonik hücre kümelerinde kolhisin uyarımı ile tetraploidinin uyarıldığı etkin bir prosedür geliştirilmiştir. Kolhisin uygulamaları, kallus kümelerinin embriyonik potansiyeli ve yaşama oranını önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir. Kolhisinle muamele edilmeyen bitkiler kromozom sayılarını korurken kolhisin ile muamele edilen bitkilerin ploidi seviyeleri yüksek oranda varyasyon gösterdiği, %0.2'lik kolhisinin tetraploid bitki eldesinde (%25) en etkili doz olduğu; kimerik ya da miksoploid bitkilere rastlanılmadığı; asma somatik embriyoları hücre orijininin kimerik bitki oluşmasını engellediği; kullanılan protokolün asma genetik çeşitliliği artışına izin verdiği ve ürün geliştirmek için değerli bir araç olabileceği bildirilmiştir (Acanda ve ark., 2015).

Asma anacı 101- 14 Millardet et de Grasset (*Vitis riparia* x *Vitis rupestris*) (101-14 Mgt) (2n = 2x = 38) x *Muscadinia rotundifolia cv. Trayshed* (2n = 2x = 40) melezlerinde *in vitro'*da tetraploidi uyarılması için bir protokol oluşturmaya çalışılmış; farklı eksplant materyalleri, mitozu önleyici kimyasallardan kolhisin ve orizalinin 3 farklı dozu ile 24, 48 ve 72 saat süreyle muamele edilmiş; uygulama yapılan materyalde *in vitro* sürgün uçları, anterler ve pre-embriyonik kültürlerde rejenerasyon sağlandıktan sonra bitkilerin ploidi seviyeleri kromozom sayımları FC yöntemiyle doğrulanmıştır. Asma bitkilerinde genel olarak yaprak anatomik özeliklerinin (stoma boyutu ve sayıları, bekçi hücrelerdeki kloroplast sayıları) ploidi seviyesi ile korelasyon gösterdiği dikkate alınmıştır. Güvenilir işaretleyicilerle stabil hale getirilmiş stoma bekçi hücrelerinde kloroplast sayımı kolaylıkla yapılırken kromozom sayımlarının ve FC ölçümlerinin yoğun iş gücü ve zorluklar içerdiği; stoma sayılarının diploit ve tetraploid bitkilerde farklılık gösterdiği bunun için ilk karşılaştırma yöntemi olarak stoma sayımının kullanılması, bunu takiben kromozom sayımı ve FC'inin kullanılması önerilmiştir. Tetraploidinin elde edilmesinde kolay ve etkili bir metot geliştirmek için potansiyel fertil *Vitis* x *Muscadinia* hibritlerinin anaç ıslahında kullanılması önerilmiştir (Xie ve ark., 2015a).

'Trakya İlkeren' ve 'Flame Seedless' çeşitlerinde, *in vivo*'da poliploidi oluşturulması için en uygun kolhisin dozu, uygulama süresi ve şeklinin tespiti için sürgün uçları 0.5, 0.75 ve %1'lik kolhisin çözeltisine batırılmış pamuklara sarılarak 1, 3 ve 5 gün süreyle tutulmuş; *in vivo* kolhisin denemesinde 'Trakya İlkeren' çeşidinde %1; 'Flame Seedless' çeşidinde ise %0.75 ve %1 kolhisin dozları sürgün uçlarının tamamının kurumasına neden olduğu; iki çeşitte de uygulama yapılan sürgünlerde canlı sürgün ucu oranının %0.5'lik kolhisinin 1 ve 3 gün süreyle uygulanmasından elde edildiği; 'Trakya İlkeren' çeşidinde %0.75'lik dozun 3 ve 5 gün süreyle uygulanmasında canlılık oranının %50'nin altına düştüğü, kolhisin uygulama doz ve sürelerinin artışına bağlı olarak her iki çeşitte de yaprak alanı ve sürgün uzunluğu değerlerinde ve stoma sayısında azalma, stoma genişliği ve uzunluğunda artış saptandığı tespit edilmiştir (Ekbiç ve Tangolar, 2016).

Kalecik Karası, Sultani Çekirdeksiz ve Uslu üzüm çeşitlerinde mutasyon ıslahına yönelik iyonize radyasyon uygulamalarından elde edilen kimerik genotiplerinde, stoma yoğunluğu, büyüklüğü ve yapısal özellikleri yaprak alt yüzeyinden kalıp çıkartılarak; stoma yapıları da mikro teknikle incelenmiş, iyonize radyasyon dozlarının stoma yoğunluğu ve büyüklüğü üzerindeki etkisi önemli

bulunmuştur. Buna göre Kalecik Karası kontrol bitkilerinde 194.70 adet μm^{-2} olan stoma yoğunluğu, kimerik genotiplerde 158.64-115.38 adet μm^{-2} arasında değişmiştir. Sultani Çekirdeksiz kontrol bitkilerinde 223.54 adet μm^{-2} olarak belirlenen stoma yoğunluğu, kimerik bitkilerde 209.12-151.43 adet μm^{-2} arasında olduğu; Kontroldeki en yoğun stoma sayısının (227.15 adet μm^{-2}) Uslu üzüm çeşidinde, kimerik bitkilerde stoma yoğunluğunun 201.91-151.43 adet μm^{-2} arasında değiştiği; iyonize radyasyon uygulamalarının tüm dozlarda stoma büyüklüğünü (boy/en) artırdığı, en büyük stomaların Sultani Çekirdeksiz kimerik bitkilerinde (25 Gy: 29.96/15.84 µm ve 20 Gy: 27.95/23.97 µm) gözlendiği; epidermis dokusunda stoma yerleşiminin farklı olduğu; kimerik bitkilerde genel olarak stomaların epidermise gömülü halde olduğu saptanmıştır (Kunter ve ark., 2016).

41B anacı tek göz çeliklerini serada köklendirilip hızlı büyümeye geçtikleri dönemin hemen başında farklı süre (24, 48, 72 ve 96 saat) ve dozlarda (%0.1, %0.3, %0.5, %0.7, %0.9 ve %1.1) kolhisin uygulamalarının ploidiye etkilerini incelenmişlerdir. Kolhisinin doz ve uygulama sürelerine göre morfolojik değişikliklere neden olduğu; stoma boyu, genişliği ve alanında artış ve stoma sayısında azalma tespit etmekle birlikte flow sitometri (FC) analizlerinde sitolojik değişiklik tespit edilemediğini, 41B asma anacında kolhisinle polyploidi teşvikine yönelik tam mutason frekansının 1/240'den daha düşük olduğunu, kolhisinle muamele edilmiş materyalde tespit edilen önemli morfolojik farklılıklar ve FC analizlerindeki sınırlı varyasyon nedeniyle materyalin sonraki sürecinin takibi için araziye aktarılarak izlendiğini bildirmişlerdir (Kara ve ark., 2017).

Yapılan bir çalışmada, *Digitalis trojana* Ivanina türüne ait dolaylı sürgün organogenezis ile üretilen bitkilerin genetik kararlılığı FC ve sitolojik analizler ile değerlendirilmiştir. İlk aşamada yaprak eksplantları 3 mg L^{-1} BA + 0,1 mg L^{-1} NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Bu ortamda dolaylı organogenez yoluyla oluşan sürgünler 2 haftada bir altkültüre alınarak çoğaltılmıştır. Bitkiler % 0.1 aktif karbon içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir. Üretilen bitkilerin genetik kararlılığı FC ve sitolojik analizler ile tohumdan yetiştirilen *D. trojana* bitki örnekleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. FC analizinde, *in vitro* üretilen bitki örneklerinin DNA içeriği 2.80±0.03 piko gram, tohumdan yetiştirilen bitki örneklerinin DNA içeriği ise 2.80±0.1 piko gram olarak belirlenmiştir. Bitkinin mikroskop ile yapılan mitoz bölünme döneminde kromozomu sayımlarında kromozom sayısının 56 olduğu ve *in*

vitro üretilen bitkilerin kromozom sayısında bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (Çördük ve ark., 2017).

Zhou ve ark. (2017), Cassava'da *in vitro* koşullarında kolhisin kullanarak poliploidi'ye etkileri incelenmiş, kolhisin doz artışı ile canlılık oranında azalma belirlenmiştir. Tetraploid bitki eldesi için en iyi 0.05 g L^{-1} kolhisin dozunun 2 gün süreyle uygulanamsı olduğu, 44 bitkiden 28 ototetraploidi bitki ve 12 mikroploid fide elde edildiği; bitkilerin %90.9'unun varyant olduğu, diploid ve tetraploid bitkiler arasında morfoloji ve anatomik belirgin farklılıklar bulunduğu; tetraploid bitkilerin fotosentez kapasitelerinin orijinal diploidlerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yavaş (2017), ülkemiz koşullarında kışlık sebze olarak performanslarının belirlenmesi için yurt içi ve yurt dışından elde edilmiş olan 53 ıspanak (*Spinacia olercea* L.) aksesyonunun FC ile ploidi düzeylerini incelemiş, çekirdek DNA içerikleri arasında istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) farklar olduğu, ortalama çekirdek DNA içeriğinin 2.225 pg/2C ile 2.059 pg/2C arasında değiştiği belirlenmiştir. Ispanağın çekirdek DNA analiz sonuçlarına göre çalışılan tüm ıspanak aksesyonlarının aynı ploidi seviyesine sahip olduğu, çekirdek DNA içeriği bakımından farklılık gösteren bazı bitkilerin kromozom sayılarının 2n=12 olarak saptandığı, diploid oldukları belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Deneme 2016-2017 dönemlerinde Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında yürütülmüştür. Uygulamada şaraplık, sofralık, şıralık ve yaprakları için üretilen 'Narince' üzüm çeşidi (*Vitis vinifera* L.) kullanılmıştır. Çalışmada açık arazi koşullarında, 12 yaşlı omcalar ile ısıtmalı cam serada köklendirme tavalarında köklendirilmiş tek gözlü çelikler kullanılmış olup bunlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması yapılmıştır. Uygulamaların morfolojik etkileri Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Laboratuvarlarında Flow sitometri (FC) yöntemi ile sitolojik analiz de Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1. Materyal

Denemede materyal olarak Narince çeşidinin tek gözlü odun çelikleri ile koltuk tomurcuklar kullanılmıştır.

3.1.1. Narince

Denemede bitkisel materyal olarak Tokat yöresinin en önemli çeşidi olan 'Narince' *(Vitis vinifera* L.*)* üzüm çeşidi kullanılmıştır. Tokat ve Amasya yöresinde bağların %80-90 'Narince' üzüm çeşidinden kurulmuştur. 'Narince' kaliteli beyaz şıralık-şaraplık özelliğe sahip verimli yerli bir çeşittir, kısa veya karışık budanır, taneleri 2-3 çekirdekli, beyaz renkli, orta kalın kabukludur. Salkım şekli konik, salkımları orta büyüklükte, kanatlı ve sık tanelidir. Yaprakları taze veya salamuraya işlendikten sonra tüketim amacıyla çok tercih edilmektedir. Üretim bölgesinde bazı bağlarda üzümünden daha ziyade yaprağı için yetiştiricilik yapılmaktadır (Ağaoğlu ve ark., 1988; Kara ve Ağaoğlu, 1990).

3.1.2. Gliserin

İlk olarak 1779 yılında Scheele tarafından keşfedilmiş, 1,2,3 propantriol, kapalı formülü $C_3H_8O_3$, şurup kıvamında, renksiz tatlı bir sıvı olup 290 °C'de kaynar ve -17

°C'de donar, 265 g cm^{-3} yoğunluğundadır. Metanol, etanol ve suda her oranda çözünür. Benzen ve eterde çözünmez. Gliserin bütün hayvansal ve bitkisel yağlarda ortak yapı taşı olarak, çoğunlukla yağ asitleri ile esterleşmiş halde trigliserid formunda bulunmaktadır (Kirk ve Othmer, 1980; Agarwal, 1990; Kayahan, 1998).

3.1.3. Kolhisin

Kolhisin ($C_{22}H_{25}O_6$) *Colchicum automnale* L. isimli güz çiğdemi bitkisinin köklerinden elde edilen alkoloid yapısında ve kuvvetli bir zehir olup renksiz, alkol, kloroform ve soğuk suda erir, sıcak suda ve eterde erimez (Genç ve Yağbasanlar, 1993). Kolhisin uygulanan dokuların hücrelerinde mitoz bölünmenin metafaz safhasında iğ ipliklerin oluşumunu engeller ve replikasyona uğramış kromozomların kutuplara çekilmesini önleyerek, kromozom sayısının iki katına çıkması sağlar (Köksal, 1999; Ekbiç ve Tangolar, 2016)

3.2. Metot

3.2.1. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamaları

'Narince' asma çeşidine açık alanda omca üzerinde yazlık sürgünler 7-10 cm boya eriştiklerinde koltuk tomurcuklarına %5'lik gliserin içerisinde %0.25, %0.50, %0.75 ve %1 kolhisin dozları emdirilmiş pamuk yerleştirilmiş ve üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır ve diğer bir gurup sürgün uçları açık bırakılmıştır. 48 ve 96 saat sürelerle uygulama yapılmıştır. Kontrol uygulamasında ise saf su emdirilmiş pamuklar sürgün ucuna sarılarak alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Bu uygulamalarda kolhisin emdirilen pamuklar günlük olarak değiştirilmiştir. Bitkilere kolhisin uygulaması sabah saatlerinde yapılmıştır. Uygulamayı takiben uygulama bittikten sonra gözler saf su ile 3'er defa yıkanmıştır. Uygulama sonrası; yaşayan bitki sayısına, kimyasaldan etkilenen ve etkilenmeyen bitki sayılarına bakılmıştır. Kolhisin uygulanan sürgünlerde uç alma, tepe alma gibi kesim işlemleri yapılmamıştır (Ekbiç ve Tangolar, 2016). Uygulamalar 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 adet sürgün olacak şekilde yapılmıştır.



Şekil 3.1 Arazi koşullarında kolhisin uygulama dönemi

3.2.2. Tek göz çeliklerine kolhisin uygulamaları

'Narince' asma çeşidinden alınan tek göz çelikleri sera içerisindeki Mart'ta tavalara dikilmiş ve kışlık gözler patladıktan hemen sonra oluşan sürgün uçlarına %5'lik gliserin içerisinde %0.25, %0.50, %0.75 ve %1 kolhisin dozları emdirilmiş pamuk yerleştirilmiş ve üzeri alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Diğer bir gurup sürgün uçları açık bırakılmıştır. 48 ve 96 saat sürelerle uygulama yapılmıştır. Kontrol uygulamasında ise saf su emdirilmiş pamuklar sürgün ucuna sarılarak alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Bu uygulamalarda kolhisin emdirilen pamuklar günlük olarak değiştirilmiştir. Bitkilere kolhisin uygulaması sabah saatlerinde yapılmıştır. Uygulamayı takiben gözler saf su ile 3'er defa yıkanmıştır. Uygulama sonrası; yaşayan bitki sayısına, kimyasaldan etkilenen ve etkilenmeyen bitki sayılarına bakılmıştır. Kolhisin uygulanan sürgünlerde uç alma, tepe alma gibi kesim işlemleri yapılmamıştır (Ekbiç ve Tangolar, 2016). Uygulamalar 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 adet tek göz çeliği olacak şekilde yapılmıştır.



Şekil 3.2 Serada sürgün uçlarına pamukla kolhisin uygulaması

3.3. Yapılan Ölçüm ve Analizler

3.3.1. Sürgün ucu canlılık oranı (%)

Uygulanan dozlardaki tüm bitkilerin, canlılığına devam eden sürgün ucu sayısının toplam sürgün ucu sayısına oranlanması ile elde edilmiştir (Kara ve ark., 2017).



Şekil 3.3. Sürgün ucunda uygulama sonrasında gelişmede gerileme

3.3.2. Sürgün uzunluğu (cm)

Çalışmada *in vivo* kolhisin uygulamalarındaki bitkilerde, daha önceden uygulama yeri işaretlenmiştir, vejetasyon dönemin sonunda şerit metre ile işaretlenen yerin üzerinden 'cm' cinsinden ölçülmüştür (Kara ve ark., 2017).

3.3.3. Stomaların tırnak cilası ile kalıba dökülmesi

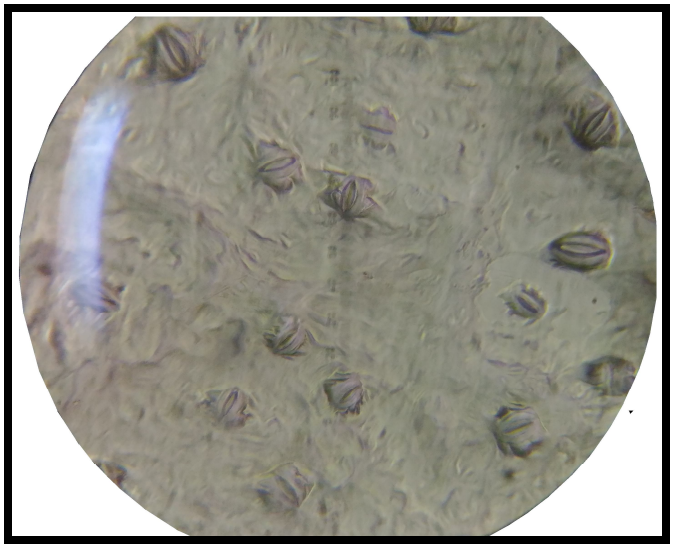
Açık alanda omca üzerinde yazlık sürgünlerinin 5.-8. ve sera içerisindeki tek göz çeliklerinden meydana gelen sürgünlerin 2.-4. boğumlarından alınan yaprak örneklerine şeffaf tırnak cilası sürüldükten sonra kuruması beklenmiş ve daha sonra yapışkan asetat ile yaprağın alt epidermisin 3 ayrı bölgesinden (Şekil 3.5) kalıba dökülen olgun yaprak stoma örneklerinin boyutları binoküler (10 x 40 büyüteli) mikroskop altında incelenmiştir. Stoma ölçümleri her yaprak örneğinde 3 tekrarlamalı ve 3 stoma uzunluğu ölçülerek toplam 9 stomanın özelliği bir tekerrür olarak kaydedilmiştir.

3.3.3.1. Stoma sayısı (adet μm^{-2})

'Tırnak cilası yardımıyla kalıp çıkarma yönteminde'; 'Flormar' marka cila, yaprakların uç dilimlerinin alt yüzeylerine tek kat halinde sürülmüş ve 8–10 dakika süreyle kuruması beklenildikten sonra, yapışkan asetat kullanılarak stoma kalıpları çıkartılmıştır. Stoma kalıpları laboratuvar ortamında lam üzerine yerleştirilmiş, 10x40 büyütmeli bir ışık mikroskobunda, 0,066 μm^2'lik görüş alanından stomalar netleştirilmiştir. Elde edilen stoma kalıplarında; stoma yoğunluğu (adet mm^{-2}) parametreleri incelenmiştir. Her yapraktan 3 farklı alandan stoma örnekleri alınmıştır (Dardeniz, 2016).

3.3.3.2. Stoma genişliği ve uzunluğu (µm)

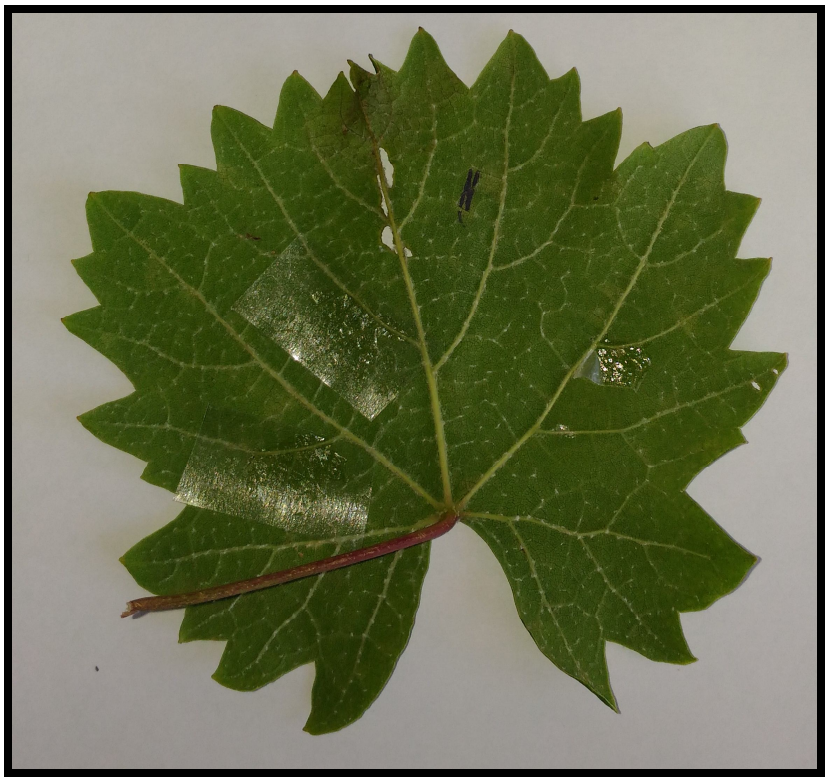
In vivo koşullarda elde dilen ploid ve kontrol bitkilerin yapraklarında alt epidermis sıyrılıp lamel üzerine yerleştirilen örneklerde stoma genişliği ve uzunluğu, 40 kat büyütmeli objektif ve 10 kat büyütmeli oküler mikro metre ile yaprağın üç farklı bölgesi için 3'er okuma yapılarak gerçekleştirilmiştir. Alınan değerler 2.5 ile çarparak ham değer katsayısına dönüştürülmüştür.



Şekil 3.4 Binoküler mikroskop (x 40) altında incelenen stomalar

3.3.3.3. Stoma alanı (μm^{-2})

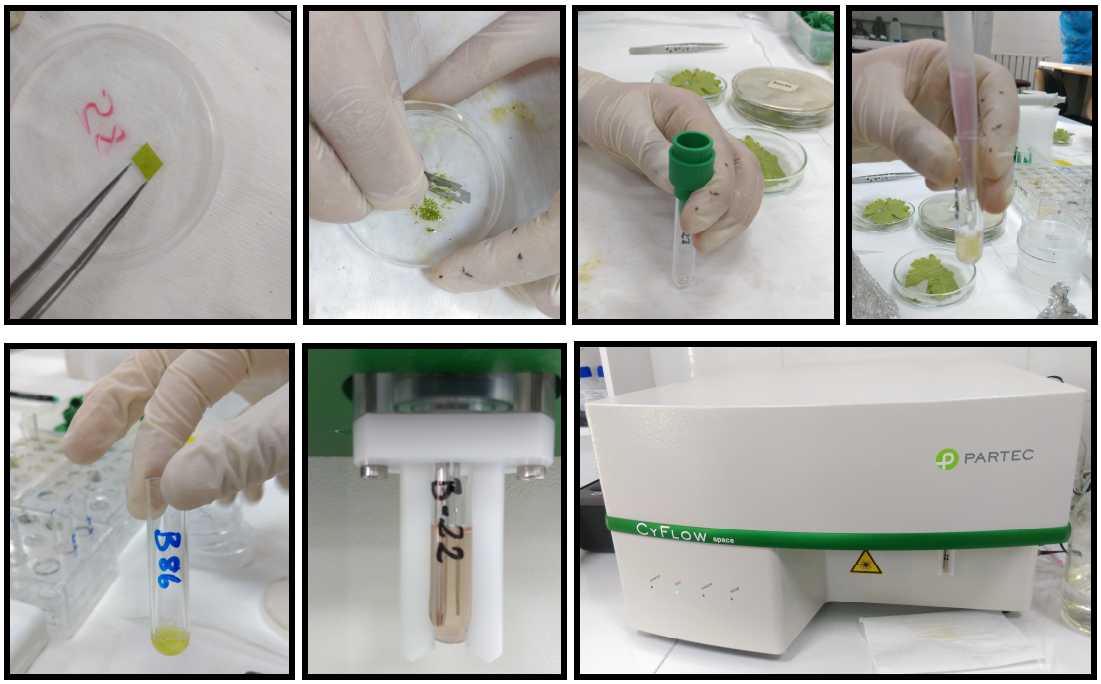
In vivo koşullarda uygulama yapılan ve kontrol bitkilerin yapraklarının alt epidermisinden sıyrılıp lamel üzerine yerleştirilen örneklerde stoma genişliği ve uzunluğu incelenmiştir. 40 büyütmeli objektif ve 10 büyütmeli oküler mikro metre ile yaprağın üç farklı bölgesi için 3'er okuma yapıldıktan sonra stoma genişliği ve uzunluğunun çarpımı ile bulunmuştur (Kara ve ark., 2017).



Şekil 3.5 yaprak örneklerinde stomaların tırnak cilası ile kalıba dökülmesi

3.3.4. FC ile ploidi analizi

Genç (3-4 haftalık) ve sağlıklı bitkilerden taze yaprak dokusu alınarak, yaklaşık olarak 0.5 cm^2 büyüklüğünde petri kabına yerleştirilmiş ve 500 µl izolasyon buffer ilave edilmiştir. Yaprak dokusu keskin jilet ile 30-60 saniye süresince küçük parçalara ayrılana kadar parçalanmıştır. Bu şekilde hazırlanan örnekler petri kabı içerisinde 10-15 saniye çalkalanmıştır. Bu işlemden sonra 30-90 saniye kadar petri kabında bekletilen filtre ile süzülerek tüp içerisine transfer edilmiştir. Tüp içerisine daha önce hazırlanmış 2 ml boyama solüsyonu ilave edilerek ışıksız bir ortamda 30-60 dakika inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda örnekler FC cihazı kullanılarak analiz edilmiştir (Tuna, 2014).



Şekil 3.6 FC analizleri ve analiz için örnek hazırlama aşamaları

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Arazi ve Sera Koşullarında Yapılan Kolhisin Uygulamaların Sonuçları

4.1.1. Sürgün canlılık oranı (%)

'Narince' çeşidinde, 2016 vejetasyon döneminde yazlık sürgünlerin 7-10 cm oldukları dönemde farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları sonrasında kapatma ve açık bırakma uygulamalarının sürgünlerin canlılık oranları (%) üzerine etkileri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de sunulmuştur.

Açık arazi koşullarında omca üzerinde 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılan materyalde sürgün ucu canlılık değerleri %0.25'lik ve %0.50'lik uygulamalarda %87 ± 0.30 olarak kaydedilirken %1'lik kolhisin uygulananların tamamı kurumuştur.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar için sırasıyla, 100, 60, 67, 33, 0.00 olarak kaydedilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile 4 tekrarlamalı toplam 96 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılanlarda sürgün ucu canlılığı sırasıyla 100, 80, 67, 33 ve 0 olarak belirlenmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile 4 tekrarlamalı toplam 96 saat süreli ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda sürgün ucu canlılığı sırasıyla 100, 67, 60, 33 ve 0 olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyallerdeki sürgün ucu canlılığı sırasıyla 100, 73, 93, 67 ve 80olarak tespit edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile iki tekrarlamalı toplam 48 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki sürgün ucu canlılığı sırasıyla 100, 67, 60, 80 ve 67 olarak belirlenmiştir.

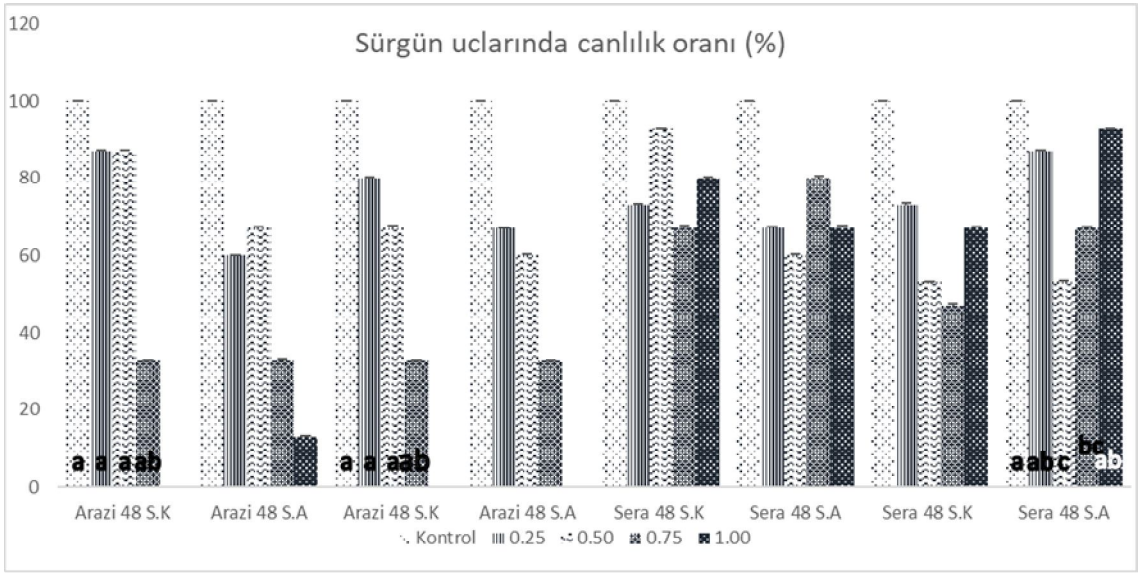
Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile 4 tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 96 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyaldeki sürgün ucu canlılığı sırasıyla 100, 73, 53, 47 ve 67 olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile 4 tekrarlamalı toplam 96 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki sürgün ucu canlılığı sırasıyla 100, 87, 53, 67 ve 93 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının sürgün canlılık oranına (%) etkileri

Açık alanda omca üzerindeki uygulamalar				
Kolhisin dozları	48 Saat kapalı	48 Saat açık	96 Saat kapalı	96 Saat açık
Kontrol	100 ± 0 a	100 ± 0	100 ± 0 a	100 ± 0 a
0.25	87 ±3.00 a	60 ± 1.50	80 ± 3.30 a	67 ± 3.70 ab
0.50	87 ± 3.00 a	67 ± 3.00	67 ± 5.20 a	60 ± 4.50 ab
0.75	33 ± 0.58 ab	33 ± 0.58	33 ± 0.58 ab	33 ± 0.58 ab
1	- *	13 ± 1.80	- *	- *
Aöf %5	0.51	öd	0.54	öd
Serada tek gözlü çeliklere yapılan uygulamalar				
Kontrol	100 ± 0	100 ± 0 a	100 ± 0	100 ± 0 a
0.25	73 ± 3.30	67 ± 4.80	73 ± 3.70	87 ± 3.00 ab
0.50	93 ± 1.50	60 ± 4.50	53 ± 1.80	53 ± 4.80 c
0.75	67 ± 5.20	80 ± 4.50	47 ± 4.80	67 ± 3.70 bc
1	80 ± 3.30	67 ± 5.20	67 ± 4.80	93 ± 1.50 ab
Aöf %5	öd	öd	öd	0.290

∗: Sürgün uçlarının tümü kuruduğundan veri alınamamıştır.



Şekil 4.1. Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının sürgün ucu canlılık oranlarına etkileri. Uygulamalar arasındaki önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

4.1.2. Sürgün uzunluğu (cm)

'Narince' çeşidinde, 2016 vejetasyon döneminde yazlık sürgünlerin 7-10 cm oldukları dönemde farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları sonrasında kapatma ve açık bırakma uygulamalarının sürgünlerinin uzunluğu (cm) üzerine etkileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar şeklinde uygulanmıştır. Materyallerdeki sürgün uzunlukları sırasıyla 45.20, 38.48, 27.92, 23.60 ve 0 olarak tespit edilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar için sırasıyla, 45.20, 30.03, 29.00, 19.00 ve 16.93 olarak kaydedilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılanlarda sürgün uzunluğu sırasıyla 45.20, 34.76, 34.47, 11.67 ve 0 olarak belirlenmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda sürgün uzunluğu sırasıyla 45.20, 19.47, 23.40, 20.73 ve 0 olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyallerdeki sürgün uzunluğu sırasıyla 9.07, 7.43, 10.28, 9.78 ve 10.42 olarak tespit edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile iki tekrarlamalı toplam 48 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyallerdeki sürgün uzunluğu sırasıyla 9.07, 7.83, 6.92, 6.92 ve 9.17 olarak belirlenmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile dört tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 96 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış

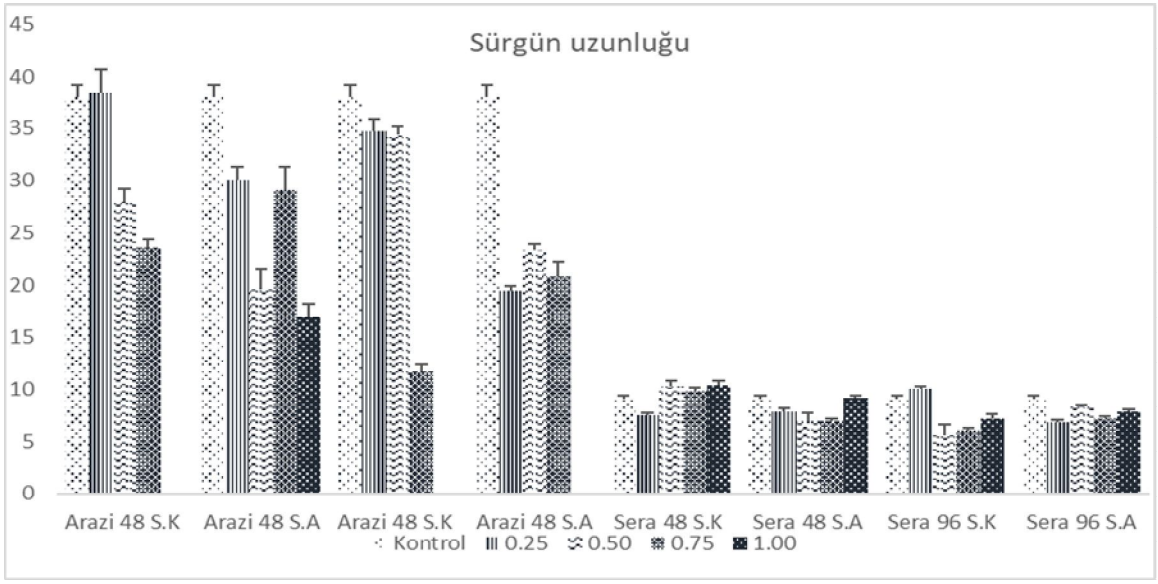
materyaldeki sürgün uzunluğu sırasıyla 9.07, 10.04, 5.60, 6.00 ve 7.18 olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyallerdeki sürgün uzunluğu sırasıyla 9.07, 6.83, 8.50, 7.18 ve 7.75 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının sürgün uzunluğu (cm) etkileri

Açık alanda omca üzerindeki uygulamalar				
Kolhisin dozları	48 Saat kapalı	48 Saat açık	96 Saat kapalı	96 Saat açık
Kontrol	45.20 ± 1.26	45.20 ± 1.26	45.20 ± 1.26	45.20 ± 1.26
0.25	38.48 ± 2.20	30.03 ± 1.27	34.76 ± 1.16	19.47 ± 0.45
0.50	27.92 ± 1.23	19.60 ± 1.96	34.47 ± 0.70	23.40 ± 0.48
0.75	23.60 ± 0.75	29.00 ± 2.26	11.67 ± 0.75	20.73 ± 1.46
1	- *	16.93 ±1.30	- *	- *
Aöf %5	öd	öd	öd	öd
Serada tek gözlü çeliklere yapılan uygulamalar				
Kontrol	9.07 ± 0.31	9.07 ± 0.31	9.07 ± 0.31	9.07 ± 0.31
0.25	7.43 ± 0.28	7.83 ± 0.26	10.04 ± 0.21	6.83 ± 0.19
0.50	10.28 ± 0.49	6.92 ± 0.75	5.60 ± 0.94	8.50 ± 0.17
0.75	9.78 ± 0.33	6.92 ± 0.17	6.00 ± 0.25	7.18 ± 0.18
1	10.42 ± 0.39	9.17 ± 0.25	7.18 ± 0.42	7.75 ± 0.24
Aöf %5	öd	öd	öd	öd

∗: Sürgün uçlarının tümü kuruduğundan veri alınamamıştır.



Şekil 4.2 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının sürgün uzunluğu (cm) etkileri. Uygulamalar arasındaki önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

4.1.3. Stoma yoğunluğu (adet μm^{-2})

'Narince' çeşidinde, 2016 vejetasyon döneminde yazlık sürgünlerin 7-10 cm oldukları dönemde farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları sonrasında kapatma ve açık bırakma uygulamalarının stoma yoğunluğu (adet μm^{-2}) üzerine etkileri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3'de sunulmuştur.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar şeklinde uygulanmıştır. Materyallerdeki stoma yoğunluğu sırasıyla 294.80, 225.61, 268.69, 274.70 ve 0 adet μm^{-2} olarak tespit edilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar için sırasıyla, 294.80, 282.42, 273.23, 254.55 ve 209.55 adet μm^{-2} olarak kaydedilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılanlarda stoma yoğunluğu sırasıyla 294.80, 259.85, 253.79, 239.39 ve 0 adet μm^{-2} olarak belirlenmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda stoma yoğunluğu sırasıyla 294.80, 253.03, 281.11, 258.64 ve 0 adet μm^{-2} olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyaldeki stoma yoğunluğu sırasıyla 286.06, 254.55, 217.98, 222.07 ve 264.09 olarak tespit edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile iki tekrarlamalı toplam 48 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma yoğunluğu sırasıyla 286.06, 293.08, 273.55, 325.02 ve 317.07 adet μm^{-2} olarak belirlenmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile dört tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 96 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış

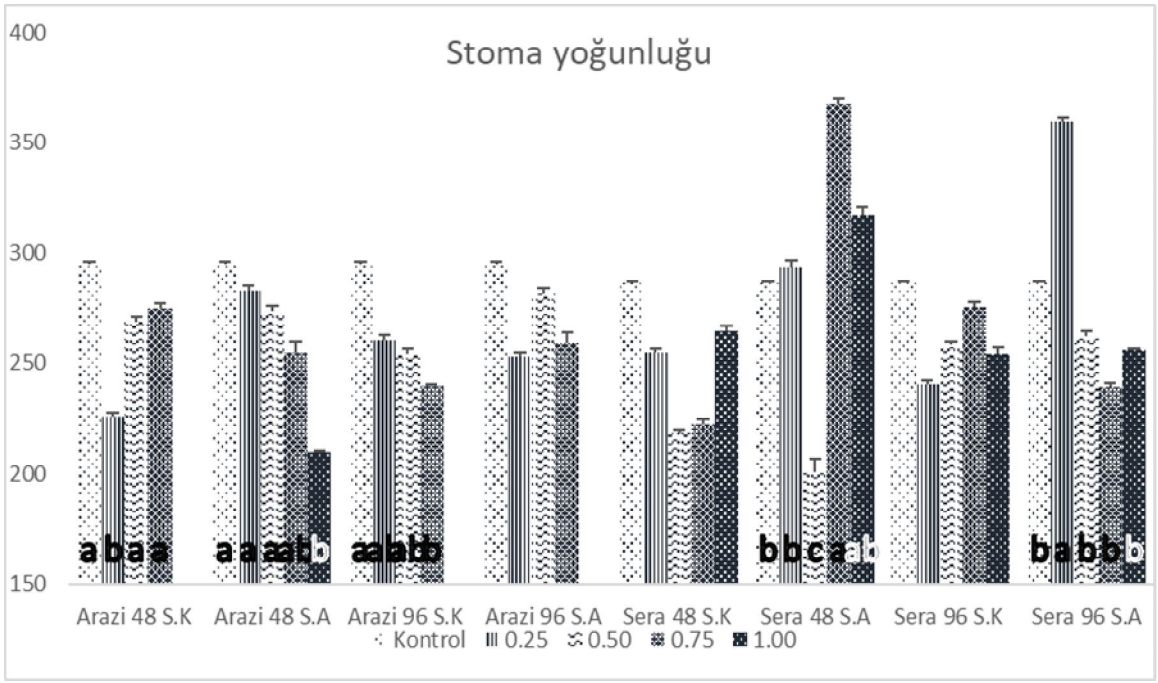
materyaldeki stoma yoğunluğu sırasıyla 286.06, 240.30, 258.41, 275.25 ve 254.25 adet μm^{-2} olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma yoğunluğu sırasıyla 286.06, 295.39, 262.07, 245.84 ve 255.51 adet μm^{-2} olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma yoğunluğuna (adet μm^{-2}) etkileri

Açık alanda omca üzerindeki uygulamalar				
Kolhisin dozları	48 Saat kapalı	48 Saat açık	96 Saat kapalı	96 Saat açık
Kontrol	294.80 ± 1.12 a	294.80 ± 1.12 a	294.80 ± 1.12 a	294.80 ± 1.12
0.25	225.61 ± 1.91 b	282.42 ± 2.31 a	259.85 ± 2.71 ab	253.03 ± 1.53
0.50	268.69 ± 1.97 a	273.23 ± 2.49 a	253.79 ± 2.79 ab	281.11 ± 2.32
0.75	274.70 ± 2.44 a	254.55 ± 4.62 ab	239.39 ± 0.93 b	258.64 ± 5.10
1	- *	209.55 ± 0.60 b	- *	- *
Aöf %5	32.29	49.97	44.4	öd
	Serada tek gözlü çeliklere yapılan uygulamalar			
Kontrol	286.06 ± 0.58	286.06 ± 0.58 b	286.06 ± 0.58	286.06 ± 0.58 b
0.25	254.55 ± 1.92	293.08 ± 3.22 b	240.30 ± 1.51	295.39 ± 1.90 a
0.50	217.98 ± 1.38	273.55 ± 5.89 c	258.41 ± 1.10	262.07 ± 1.93 b
0.75	222.07 ± 2.06	367.02 ± 2.44 a	275.25 ± 2.17	245.84 ± 1.62 b
1	264.09 ± 2.39	317.07 ± 3.24 ab	254.25 ± 2.94	255.51 ± 1.14 b
Aöf %5	öd	68.35	öd	64.71

∗: Sürgün uçlarının tümü kuruduğundan veri alınamamıştır.



Şekil 4.3 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma yoğunluğuna (adet μm^{-2}) etkileri. Uygulamalar arasındaki önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

4.1.4. Stoma genişliği (µm)

'Narince' çeşidinde, 2016 vejetasyon döneminde yazlık sürgünlerin 7-10 cm oldukları dönemde farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları sonrasında kapatma ve açık bırakma uygulamalarının stoma genişliği (µm) üzerine etkileri Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'de sunulmuştur.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar şeklinde uygulanmış ve materyaldeki stoma genişliği sırasıyla 19.17, 17.48, 21.98, 19.90 ve 0 µm olarak tespit edilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar için sırasıyla, 19.17, 20.65, 20.37, 20.10 ve 19.30 µm olarak kaydedilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılanlarda stoma genişliği sırasıyla, 19.17, 18.68, 19.95, 19.28 ve 0 µm olarak belirlenmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda stoma genişliği sırasıyla, 19.17, 18.68, 21.08, 19.05 ve 0 µm olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyaldeki stoma genişliği sırasıyla 21.28, 20.48, 21.43, 19.93 ve 18.88 µm olarak tespit edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile iki tekrarlamalı toplam 48 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma genişliği sırasıyla 21.28, 19.70, 20.07, 20.12 ve 22.41 µm olarak belirlenmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile dört tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 96 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış

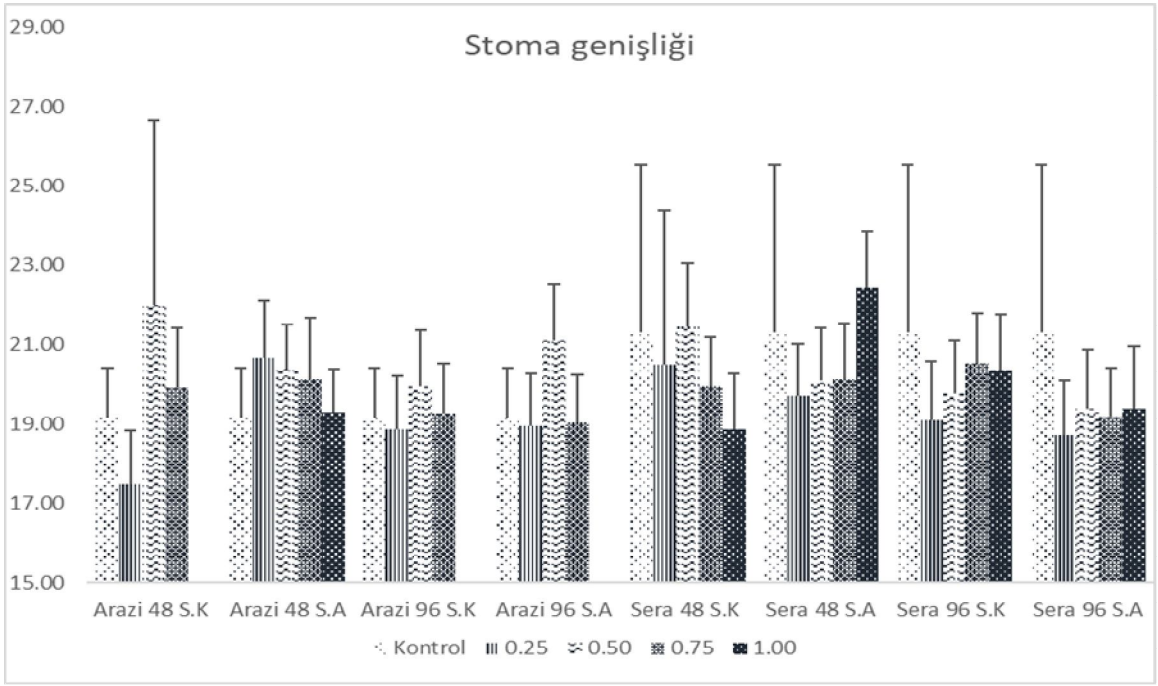
materyaldeki stoma genişliği sırasıyla 21.28, 19.10, 19.75, 20.50 ve 20.33 µm olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma genişliği sırasıyla 21.28, 18.73, 19.38, 19.18 ve 19.38 µm olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma genişliğine (µm) etkileri

Açık alanda omca üzerindeki uygulamalar				
Kolhisin dozları	48 Saat kapalı	48 Saat açık	96 Saat kapalı	96 Saat açık
Kontrol	19.17 ± 1.24	19.17 ± 1.24	19.17 ± 1.24	19.17 ± 1.24
0.25	17.48 ± 1.37	20.65 ± 1.44	18.68 ± 1.34	18.96 ± 1.28
0.50	21.98 ± 4.68	20.37 ± 1.13	19.95 ± 1.40	21.08 ± 1.43
0.75	19.90 ± 1.52	20.10 ± 1.58	19.28 ± 1.22	19.05 ± 1.17
1	- *	19.30 ± 1.07	- *	- *
Aöf %5	öd	öd	öd	öd
Serada tek gözlü çeliklere yapılan uygulamalar				
Kontrol	21.28 ± 4.25	21.28 ± 4.25	21.28 ± 4.25	21.28 ± 4.25
0.25	20.48 ± 3.91	19.70 ± 1.31	19.10 ± 1.46	18.73 ± 1.34
0.50	21.43 ± 1.62	20.07 ± 1.33	19.75 ± 1.34	19.38 ± 1.48
0.75	19.93 ± 1.25	20.12 ± 1.40	20.50 ± 1.27	19.18 ± 1.22
1	18.88 ± 1.37	22.41 ± 1.45	20.33 ± 1.41	19.38 ± 1.57
Aöf %5	öd	öd	öd	öd

∗: Sürgün uçlarının tümü kuruduğundan veri alınamamıştır.



Şekil 4.4 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma genişliğine (µm) etkileri. Uygulamalar arasındaki önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

4.1.5. Stoma uzunluğu (µm)

'Narince' çeşidinde, 2016 vejetasyon döneminde yazlık sürgünlerin 7-10 cm oldukları dönemde farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları sonrasında kapatma ve açık bırakma uygulamalarının uzunluğu (µm) üzerine etkileri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'de sunulmuştur.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar şeklinde uygulanmıştır. Materyallerdeki stoma uzunluğu sırasıyla 30.99, 30.85, 31.98, 31.05 ve 0 µm olarak tespit edilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda bu değerler %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar için sırasıyla, 30.99, 31.95, 31.81, 32.05 ve 29.85 µm olarak kaydedilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılanlarda stoma uzunluğu sırasıyla, 30.99, 31.02, 31.78, 31.55 ve 0 µm olarak belirlenmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda stoma uzunluğu sırasıyla, 30.99, 30.81, 33.24, 30.78 ve 0 µm olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyallerdeki stoma uzunlukları sırasıyla 31.28, 32.31, 32.34, 31.33 ve 31.19 µm olarak tespit edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile iki tekrarlamalı toplam 48 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma uzunluğu sırasıyla 31.28, 30.00, 31.99, 31.07 ve 32.99 µm olarak belirlenmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile dört tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 96 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış

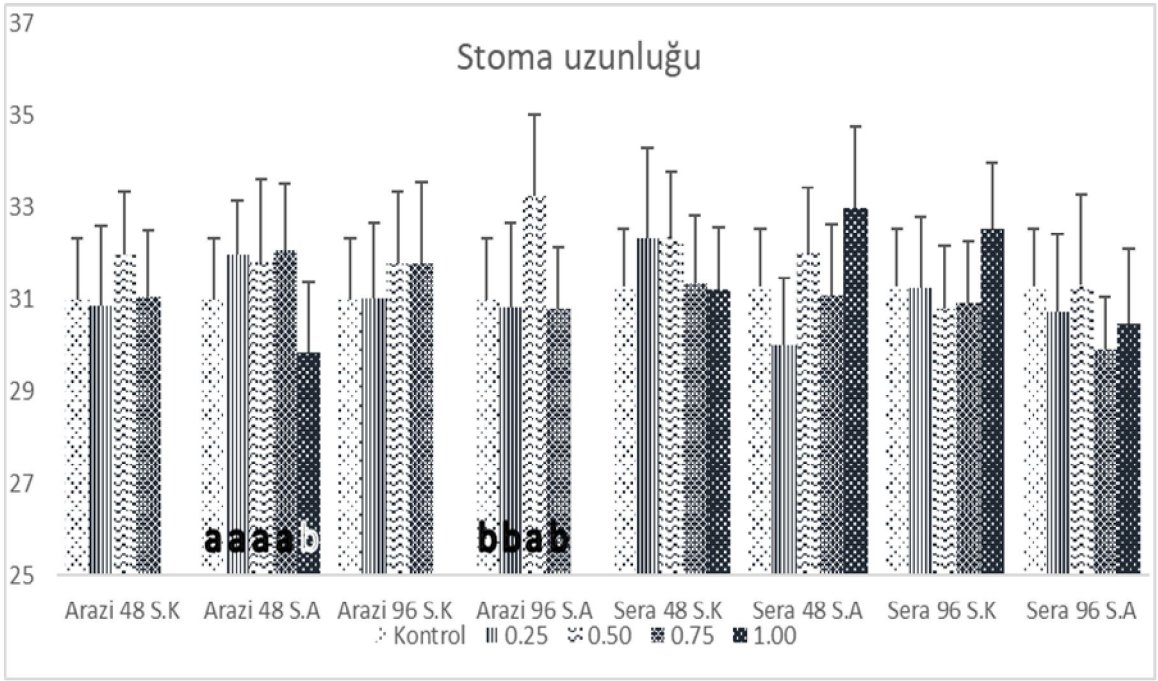
materyaldeki stoma uzunluğu sırasıyla 31.28, 31.23, 30.78, 30.92 ve 32.54 µm olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma uzunluğu sırasıyla 31.28, 30.74, 31.29, 29.89 ve 30.47 µm olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri

Açık alanda omca üzerindeki uygulamalar				
Kolhisin dozları	48 Saat kapalı	48 Saat açık	96 Saat kapalı	96 Saat açık
Kontrol	30.99 ± 1.32	30.99 ± 1.32 a	30.99 ± 1.32	30.99 ± 1.32 b
0.25	30.85 ± 1.75	31.95 ± 1.19 a	31.02 ± 1.63	30.81 ± 1.85 b
0.50	31.98 ± 1.36	31.81 ± 1.80 a	31.78 ± 1.56	33.24 ± 1.77 a
0.75	31.05 ± 1.45	32.05 ± 1.48 a	31.55 ± 1.76	30.78 ± 1.35 b
1	- *	29.85 ± 1.50 b	- *	- *
Aöf %5	öd	1.72	öd	1.29
Serada tek gözlü çeliklere yapılan uygulamalar				
Kontrol	31.28 ± 1.27	31.28 ± 1.27	31.28 ± 1.27	31.28 ± 1.27
0.25	32.31 ± 1.98	30.00 ± 1.45	31.23 ± 1.55	30.74 ± 1.66
0.50	32.34 ± 1.44	31.99 ± 1.45	30.78 ± 1.39	31.29 ± 1.98
0.75	31.33 ± 1.50	31.07 ± 1.55	30.92 ± 1.33	29.89 ± 1.16
1	31.19 ± 1.39	32.99 ± 1.79	32.54 ± 1.42	30.47 ± 1.63
Aöf %5	öd	öd	öd	öd

∗: Sürgün uçlarının tümü kuruduğundan veri alınamamıştır.



Şekil 4.5 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri Uygulamalar arasındaki önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

4.1.6. Stoma alanı (μm^2)

'Narince' çeşidinde, 2016 vejetasyon döneminde yazlık sürgünlerin 7-10 cm oldukları dönemde farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları sonrasında kapatma ve açık bırakma uygulamalarının stoma alanı (μm^2) üzerine etkileri Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6'da sunulmuştur.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Alüminyum folyo ile kapatılan sürgün uçlarına %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik kolhisin dozları uygulanmıştır. Materyaldeki stoma alanı sırasıyla 597.54, 645.96, 601.58, 625.56 ve 0 μm^2 olarak tespit edilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile iki tekrarlı ve toplamda 48 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda %0.0 (kontrol), %0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik dozlar için sırasıyla, 597.54, 658.13, 656.75, 653.19 ve 583.69 μm^2 olarak kaydedilmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli uygulamadan sonra sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılanlarda stoma alanları sırasıyla, 597.54, 583.52, 643.65, 614.00 ve 0 μm^2 olarak belirlenmiştir.

Açık arazi koşullarında 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreli ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda stoma alanı sırasıyla, 597.54, 585.97, 711.98, 589.88 ve 0 μm^2 olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile iki tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 48 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış materyaldeki stoma alanı sırasıyla 667.65, 679.15, 623.15, 593.63 ve 593.63 μm^2 olarak tespit edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile iki tekrarlamalı toplam 48 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma alanı sırasıyla 667.65, 597.10, 651.00, 636.23 ve 595.63 μm^2 olarak belirlenmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına da aynı kolhisin dozları uygulanmıştır. 24 saat ara ile dört tekrarlamalı uygulama yapıldıktan sonra sürgün uçları toplamda 96 saat süreyle alüminyum folyo ile kapatılmış

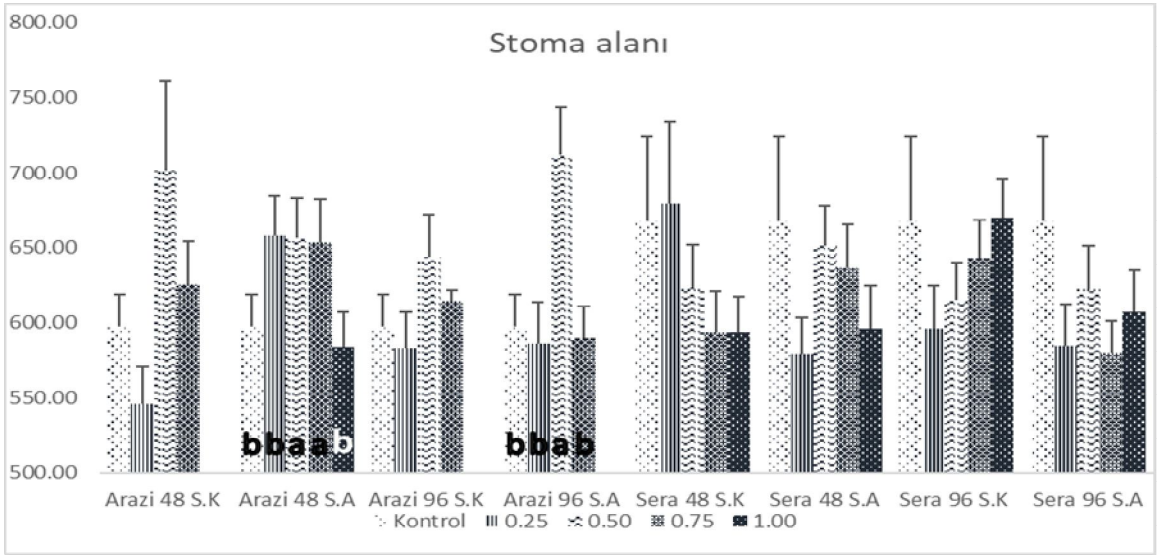
materyaldeki stoma alanı sırasıyla 667.65, 595.63, 615.19, 643.06 ve 669.44 µm^2 olarak kaydedilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek göz çeliklerinden gelişen sürgün uçlarına 24 saat ara ile dört tekrarlamalı toplam 96 saat süreyle uygulama yapılan ve uygulama sonrasında sürgün uçları açık bırakılmış materyaldeki stoma alanı sırasıyla 667.65, 584.60, 622.25, 579.35 ve 607.19 µm^2 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma alanına (µm^2) etkileri

Açık alanda omca üzerindeki uygulamalar				
Kolhisin dozları	48 Saat kapalı	48 Saat açık	96 Saat kapalı	96 Saat açık
Kontrol	597.54 ± 21.33	597.54 ± 21.33 b	597.54 ± 21.33	597.54 ± 21.33 b
0.25	645.96 ± 24.54	658.13 ± 26.15 b	583.52 ± 23.61	585.97 ± 27.46 b
0.50	601.58 ± 59.71	656.75 ± 26.00 a	643.65 ± 28.01	711.98 ± 31.80 a
0.75	625.56 ± 28.33	653.19 ± 29.30 a	614.00 ± 24.02	589.88 ± 20.65 b
1	- *	583.69 ± 23.19 b	- *	- *
Aöf %5	öd	46.03	öd	62.9
	Serada tek gözlü çeliklere yapılan uygulamalar			
Kontrol	667.65 ± 56.15	667.65 ± 56.15	667.65 ± 56.15	667.65 ± 56.15
0.25	679.15 ± 55.07	597.10 ± 24.20	595.63 ± 29.23	584.60 ± 27.50
0.50	623.15 ± 28.88	651.00 ± 26.70	615.19 ± 24.69	622.25 ± 28.98
0.75	593.63 ± 27.14	636.23 ± 29.02	643.06 ± 24.80	579.35 ± 21.35
1	593.63 ± 23.54	595.63 ± 29.23	669.44 ± 26.37	607.19 ± 27.86
Aöf %5	öd	öd	öd	öd

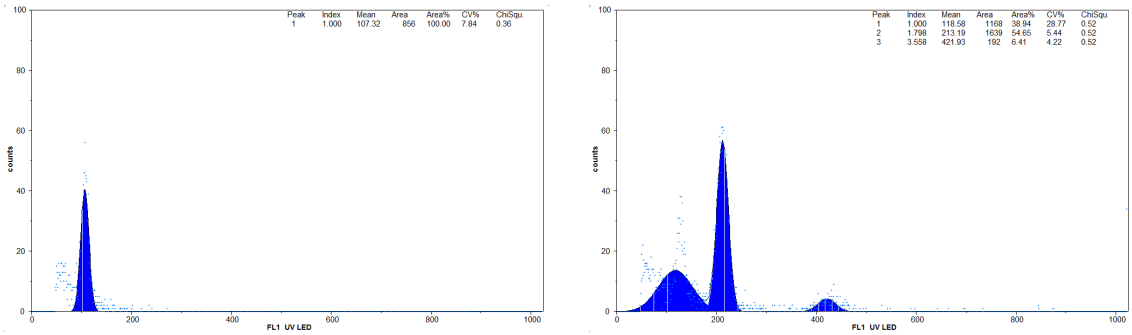
∗: Sürgün uçlarının tümü kuruduğundan veri alınamamıştır.



Şekil 4.6 Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma alanına (µm^2) etkileri. Uygulamalar arasındaki önemli farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

4.1.7. Ploidi seviyeleri

Yapılan morfolojik tespitlerde önemli farklılık görülen 50 adet örneğin FC analizleri yapılmıştır. Yaptığımız FC analizleri sonucunda diploid 'Narince' üzüm çeşidinin piki 100 civarında oluşurken kontrol bitkinin (domates) piki 200 civarında oluşmuştur (Şekil 7). FC analizlerine göre örneklerimizin tamamının piki 100 civarında oluştuğundan dolayı ploidi seviyesinde bir değişiklik olmadığı düşünülmektedir.



Şekil 4.7. Sol tarafta bulunan şekil diploid 'Narince' ve sağ taraftaki şekil ise kolhisin uygulanan bitki gurubu ve kontrol bitkisine (domates) aittir

4.2. Tartışma

4.2.1. Sürgün ucu canlılık oranı (%)

Genel ortalamalarına göre açık arazide en yüksek sürgün ucu canlılık oranı (100 ± 0 %) kontrolde belirlenirken, kontrolü %0.25 ve %0.50 uygulamalarında 48 saat süreli kapalı uygulama sonuçları takip etmiştir. Aynı zamanda %1'lik kolhisin dozunun 96 saat süreli kapalı ve açık uygulamaları ile 48 saat süreli kapalı yöntem en düşük canlılık oranı vermiştir (%0 ± 0). Ayrıca en yüksek standart sapma (67 ± 5.2 %) %0.50 kolhisin dozunun 96 saat uygulamasından sonra sürgün uçları kapatılan bitkilerde oluşmuştur. Genel ortalamalara göre kolhisin dozlarının artışıyla canlı sürgün oranında azalma saptanmıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Serada yapılan uygulamalarda en yüksek değer kontrolde (%100 ± 0) belirlenmiş, bunu (%93 ± 1.5) değer ile %0.50 kolhisin dozunun 48 saat uygulamasından sonra sürgün uçları kapalı ve %1'lik konsantrasyonun 96 saat uygulamasından sonra sürgün uçları açık bırakılan uygulamalardan elde edilmiştir. Diğer taraftan stoma yoğunluğu değerleri arasındaki en büyük standart sapma %0.75'lik kolhisin dozunun 48 saat süre uygulamasının sonrasında kapatılmış sürgünlerde ve

%1'lik kolhisin dozunun 48 saat süre uygulamasının sonrasında açık bırakılmış sürgünlerde (%67 ± 0.52) elde edilmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Ekbiç ve Tangolar (2016), yaptığı benzer bir çalışmaya göre en yüksek canlılık oranı kontrolün ardından 'Trakya İlkeren' ve 'Flame Seedless' çeşidinde %0.5 kolhisin dozunda elde etmiştir. Çalışmaya göre kolhisin konsantrasyonu ve uygulama süresi artışı ile sürgün ucu kuruma oranında da artış belirlemiştir.

Ekbiç ve Tangolar (2010), göre %0.5 dozunda (%88.9) değeri ile en yüksek canlılık oranını gösterdiğini belirlemişlerdir. En düşük canlılık oranı ise %1 kolhisin dozundan elde etmişlerdir. 1 gün (%69.2) canlılık oranı göstermişken 3 gün (%60) ve 5 gün (%47.5) uygulamalarının izlediğini belirlemiştir. Kolhisin doz ve süreleri arasındaki interaksiyon canlılık oranı bakımından önemli olduğunu ve bu bakımdan en yüksek canlılık oranı %0.5'lik kolhisin dozunun 1 ya da 3 günlük sürelerle uygulanmasından elde etmiştir (%100). %0.75'lik dozun 3 ve 5 gün süreyle uygulanmasında ise canlılık oranının %50'nin altına düştüğünü kaydetmiştir.

4.2.2. Sürgün uzunluğu (cm)

Arazi koşullarında omca üzerinde kolhisin uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri birlikte değerlendirildiğinde en uzun sürgün boyu %0.25 kolhisin uygulamasının 48 saat uygulama süresi ile uygulanmasının ardından sürgün uçları kapatılanlarda (38.48 cm) kayıt altına alınırken en kısa sürgün boyu ise %0.75'lik kolhisinle 96 saat süre ile muamele edilen ve uygulamadan sonra sürgün uçları kapatılan bitkilerde (11.67 cm) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).

Sera koşullarında yapılan uygulamalarda ise en uzun sürgün uzunluğu %1'lik kolhisinin 48 saat süre uygulanması ve sonrasında kapatılan sürgünlerde (10.42 cm) belirlenmiştir. En kısa sürgün boyu ise %0.50 kolhisinin 96 saat süre ile uygulanması ve sonra kapatılan sürgünlerde (5.60 cm) belirlenmiştir.

Ekbiç ve Tangolar (2016), yaptığı çalışmada en yüksek sürgün uzunluğunu 0.75 kolhisinin 1 gün süreli uygulandığı 'Trakya İlkeren' çeşidinde (240.3 cm), en düşük değerin ise %0.50 kolhisinin 5 gün süreyle uygulandığı 'Trakya İlkeren' çeşidinde (91.5 cm) tespit etmişlerdir.

Ekbiç ve Tangolar (2010), genel ortalamalara göre sürgün uzunluğu bakımından en yüksek değeri kontrolde elde ederken (126.1 cm), bunu % 0.5 kolhisin uygulamasının (71.8 cm) izlediğini bildirmiştir. Buna karşın en düşük sürgün uzunluğu

değerini %0.75 kolhisin dozunda (34.2 cm) belirlemiştir. Uygulama süresi bakımından genel ortalamalar değerlendirildiğinde uygulama süresi artışıyla sürgün uzunluğu değerlerinde belirgin azalmaların olduğunu görülmektedir. Kolhisin dozları ile uygulama süreleri arasındaki ilişki istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

(Motosugi ve ark., 2002), Köklendirme ortamına konulan tetraploid bitkilerin diploidlere göre köklerinin daha kısa, 'Gloire' ve 'St George' anacının tetraploid olanlarında ise sürgünlerin diploidlere göre daha kısa olduğunu saptamışlardır. Dışarı şaşırtılan tetraploid bitkilerin diploidlere göre boğum aralıkları sürgün boylarının daha kısa ve kök yapılarının daha güçlü olduğu bildirilmiştir.

Poliploidi son yüzyılda yaygın bir şekilde çalışılan ve bitkilerdeki türleşmenin ve adaptasyonun tartışmasız en önemli mekanizmalarından birisidir. Ayrıca en yaygın bitki türlerinin çoğunun poliploid olduğu gerçeği poliploidinin insanlık için önemini kanıtlamaktadır. Doğal popülasyonlarda gözlenen poliploidinin birkaç sonucu, bitki gelişimi için yapay poliploidinin uygulanmasında bir araç olarak bitki ıslahçılarının dikkatini çekmiştir. Çok çeşitli bitki türlerinde poliploidinin teşviki için birçok protokol geliştirilmiştir. Kolhisinin keşfinden sonra, bu antimitotik ajan kullanılarak yapılan *in vitro* poliploidi, yapay poliploidi teşviki için en önemli uygulamalardan biridir. Özellikle kolhisinin keşfinden sonra, bitki gelişimi için poliploidi teşviki ile ilgili ilk beklentiler son derece iyimserdir. Günümüzde başarıyla teşvik edilen az sayıda autotetraploidler ticari açıdan önem taşımaktadır. Bununla birlikte poliploidi, bitki ıslah programlarında son derece önemli bir araç haline gelmiştir (Sattler ve ark., 2016).

Son yıllarda poliplodi alanında sebepleri ve sonuçları ile ilgili farklı mekanizmalar keşfedilmiştir. Genomik değişiklikler ile poliploidiyi takip eden yeni fenotiplerin ifadesi arasındaki bağlantı hakkında kapsamlı bilgi, bitki gelişmesi için çok umut verici olup bitki ıslahçılarına poliploid genomların daha doğru bir şekilde manipüle edilmesi ve üstün sonuçlar elde etmesine olanak sağlayabileceği bildirilmektedir. Poliploid organizmalarda güç artışı ve bazı durumlarda diploid akrabalarından daha iyi performans sergilediği belirtmektedirler (Sattler ve ark., 2016). Kromozomların katlanması genellikle hücre boyutunda artışa sebep olur. Sonuç olarak poliploid bireyler diploidlerinden daha büyük organlara (kök, yaprak, meyve gibi) sahip olabilir (Gao ve ark., 2017).

Kromozom sayımı ve FC yönteminin ploidi düzeyi analizi için doğru yöntem olduğu, iki yöntemin sonuçları arasında anlamlı bir korelasyon bulunduğu ve bazen, kromozom katlamanın miksoploidlere neden olduğu rapor edilmektedir (Thao ve ark.,

2003; Eeckhaut ve ark., 2004; Chauvin ve ark., 2005; Allum ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2010a).

Vitis genotiplerinin birkaç organına *in vivo* kolhisin uygulamaları autotetraploidinin elde edilmesinde daha az etkili olduğu rapor edilmektedir (Dermen, 1954; Kuliev, 2011). Orizalin kromozom katlamada kullanılan diğer bir kimyasal mutagen olarak kullanılmaktadır. *In vitro* autotetraploidi teşviki diğer bitki türlerinde gösterildiği gibi araştırılan çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde orizalinin biraz daha etkili olduğu bildirilmiştir (Sinski ve ark., 2014).

Teşvik edilen bu tür poliploid formların birkaçı gerekli piyasa özelliklerine henüz ulaşamamış olmasına rağmen, muhtemel ıslah çalışmalarında uygulama için değerli germplazma kaynaklarını içerdiği rapor edilmiştir (Sattler ve ark., 2016).

4.1.3. Stoma özellikleri (uzunluk, genişlik, yoğunluk ve alan)

Arazide omca üzerinde en yüksek stoma yoğunluğu (294.80 adet μm^{-2}) ile kontrolde tespit edilmiştir. Kontrole en yakın stoma yoğunluğu %0.25 konsantrasyonunda 48 saat süre ile kolhisin uygulanan ve uygulamadan sonra açık bırakılan sürgünlerde belirlenmiştir (282.42 adet μm^{-2}). En düşük stoma yoğunluğu ise %1'lik kolhisin uygulaması ve sonrasında üzeri 48 saat süre kapatılmış sürgünlerde (209.55 adet μm^{-2}) tespit edilmiştir. Diğer taraftan arazide omca üzerinde stoma yoğunluğu değerleri arasındaki en büyük standart sapma %0.75'lik kolhisinin 96 saat süre uygulaması ve sonrasında açıkta bırakılmış sürgünlerde (258.64 adet μm^{-2}) elde edilmiştir.

Sera ortamında köklendirilmiş tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere yapılan kolhisin uygulamalarının kontrolündeki stoma yoğunluğu 286.06 adet μm^{-2} iken uygulamalarda en düşük stoma yoğunluk değeri 200.55 adet μm^{-2} ile 48 saat süreyle uygulanan %0.50'lik kolhisin ve uygulama sonrasında açıkta bırakılan sürgünlerden elde edilirken, en büyük stoma yoğunluk değeri %0.75'lik kolhisin uygulaması sonrasında açıkta bırakılan sürgünlerden (367.02 adet μm^{-2}) elde edilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).

Stoma genişliği açısından arazide omca üzerinde kontrol 19.17 µm değerini gösterirken en geniş stoma 21.98 µm ile %0.50'lik kolhisinin 48 saat süreyle uygulandığı ve uygulamadan sonra kapatılan sürgünlerde tespit edilmiştir. En dar stoma ise %0.25'lik kolhisinin 48 saat süreyle uygulamasının ardından kapatılan sürgünlerde

(17.48 µm) elde edilmiştir. Diğer taraftan arazide omca üzerinde stoma genişlik değerleri arasındaki en büyük standart sapma %0.50'lik kolhisin dozunun 48 saat süre uygulaması ve sonrasında kapatılmış sürgünlerde (21.98 µm) belirlenmiştir.

Serada yapılan kolhisin uygulamalarının stoma genişliğine etkileri birlikte incelendiğinde herhangi bir farklılık görülmemiştir. Kontrolün stoma genişliği 21.28 µm olarak kaydedilirken en düşük stoma yoğunluk değeri 18.73 µm ile 48 saat süre ile %1'lik kolhisin uygulaması ve uygulama sonrasında kapatılan sürgünlerden elde edilmiştir. En geniş stoma ise %1'lik kolhisin uygulaması ve 48 saat uygulama süresi sonrasında açıkta bırakılan sürgünlerden 22.41 µm değeri elde edilmiştir. En yüksek standart sapma ise 21.28 µm ile kontrolden elde edilmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.4).

Arazide omca üzerinde ve serada tek gözlü çeliklerden gelen sürgünlere kolhisin uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri 10x40'lık oküler mikroskop ile belirlenmiş ve elde edilen sayısal değerler Çizelge 4.4'de ve Şekil 4.4'te verilmiştir.

Arazide omca üzerinde stoma uzunluğu kontrolde (30.99 µm) değerini verirken en uzun stoma (33.24 µm) %0.50'lik kolhisinin 96 saat süreyle uygulanması ve sonrasında açık bırakılmış sürgünlerde saptanmıştır. En düşük stoma uzunluğu ise %1'lik kolhisinin 48 saat süreyle uygulanması sonrasında açık bırakılmış sürgünlerden (29.85 µm) elde edilmiştir.

Serada yapılan kolhisin uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri birlikte değerlendirildiğinde kontrolün stoma uzunluğu 31.28 µm olup en kısa stoma değeri 30.00 µm ile 48 saat süreyle %0.25 dozundaki kolhisin uygulaması ve uygulama sonrasında açık bırakılan sürgünlerden elde edilmiştir. En büyük stoma uzunluğu ise %1'lik kolhisin dozunda ve 48 saat uygulama süresi olan uygulama sonrasında açıkta bırakılan sürgünlerden 32.99 µm değeri elde edilmiştir. En yüksek standart sapma 32.31 µm ile %0.25'lik kolhisinin 48 saat uygulandığı ve sonrasında sürgün uçları kapatılanlarda belirlenmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.5).

Arazide omca üzerindeki uygulamaların stoma alanları incelendiğinde kontrol 597.54 μm^2 değerini verirken en büyük stoma alanı 711.98 μm^2 ile %0.50'lik kolhisinin 96 saat süreyle uygulandığı ve uygulamadan sonra açık bırakılan sürgünlerde belirlenmiştir. En düşük stoma alanı ise %0.25'lik kolhisinin 48 saat süreyle uygulandığı ve sonrasında kapatılan sürgünlerden (545.96 μm^2) elde edilmiştir. Omca üzerinde stoma alanı değerleri arasındaki en büyük standart sapma %0.50'lik kolhisinin 48 saat süreli uygulaması ve sonrasında kapatılmış sürgünlerde (701.58 μm^2) saptanmıştır.

Sera ortamında yapılan uygulamaların stoma uzunluğuna etkileri önemli bulunmuştur. Kontrolde stoma alanı 667.65 μm^2 değerini verirken en yüksek standart sapma değeri de bu uygulamada kaydedilmiştir. En düşük stoma alanı 579.35 μm^2 değeri ile 96 saat süreyle %0.75'lik kolhisin uygulaması ve sonrasında açık bırakılan sürgünlerden elde edilmiştir. En büyük stoma alanı ise %0.25 dozunda kolhisin uygulaması ve 48 saat uygulama süresi sonrasında kapatılan sürgünlerden 679.15 μm^2 değeri elde edilmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.6).

'Neo Muskat'ın tetraploid bitkilerinin yapraklarının morfolojik yapısının, diploid orijinlerinden farklı olduğu ve stoma hücre iriliğinin %40 daha fazla olduğu ve birim olana düşen stoma sayısının da diploid orijinlerinden %40 daha az olduğu bildirilmiş (Yamane ve Kurihara, 1980); diploid ve tetraploid bitkilerin yaprak stoma parametreleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiş (Yang ve ark., 2006); tetraploid asma yapraklarının diploidlere göre daha geniş stomalara sahip olduğu belirlenmiştir (Motosugi ve ark., 2002). Bazı araştırıcılar daha önce de yapmış oldukları çalışmalarda stoma boyu, genişliği ve alanında artış gözlerken stoma sayısında azalmalar tespit etmişlerdir (Yang ve ark., 2006; Chen ve ark., 2014a; Sinski ve ark., 2014; Xie ve ark., 2015b).

Ekbiç ve Tangolar (2016) stoma sayısı bakımından 'Trakya İlkeren' çeşidinde en yüksek değeri kontrolde (189 adet/ μm^2); en düşük değer ise %0.75'lik kolhisin dozundan elde edilmişlerdir (108 adet/ μm^2). Ayrıca 3 ve 5 günlük kolhisin uygulamalarının 1 günlük uygulama süresine göre daha düşük stoma sayısına neden olduğunu; her iki çeşidin stoma genişliğinin de en fazla %0.75'lik kolhisin dozundan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Bazı araştırıcıların yaptıkları çalışma sonuçları incelendiğinde; kolhisin uygulamasının stoma özellikleri üzerine etkisi açısından değişiklikleri tespit etmiş ve dozların artışına bağlı olarak stoma sayısında azalma; stoma genişliği ve uzunluğunda da artış saptamıştır Ekbiç ve Tangolar (2010); eksplantların yetişmesini takiben yaptıkları incelemelerde kontrol olarak kullanılan eksplantlara göre, stomaların daha büyük olduğunu belirlemişler Motosugi ve Motioko (2001); yapılan stoma incelemelerine göre diploid bitkilerin stomalarının tetraploid olanlarına göre daha küçük olduğunu saptamışlardır Gu ve ark. (2005); kolhisin uygulamaları sonucunda elde ettiğimiz verileri incelediğimizde doz ve süre artışına paralel olarak kontrole nazaran stoma boyu, stoma genişliği ve stoma alanında artış stoma sayısında ise azalma tespit edilmiştir.

4.2.4. Ploidi seviyeleri

Sera ve açık alanda toplam 510 adet uygulama yapılmıştır. Bunlardan sadece sera ortamında stoma karakterleri bakımından en yüksek farklılıkları gösteren 50 örnekte FC analizi yapılmıştır. Buradan elde edilen sonuçlara göre morfolojik farklılıklar gösteren ve yoğunluğu istatistiki önemde olmak üzere değişen uygulamaların hiçbirisinde orijinal diploitlerinden belirgin bir farklılık, başka bir ifade ile mitotik tam kromozom katlanması veya miksoploid kimerik bir yapı da tespit edilememiştir.

Ekbiç ve Tangolar (2016), FC analizinde, 'Trakya İlkeren' çeşidinde gerçekleştirilen kolhisin uygulamalarından hiçbirisinin ploidi seviyesini değiştirmediğini, 'Flame Seedless' çeşidinden elde edilen ploidi bulgularının ise 'Trakya İlkeren' çeşidine benzerlik gösterdiğini; 1 gün süreyle %0.5 kolhisin uygulanan örneklerin sadece birinde miksoploid (2x+4x) ploidi oluştuğunu (yaklaşık % 45 hücresi tetraploid (4x) saptamış; ploidi analiz sonuçlarına dayalı olarak genel anlamda kolhisin uygulama doz, süre veya yönteminin etkili olmadığının düşünüldüğünü bildirmişlerdir.

FC ve mikrosatellit analizleri ile altı önemli İspanyol üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinden somatik embriyogenesisle elde edilen bitkilerin ismine doğruluğunu test etmişlerdir. 'Merenzao' çeşidi dışında test edilen tüm çeşitlerden somatik embriyogenesis yoluyla tetraploid bitkilerin elde edildiğini, ayrıca 'Albarin˜o' çeşidinden oktoploid bir bitki ve 'Torronte´s' çeşidinden de miksoploid iki bitki elde ettiklerini bildirmişlerdir (Prado ve ark., 2010). FC yöntemi kullanılarak 'Campbell Early' (*Vitis labruscana*) üzüm çeşidi sürgün uçlarından gelişen 3 farklı genç bitkide ploidi seviyesini belirlemişler ve çalışmanın sonucunda alınan genç bitkilerin farklı ploidi seviyelerinde olduğunu bildirmişlerdir (Noh ve ark., 2010). Birçok araştırıcı yaptıkları FC analizleri ile bitkilerin ploidi seviyelerini belirlemişlerdir (Bessho ve ark., 1999; Yang ve ark., 2006; Dhooghe ve ark., 2011b; Acanda ve ark., 2013).

Bu çalışmada kullanılan kolhisin doz ve sürelerinin önceki çalışmalarda (Das ve Mukherjee, 1967; Rassoulli ve Mahmoodzadeh, 2005; Rasuli ve Sotudeh, 2007; Chen ve ark., 2014b) kromozom katlamada etkili olduğu bildirilmesine rağmen tarafımızdan yapılan uygulamalarda tam poliploid bitki elde edilememiştir. Bununla birlikte kolhisinle muamele edilmiş materyalde tespit edilen önemli morfolojik farklılıklar ve FC analizlerindeki sınırlı varyasyon materyalin bundan sonraki sürecinin takibi

konusunda cesaret vermektedir. Uygulama yapılan bitkiler takip edilmek ve poliploidi çalışmalarında tekrar kullanılmak üzere araziye aktarılarak izlenmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Poliploidi son yüzyılda yaygın bir şekilde çalışılan ve bitkilerdeki çeşitlilik ve adaptasyonun tartışmasız en önemli mekanizmalarından birisidir. Doğal popülasyonlarda gözlenen poliploidinin bazı sonuçları bitki ıslahında yapay poliploidi uygulanmalarında bir araç olarak ıslahçıların dikkatini çekmiş ve çeşitli bitki türlerinde teşviki için farklı protokoller geliştirilmiştir (Sattler ve ark., 2016).

Kromozom sayımı ve FC poliploidi analizi için doğru bir yöntem olduğu, iki yöntemin sonuçları arasında anlamlı bir korelasyon bulunduğu ve bazı kromozom katlama çalışmalarının miksoploidlere neden olduğu rapor edilmiştir (Thao ve ark., 2003; Eeckhaut ve ark., 2004; Chauvin ve ark., 2005; Allum ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2010b).

Son zamanlarda teşvikle elde edilen poliploid formların gerekli piyasa özelliklerine henüz ulaşamadığı, ancak ıslah çalışmalarında uygulama için değerli germplazm kaynaklarını oluşturdukları rapor edilmiştir (Sattler ve ark., 2016). Bizim yaptığımız çalışmaya benzer çalışmalarda (Das ve Mukherjee, 1967; Rassoulli ve Mahmoodzadeh, 2005; Rasuli ve Sotudeh, 2007; Chen ve ark., 2014b) kolhisin uygulamalarının bitkiler üzerinde etkili oluğu tespit edilmesine rağmen bizim yaptığımız çalışmada her hangi bir değişim tespit edilememiştir. FC analizleri ve morfolojik yönden büyük farklılıklar görünmemesine rağmen bitkiler ilerideki süreçte takibe alınmıştır.



Şekil 5.1 uygulamaları devam etmek amaca ile takibat alınmıştır görüntüler 12.12.2017 tarihinden.

5.2. Öneriler

Tarafımızdan yapılan çalışmada canlılık oranı açısından uygulamaların bitkilere etkisi arazide omca üzerinde yapılan çalışmalarda, serada sürdürülmüş çeliklere yapılan uygulamalara nazaran daha etkili olduğu saptanmıştır.

Bundan sonra planlanacak yeni çalışmalarda farklı kolhisin doz ve uygulama sürelerinin denenmesi, mutasyon frekansının düşüklüğü nedeniyle kullanılacak bitkisel materyalin daha fazla olması, yüksek dozların farklı sürelerde uygulanması, uygulamaların aktif hücre bölünmesinin devam etmekte olduğu bitki kısımlarına yapılmasının uygun olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

Acanda, Y., Prado, M. J., González, M. V. ve Rey, M., 2013, Somatic embryogenesis from stamen filaments in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Mencía): changes in ploidy level and nuclear DNA content, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 49 (3), 276-284.

Acanda, Y., Martínez, Ó., González, M. V., Prado, M. J. ve Rey, M., 2015, Highly efficient in vitro tetraploid plant production via colchicine treatment using embryogenic suspension cultures in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Mencía), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 123 (3), 547-555.

Ağaoğlu, Y., Yazgan, A. ve Kara, K., 1988, Tokat Yöresinde Yaprak Salamuracılığına Yönelik Asma Yetiştiriciliği Bir Araştırma, *Türkiye II. Bağ. Sem*, 315-303.

Agarwal, G. P., 1990, Advances in biochemical engineering/biotechnology 41: microbial bioproducts, *Edited by A. Fiechter, Springer-Verlag, Berlin, Germany, Glycerol*, 95-128.

Aihong, M., Shengjian, Z., Zijuan, G., Xinzhong, Z. ve He, Z., 2006, Advances in Research of Grape Tetraploid Induced with Colchicines.[J], *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 1, 068.

Aleza, P., Juárez, J., Ollitrault, P. ve Navarro, L., 2009, Production of tetraploid plants of non apomictic citrus genotypes, *Plant cell reports*, 28 (12), 1837-1846.

Alleweldt, G. ve Possingham, J., 1988, Progress in grapevine breeding, *Theoretical and Applied Genetics*, 75 (5), 669-673.

Allum, J., Bringloe, D. ve Roberts, A., 2007, Chromosome doubling in a Rosa Rugosa Thunb. hybrid by exposure of in vitro nodes to oryzalin: the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time, *Plant cell reports*, 26 (11), 1977-1984.

Anonim, 2017, http://faostat.fao.org/ (Erişim tarihi:23.04.2017),

Barrett, H., 1974, Colchicine-induced polyploidy in citrus, *Botanical Gazette*, 135 (1), 29-41.

Bessho, H., Miyake, M. ve Kondo, M., 1999, Grape breeding in Yamanashi, Japan-present and future, *Eucarpia symposium on Fruit Breeding and Genetics 538*, 493-496.

Botta, R., Vallania, R. ve Me, G., 1987, Grapevine breeding by gamma radiation: results and prospects, *Fruit Breeding 224*, 421-424.

Chang, Y., Ji, X., Zhu, J. ve Hao, Y., 2010, Polyploidy induction of mutation by using colchicine on tube seedlings of Victoria grape, *X International Conference on Grapevine Breeding and Genetics 1046*, 265-270.

Chauvin, J., Label, A. ve Kermarrec, M., 2005, In vitro chromosome-doubling in tulip (Tulipa gesneriana L.), *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80 (6), 693-698.

Chen, C.-Z., Li, L., Lodish, H. F. ve Bartel, D. P., 2004, MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation, *science*, 303, 83-86.

Chen, J., Tang, X., Ma, X., Zhao, Q. ve Dong, Z., 2014a, Generation of a new polyploid grape cultivar by using hybrid seeds induced with colchicine, *Acta horticulturae*, 251-258.

Chen, J., Tang, X., Ma, X., Zhao, Q. ve Dong, Z., 2014b, Generation of a new polyploid grape cultivar by using hybrid seeds induced with colchicine, *Acta horticulturae*.

Çördük, N., Yücel, G., Akıncı, N. ve Tuna, M., 2017, *In vitro* Üretilen Digitalis Trojana Ivanina Bitkilerinin Genetik Kararlılığının Flow Sitometri ve Sitolojik Analizler ile Değerlendirilmesi, *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 14 (12-15).

Dardeniz, Ç. T. A., 2016, Sofralık Üzüm Çeşitlerinde Omca Tacının Farklı Yöneyleri ile Günün Farklı Saatlerinin Yaprakların Stoma Yoğunluk ve Büyüklüklerine Etkileri, *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21.

Das, P. ve Mukherjee, S., 1967, Induction of autotetraploidy in grapes, *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (The)*, 27 (1), 107-116.

Dermen, H., 1954, Colchiploidy in grapes, *Journal of Heredity*, 45 (4), 159-172.

Dermen, H., 1964, Cytogenetics in hybridization of bunch and muscadine-type grapes, *Economic Botany*, 18 (2), 137-148.

Dhooghe, E., Van Laere, K., Eeckhaut, T., Leus, L. ve Van Huylenbroeck, J., 2011a, Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104 (3), 359-373.

Dhooghe, E., Van Laere, K., Eeckhaut, T., Leus, L. ve Van Huylenbroeck, J., 2011b, Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104 (3), 359-373.

During, H., 1980, Stomatal frequency on leaves of *Vitis species* and *varieties*, *Vitis*, 19 (2), 91-98.

Eeckhaut, T. G., Werbrouck, S. P., Leus, L. W., Van Bockstaele, E. J. ve Debergh, P. C., 2004, Chemically induced polyploidization in Spathiphyllum wallisii Regel through somatic embryogenesis, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78 (3), 241-246.

Ekbiç, H. ve Tangolar, S., 2010, Possibilities to generate mutation and polyploidy using Co60 and colchicine in Trakya ilkeren and flame seedless grape cultivars.

Ekbiç, H. ve Tangolar, S., 2016, Trakya İlkeren ve Flame Seedless üzüm çeşitlerinde farklı kolhisin dozları kullanılarak poliploidi oluşturma olanakları, *Akademik Ziraat Dergisi*, 5(2):69-76.

Faostat, F., 2017, http://faostat.fao.org.

Fidan, Y., 1985, Özel Bağcılık, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 930 Ders Kitabı No: 265. 401s.

Gao, M., Katayama-Ikegami, A., Nakano, S., Matsuda, K. ve Motosugi, H., 2017, Vegetative growth and fruit quality of 'ruby roman'grapevines grafted on two species of rootstock and their tetraploids, *The Horticulture Journal*, 86 (2), 171-182.

Genç, İ. ve Yağbasanlar, T., 1993, Bitki Islahı, *Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları*, 150.

Genç, İ., 1993, Bitki Islahı, *Çukurova Üniv., Ziraat. Fak. Yay.,Adana,*, 150 s.

Gmitter, F. G. ve Ling, X., 1991, Embryogenesis in vitro and nonchimeric tetraploid plant recovery from undeveloped citrus ovules treated with colchicine, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116 (2), 317-321.

Göktürk, N., Artık, N., Yavaş, İ. ve Fidan, Y., 1997, Bazı Üzüm Çeşitleri ve Asma Anacı Yapraklarının Yaprak Konservesi Olarak Değerlendirilme Olanakları Üzerinde Bir Araştırma, *Gıda Dergisi*, 22 (1).

Gu, X., Yang, A., Meng, H. ve Zhang, J., 2005, In vitro induction of tetraploid plants from diploid Zizyphus jujuba Mill. cv. Zhanhua, *Plant cell reports*, 24 (11), 671-676.

Jiang, A.I., Li, S.C., Yang, T.Y., Jin, P.F. ve Luo, J., 2006, Breeding of good-quality large-grain tetraploid grape strain" Hu 30", *Acta Agriculturae Shanghai*, 22 (3), 70.

Jun, C., XiaoPing, T., XiaoHe, M., QiFeng, Z. ve FuQing, L., 2009, Identification of the ploidy structure of bud sport of Red Globe grape cultivar, *Journal of Fruit Science*, 26 (5), 619-622.

Kara, Z. ve Ağaoğlu, Y., 1990, Tokat yöresinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.

Kara, Z. ve Ağaoğlu, Y., 1992, Farklı Amerikan asma anaçlarına aşılanmış Narince üzüm çeşidinde boğumların pozisyonları ve çaplarına göre verim potansiyelinin değişimi üzerinde bir araştırma, *Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 2, 587-590.

Kara, Z., 2012, Genel Bağcılık, *Mevlana kalkınma ajansı*, 149s.

Kara, Z., Doğan, O., Yazar, K. ve Sabır, A., 2017, 41 B Asma Anacına In Vivo Kolhisin Uygulamalarının Morfolojik ve Sitolojik Etkileri, *Selcuk J Agr Food Sci*.

Kayahan, M., 1998, Lipidler, *Gıda Kimyası*, 152-153.

Kirk, R. ve Othmer, D., 1980, Glycerol, Encyclopedia of chemical technology, John Wiley, New York.

Köksal, N., 1999, Haploid Kavun Bitkilerinin in vitro ve in vivo Yöntemlerle Dihaploidizasyonu, *Çukurova Üniv. Fen Bil. Enst.(Yüksek Lisans Tezi)*, 116 s.

Kuliev, V., 2011, Induced autotetraploid grape mutants, *Cytology and Genetics*, 45 (3), 163-169.

Kunter, B. ve Karataş, D. D., 2011, Asmalarda Mutasyonlar ve Mutant *Vitis Vinifera* L. Çeşitleri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 21 (2), 146-151.

Kunter, B., Çakmak, G., Keskin, N., Karataş, D. ve Kunter, B., 2016, İyonİze radyasyon uygulamalariyla elde edİlmİş üzüm genotİplerİnde stoma özellİklerİ üzerİnde araştirmalar, *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 27.

Luo, Y., Qiao, Z., Zhu, Z., Huangpu, Z. ve Chang, J., 1996, Study on autotetraploid grape Muscat Hamburg with good quality, *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (2), 125-128.

Ma, A., Fan, P., Sun, J. ve Li, S., 2004, Study on induction of tetraploid grapes, *Zhongguo nongye kexue*, 38 (8), 1645-1651.

Ma, X., Dong, Z., Zhao, Q., Li, X., Tan, W., Tang, X. ve Chen, J., 2014, A Series of Polyploid Grape Cultivars and Their Structural Identification of Ploidy Character, *XI International Conference on Grapevine Breeding and Genetics 1082*, 63-68.

Motosugi, H. ve Motioko, R., 2001, Tetraploid Breeding of Wild Grapes Native to Japan, *American. Journal of Enology and Viticulture*, 52 (3) (282-285).

Motosugi, H., Okudo, K., Kataoka, D. ve Naruo, T., 2002, Comparison of growth characteristics between diploid and colchicine-induced tetraploid grape rootstocks, *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science*, 71 (3), 335-341.

Noh, J.H., Park, K.S., Yun, H.K., Do, G.R., Hur, Y.Y., Kim, S.H., Lee, H.C., Ryou, M.S., Park, S.J. ve Jung, S.M., 2010, Determination of Chimera Types and Ploidy Level of Sports from 'Campbell Early' Grape (*Vitis labruscana)*, *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 28 (6), 996-1002.

Park, Y.S., Kim, I.J. ve Park, S.M., 2010, Selection of hypo-and hyper-tetraploid seedlings from abnormal cotyledons seedlings obtained during crossing of tetraploid grapes (*Vitis complexes*), *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 28 (5), 810-817.

Prado, M. J., Rodriguez, E., Rey, L., González, M. V., Santos, C. ve Rey, M., 2010, Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis-regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 103 (1), 49-59.

Qing, R., Yaowu, L. ve Huiyong, Z., 1999, Study on Stability of Autotetraploidy Grape (cv. Muscat hamburg), *Journal of agrıcultural unıversıty of hebeı*, 4, 015.

Rassoulli, V. ve Mahmoodzadeh, H., 2005, Induced Mutation in Grape (*Vitis vinifera* var. *Bidaneh*) by Using Colchicine, *International Workshop on Advances in Grapevine And Wine Research*, 15-17.

Rasuli, V. O.-L. ve Sotudeh, R., 2007, Autotetraploid Induction in Grape (*Vitis vinifera* var. *Bidaneh*) by using Colchicine.

Sattler, M. C., Carvalho, C. R. ve Clarindo, W. R., 2016, The polyploidy and its key role in plant breeding, *Planta*, 243 (2), 281-296.

Shengjian, Z. ve Zijuan, G., 2004, Advances in Research of Breeding Seedless Triploid Grapes, *Journal of Fruit Science*, 4, 019.

Shi, Y., Zhang, J.-x., Wang, Y.-j., Tang, D.-m. ve Zhang, C.-h., 2012, Study on breeding polyploidy grape by embryo rescue techniques, *Journal of Fruit Science*, 2, 025.

Sinski, I., Dal Bosco, D., Pierozzi, N. I., Maia, J. D. G., Ritschel, P. S. ve Quecini, V., 2014, Improving in vitro induction of autopolyploidy in grapevine seedless cultivars, *Euphytica*, 196 (2), 299-311.

Skene, K. ve Barlass, M., 1983, Studies on the fragmented shoot apex of grapevine: IV. Separation of phenotypes in a periclinal chimera in vitro, *Journal of experimental botany*, 1271-1280.

Tachikawa, T., Tanaka, Y. ve Hara, S., 1961, Investigations on the breeding of Citrus trees. I. Study on the breeding of triploid Citrus varieties, *Bulletin of the Shizuoka Prefectural Citrus Experiment Station*, 4, 33-44.

Thao, NTP., Ureshino, K., Miyajima, I., Ozaki, Y. ve Okubo, H., 2003, Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through colchicine and oryzalin treatments, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72 (1), 19-25.

Tuna, M., 2014, 2. Flow Sitometri ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanımı Çalıştayı, Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 16-17 Ocak 2014, Tekirdağ.

Väinölä, A., 2000, Polyploidization and early screening of Rhododendron hybrids, *Euphytica*, 112 (3), 239-244.

Wu, WM., Wang, QI., Fang, JG., Qian, YM., Shangguan, LF., Zhao, MZ., Wang, J. ve YU, HM., 2011, Determination of Genetic Diversity and Endogenous Hormones in Short Internode Mutant Plant of'Venus Seedless' Grape [J], *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 12, 024.

XiaoHe, M., XiaoPing, T., Jun, C., QiFeng, Z. ve ZhiGang, D., 2010, A new excellent mid-maturing grape cultivar'Qiuheibao', *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (11), 1875-1876.

Xie, X., Agüero, CB., Wang, Y. ve Walker, MA., 2015a, In vitro induction of tetraploids in Vitis× Muscadinia hybrids, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 122 (3), 675-683.

Xie, X., Agüero, C. B., Wang, Y. ve Walker, M. A., 2015b, In vitro induction of tetraploids in *Vitis* x *Muscadinia* hybrids, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 122 (3), 675-683.

Yamane, H. ve Kurihara, A., 1980, Studies on polyploidy breeding in grapes. II. Polyploid induction by colchicine application, *Bulletin of The Fruit Tree Research Station, E (Kaju Shikenjo Hokoku, E)* (3), 1-13.

Yang, X., Cao, Z., An, L., Wang, Y. ve Fang, X., 2006, In vitro tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.), *Euphytica*, 152 (2), 217-224.

Yavaş, Ö., 2017, Flow sitometri ile bazı ıspanak aksesyonlarının çekirdek DNA içeriklerinin belirlenmesi, *Namık Kemal Üniversitesi*.

Zhang, B., Li, L., Yang, G. ve Gao, Q., 2011, Study on tetraploid induction of Jingxiu grape, *Journal of Northeast Agricultural University*, 7, 91-97.

Zhang, Q., Luo, F., Liu, L. ve Guo, F., 2010a, In vitro induction of tetraploids in crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101 (1), 41-47.

Zhang, Q., Luo, F., Liu, L. ve Guo, F., 2010b, In vitro induction of tetraploids in crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101 (1), 41-47.

Zhou, HW., Zeng, WD. ve Yan, HB., 2017, In vitro induction of tetraploids in cassava variety 'Xinxuan 048'using colchicine, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 128 (3), 723-729.

Ziying, Z., Zhongsi, H., Jinhua, C. ve Yaowu, L., 1995, The Morphologic Character and Progress of Growth of Autotetraploid Grape (*Vitis vinifera* L) Muscate Hambury [J], *Journal of agrıcultural unıversıty of hebeı*, 3.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Abdulrahman Shakir Shakor ALBANAA
Uyruğu : IRAK
Doğum Yeri ve Tarihi : IRAK-Kerkük 1991-05-16
Telefon : 0531 626 83 28
Faks :
e-mail : Albannag2@gmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	**Şehit İbrahim İsmayile tefik/ Kerkük**	**2006-2010**
Üniversite	:	**Kerkük Üniversitesi**	**2010-2014**
Yüksek Lisans	:	**Selçuk Üniversitesi**	**2015- devam ediyor**
Doktora	:	**-**	**-**

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**

UZMANLIK ALANI **Bağ yetiştirme ve ıslahı**

YABANCI DİLLER **Arapça – İngilizce – Azerice – Türkmence.**

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR