

Tohumlara ve Koltuk Tomurcuklarına Yapılan Kolhisin Uygulamalarının Biberde
Poliploidi Oluşumuna Etkisi Üzerinde Bir Araştırma

Ayşegül Ertunç Matur

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Kasım 2021

Research on the Effect of Colchicine Treatments applied to Seeds and Axillary Buds on
Polyploidy Induction in Pepper

Ayşegül Ertunç Matur

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Horticulture

November 2021

Tohumlara ve Koltuk Tomurcuklarına Yapılan Kolhisin Uygulamalarının Biberde
Poliploidi Oluşumuna Etkisi Üzerinde Bir Araştırma

Ayşegül Ertunç Matur

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Sebze Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kenan Sönmez

Bu tez TÜBİTAK Tarafından TEYDEB 1507 programı kapsamında 7190921 no'lu proje ile
desteklenmiş ıslah çalışmasının bir kısmından hazırlanmıştır.

Kasım 2021

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Kenan SÖNMEZ danışmanlığında hazırlamış olduğum “Tohumlara ve Koltuk Tomurcuklarına Yapılan Kolhisin Uygulamalarının Biberde Poliploidi Oluşumuna Etkisi” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 05.11.2021

Ayşegül ERTUNÇ

İmza

ÖZET

Biber beslenme ve sağlık açısından önemi yanı sıra tüketim miktarı bakımından ekonomik olarak önemli olan sebze türlerinden biridir. Solanaceae familyası sebzelerinden olan biber ülkemizde, 792.617 da alanda toplam 2.6 milyon ton üretim miktarı ile domatesten sonra 2. sırada en fazla üretilen sebzedir. Türkiye, biber üretiminde Çin ve Meksika'dan sonra üçüncü sırada yer alarak tek başına dünya biber üretiminin %6.9'unu karşılamaktadır. Biber türleri içinde kapyra biber türü hazır gıda sanayinde yoğun olarak kullanılmaktadır. İşleme türüne bağlı olarak tohum ve meyve saplarının çıkarılması işlemi insan işgücü ile yapıldığı için işçilik maliyetlerini ve üretim hızını olumsuz etkilemektedir. Bu yüzden hazır gıda sektöründe tohumlu kapyra biberi ihtiyacı ön plana çıkmaktadır.

Çalışmamızın amacı, tohum içermeyen kapyra biber ıslahı üretiminde kullanılacak tetraploid hatlar oluşturabilmektir. Bunun için bitkisel materyal olarak PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketi ıslah programında kullanılan 12 biber genotipi kullanılmıştır.

Deneme, seçilen genotiplerin ploidi seviyesini artırmak için tohumlarına ve bu genotiplerden elde edilen genç bitkilerin koltuk tomurcuklarına antimitotik olarak farklı doz ve sürelerde in vivo kolhisin uygulaması yapmak üzere iki farklı şekilde planlanmıştır. Doğrudan tohum uygulamasında, % 0.1 ve % 0.2 oranında kolhisin dozu 24 ve 48 saat, genç bitkilerin koltuk tomurcuklarına, % 0.3 ve % 0.5 oranında kolhisin dozu 12 ve 24 saat süresince uygulanmıştır.

Araştırma sonucunda uygulama yapılan yaklaşık 4500 adet bitkiden morfolojik gözlemler sonucunda muhtemel tetraploid olarak belirlenen, tohum uygulamalarından 265 bitki, koltuk sürgünleri uygulamasından 151 bitki ve kontrol uygulamasından 12 bitki olmak üzere toplam 428 adet bitkinin ploidi seviyesi flow sitometri analizi ile belirlenmiştir. Tohum uygulaması 24 saat %0.1 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %6.6 oranında, 24 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamasından %19.17 oranında, 48 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %12.28 oranında, koltuk sürgünü uygulamasında, 12 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %12.24 oranında, 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %46.6 oranında, 12 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %32 oranında tetraploid bitki elde edilmiştir.

Sonuç olarak tohumlara yapılan kolhisin uygulamalarının, poliploid bitki elde etme konusunda daha pratik ve etkili olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biber, Kolhisin, Poliploid

SUMMARY

Pepper, besides its nutritional and health benefits, is one of the economically important vegetable species in terms of its consumption amounts. Belonging to the vegetable family Solanaceae, pepper is the second most produced vegetable in our country, after tomato, with a total production amount of 2.6 million tons on an area of 792,617 decares. Turkey ranks third in pepper production after China and Mexico, meeting 6.9% of the world's pepper production alone. Among pepper species, the capia pepper species is used intensively in ready-to-eat food industry. Depending on the type of processing, the removal of seeds and fruit stalks negatively affects labor costs and production rate, as it is done with human labor. Therefore, the need for seedless capia pepper has gained a growing importance in the ready-to-eat food industry.

The aim of our study is to create tetraploid lines to be used in seedless capia pepper breeding production. As plant material, 12 pepper genotypes which are used in the breeding program of the company PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. were utilized in the study.

The experiment was planned to be conducted in two different stages as; *in vivo* application of colchicine as antimitotic agent at varying dose and durations firstly on the seeds of the selected genotypes and then on the axillary buds of juvenile plants obtained from these genotypes for the aim of increasing ploidy levels. In the direct treatment on seeds, 0.1% and 0.2% colchicine concentrations were applied for 24 and 48 h, and in the treatment on axillary buds of juvenile plants, 0.3% and 0.5% colchicine concentrations were applied for 12 and 24 h.

At the end of the experiment, out of a total of about 4500 colchicine-treated plants, 428 plants including 265 from seed treatments, 151 from axillary shoot treatments and 12 from control treatments, were determined as possible tetraploids indicated by morphological observations and their ploidy levels were quantified by flow cytometry analysis.

In seed treatments, tetraploid induction rates were about 6.6% after a 24 h colchicine treatment at 0.1%; 19.17% after a 24 h colchicine treatment at 0.2% and 12.28% after a 48 h colchicine treatment at 0.2%. In axillary bud treatments, tetraploid inductions rates were about 12.24% after a 12 h colchicine treatment at 0.3%; 46.6% after a 24 h colchicine treatment at 0.3% and 32% after a 12 h colchicine treatment at 0.5%.

As a result, it was concluded that colchicine treatments on seeds are more practical and effective in obtaining polyploid plants.

Key Words: Pepper, Colchicine, Polyploidy

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	6
2.1. Biberde Tohumsuz Meyve Oluşumu ve Poliploidi.....	6
2.2. Poliploid Bitkilerin Belirlenmesi	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Bitkisel materyal ve özellikleri	23
3.1.2. Araştırma yerinin coğrafi konumu	24
3.1.2. Araştırma alanının iklim verileri.....	25
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. In vivo kolhisin uygulamasıyla tetraploid bitki elde edilmesi	25
3.2.1.1. <u>Kapya biber ıslah hatlarına ait tohumlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması.....</u>	<u>26</u>
3.2.1.2. <u>Tohumlardan yetiştirilen genç bitkilerin koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları.....</u>	<u>29</u>
3.2.1.3. <u>Tohum ve genç fide dönemi koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamasından elde edilen fidelerin seradaki yetiştirilme yerlerine dikimi ve yetiştirilmesi</u>	<u>31</u>
3.2.1.4. <u>Tohum ve koltuk tomurcukları kolhisin uygulamalarından gelen bitkilerde agronomik çalışmalar ve morfolojik gözlemler.....</u>	<u>32</u>
3.2.1.5. <u>Flow Sitometri Analizi</u>	<u>36</u>
3.2.2. Tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulaması sonrası serada yetiştirilen bitkilerde kendileme, hasat, tohum çıkarma depolama ve paketlenme.....	37
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	40
4.1. Tohumlara Kolhisin Uygulaması.....	40

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.1.1. Morfolojik analizler	42
4.1.1.1. <u>Tohumların çıkış oranı (%)</u>	42
4.1.1.2. <u>Meyve eni (cm)</u>	45
4.1.1.3. <u>Meyve boyu (cm)</u>	47
4.1.1.4. <u>Meyve sayısı (adet/bitki)</u>	49
4.1.1.5. <u>Bitki boyu (cm)</u>	51
4.1.1.6. <u>Çiçek çapı (mm)</u>	52
4.1.1.7. <u>Yaprak alanı (cm²)</u>	55
4.1.1.8. <u>Stoma sayısı (adet)</u>	58
4.1.1.9. <u>Stoma eni (µm)</u>	60
4.1.1.10. <u>Stoma boyu (µm)</u>	62
4.2. Tohumlardan Yetiştirilen Genç Bitkilerin Koltuk Tomurcuklarına Farklı Doz ve Sürelerde Kolhisin Uygulamaları	64
4.2.1. Morfolojik analizler	67
4.2.1.1. <u>Uygulama yapılan göz sayısı (adet/bitki)</u>	67
4.2.1.2. <u>Süren göz sayısı (adet/bitki)</u>	69
4.2.1.3. <u>Sürmeyen göz sayısı (adet/bitki)</u>	71
4.2.1.4. <u>Sera sürgün sayısı (adet/bitki)</u>	72
4.2.1.5. <u>Meyve eni (cm)</u>	74
4.2.1.6. <u>Meyve boyu (cm)</u>	76
4.2.1.7. <u>Meyve sayısı (adet/bitki)</u>	78
4.2.2. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamalarından gelen bitkilerde argonomik çalışmalar ve morfolojik gözlemler	79
4.2.2.1. <u>Bitki boyu (cm)</u>	82
4.2.2.2. <u>I. Sürgün çiçek çapı (mm)</u>	84
4.2.2.3. <u>I. Sürgün yaprak alanı (cm²)</u>	86
4.2.2.4. <u>Koltuk tomurcuğu uygulamaları stoma sayısı (adet)</u>	89
4.2.2.5. <u>Koltuk tomurcuğu uygulamaları stoma eni (µm)</u>	92
4.2.2.6. <u>Koltuk tomurcuğu uygulamaları stoma boyu (µm)</u>	94
4.2.2.7. <u>Tohum ve koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasından elde edilen bitkilerde flow sitometri analizi</u>	97

İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa**

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	101
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	103



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

1.1. Triploid biber elde edilmesi (Sarı, 1994'ten değiştirilerek).	5
3.1. Araştırmanın yürütüldüğü seradan görüntü.	24
3.2. Araştırmanın yürütüldüğü PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketinin uydu görüntüleri.....	24
3.3. Kopya biber hatlarının tohumlarına kolhisin uygulaması. A. Tohumların kolhisin çözeltisine daldırılması, B. Tohumların, içerisinde kolhisin çözeltisi bulunan amber renkli şişelerde 25 °C sıcaklıktaki iklim dolabında bekletilmesi, C. Uygulama sonrası kolhisin çözeltisinin süzülmesi, D. Uygulama sonrası saf su ile durulama işlemi.....	27
3.4. Kolhisin uygulanmış ve uygulanmamış kopya biber hatlarına ait tohumların ekimi. A. Tohumların viyollere ekilmesi, B. Ekim yapılmış viyollerin üzerinin örtülmesi, C. Viyollerin çimlendirme odasında bekletilmesi, D. Viyollerin fideliğe yerleştirilmesi.	28
3.5. Kolhisin uygulanmış ve uygulanmamış tohumlardan elde edilen fidelerin fidelikte yetiştirilmesi. A. Saksılardaki biber fideleri (tohum uygulamaları). B. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması için saksılara şaşırtılmış biber fideleri.	28
3.6. Biber fidelerinin koltuk tomurcuklarında kolhisin uygulaması. A. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması için saksılara şaşırtılmış biber fideleri. B. Uygulama öncesi fidelerde tepe kesimi. C. Pamuklara kolhisin solüsyonun emdirilmesi. D. Koltuk tomurcuklarında kolhisin uygulaması E. Uygulama sonrası tomurcukların alüminyum folyo ile sarılması F. Uygulamalar sonrası süren koltuk tomurcukları ve etiketleme.....	30
3.7. Kolhisin uygulamalarında kullanılan 12 farklı kopya biber hattına ait fidelerin serada görünüşleri. A. Kolhisin uygulanmış ve uygulanmamış tohumlardan elde edilen fidelerin viyollerdeki görünümü, B. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulanmak üzere saksılara şaşırtılmış biber fideleri.	31
3.8. Tohum ve genç fide dönemi koltuk tomurcuğu uygulamalarından elde edilen fidelerin seraya dikimleri. A. Kontrol bitkileri. B. Tohum uygulamaları. C. Koltuk tomurcuğu uygulamaları. D. Fidelerin seraya dikimi. Dikim sonrası askıya alınmış tohum uygulamalarının (E) ve koltuk tomucuğu uygulamalarının bitkileri (F).	32
3.9. Kolhisin uygulamasının çiçek çapı üzerine etkileri ve çiçek çapının ölçülmesi. A. Çiçek çapının ölçülmesi. B. Uygulamanın 9 no'lu hatta çiçek çapı üzerine etkisi. C. Uygulamanın 10 no'lu hatta çiçek çapı üzerine etkisi.	33
3.10. Kolhisin uygulamasının meyve büyüklüğü üzerine etkileri ve meyvelerde en-boy ölçümleri. A. Meyve çapının ölçülmesi. B. Meyve boyunun ölçülmesi. C ve D. Kontrol ve uygulamalardaki meyve farklılıkları.....	34
3.11. Morfolojik gözlemlerde görülen değişiklikler. A. Kopya biber hatlarında görülen sivri biber meyveli bitki. B. Aynı bitki üzerinde dolmalık ve kopya biber. C. Meyve tutumundaki anomalilikler. D. Tohum bağlamayan meyveler.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.12. Yaprak alan ölçümleri. A. Yaprak örneklerinin alınması B. Yaprak örneklerinin paketlenmesi. C. Yaprak örneklerinin kuru buz kutularında saklanması. D. Yaprak alanlarının LI-COR, LI-3000 C model yaprak alan ölçerde ölçümü. 35	
3.13. Ploidi belirlemek amacıyla biber yapraklarının alt yüzeyindeki epidermiste yer alan stomaların boyut ve sayılarının ölçümü 36	36
3.14. Flow sitometri analizleri için örneklerin alınması. A. Büyüme ucundan geriye doğru yalınacak yaprağın belirlenmesi. B. Yaprakların alınması. C. Kabafiltre kağıdı arasına yaprakların konulup nemlendirilmesi. D. Örneklerin 2. Kaba filtre kağıdıyla kapatılması. 37	37
3.15. Çiçeklerde kendileme işlemlerinin yapılması. A. Kendileme kesesinin çiçeğe takılması. B. Çiçeklerine kendileme keseleri takılmış bir bitki. C. Kendilenmiş çiçeğe tel takılması. D. Kendilenmiş bir meyve. 38	38
3.16. Tohum ve koltuk tomurcuklarında kolhisin uygulamasından elde edilen bitkilerde tohumların eldesi. A. Meyvelerde hasat olgunluğu. B. Meyve hasadı. C. Tohum ayırma ve çıkarma. D. Tohum kurutma. E ve F. Tohumların zarflara konulması ve +5°C sıcaklıkta depolanması. 39	39
4.1. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen çıkış oranları (%)..... 43	43
4.2. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen çıkış oranları (%)..... 44	44
4.3. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve enleri (cm) 46	46
4.4. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve enleri (cm) 46	46
4.5. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve boyları (cm) 48	48
4.6. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve boyları (cm) 48	48
4.7. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin meyve sayıları (adet/bitki) 49	49
4.8. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin meyve sayıları (adet/bitki) 50	50
4.9. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitki boyları (cm)..... 51	51
4.10. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitki boyları (cm)..... 51	51
4.11. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin çiçek çapları (mm) 53	53
4.12. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin çiçek çapları (mm) 54	54
4.13. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin yaprak alanları (cm ²)..... 55	55

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.14. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin yaprak alanları (cm ²).....	56
4.15. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma sayısı (adet/bitki).....	59
4.16. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle % 0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma sayısı (adet/bitki).....	59
4.17. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma eni (µm).....	61
4.18. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma eni (µm).....	61
4.19. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma boyu (µm).....	63
4.20. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle % 0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma boyu (µm).....	63
4.21. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması yapılan ortalama koltuk tomurcuğu sayıları (adet/bitki).....	68
4.22. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması yapılan ortalama koltuk tomurcuğu sayıları (adet/bitki).....	69
4.23. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama süren göz sayısı (adet/bitki).....	70
4.24. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama süren göz sayısı (adet/bitki).....	70
4.25. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sürmeyen göz sayısı (adet/bitki).....	71
4.26. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sürmeyen göz sayısı (adet/bitki).....	72
4.27. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sera sürgün sayısı (adet/bitki).....	73
4.28. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sera sürgün sayısı (adet/bitki).....	74
4.29. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu meyve eni ortalama değerleri (cm)	75
4.30. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve eni ortalama değerleri (cm)	75
4.31. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve boyu ortalama değerleri (cm)	76
4.32. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve boyu ortalama değerleri (cm)	77

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.33. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu meyve sayısı ortalama değerleri (adet/bitki).....	78
4.34. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve sayısı ortalama değerleri (adet/bitki).	79
4. 35. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki boyu ortalama değerleri (cm).	82
4.36. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki boyu ortalama değerleri (cm).....	83
4.37. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu sürgün çiçek çapı ortalama değerleri (mm).	84
4.38. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu sürgün çiçek çapı ortalama değerleri (mm).....	85
4.39. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu yaprak alanı ortalama değerleri (cm ²).....	87
4.40. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu yaprak alanı ortalama değerleri (cm ²).....	87
4.41. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma sayısı ortalama değerleri.	90
4.42. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma sayısı ortalama değerleri	91
4.43. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma eni ortalama değerleri.	93
4.44. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma eni ortalama değerleri.....	93
4.45. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma boyu ortalama değerleri	95
4.46. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma boyu ortalama değerleri.	95
4.47. Tohumlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması sonucu flow sitometri analizlerinde elde edilen tetraploid bitki sayıları.	98
4.48. Koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması sonucu flow sitometri analizlerinde elde edilen tetraploid bitki sayıları.	100

ÇİZELGELER DİZİNİ

Cizelge

Sayfa

3.1. Antalya bölgesi uzun yıllar ve deneme süresince gerçekleşen aylık ortalama sıcaklık değerleri	25
3.2. Kapy biber tohumlarına uygulanan kolhisin doz ve süreleri.	26
3.3. Kapy biber fidelerinin koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulama doz ve süreleri.	30
4.1. Tohumlara kolhisin uygulamasının çıkış oranı, meyve karakterleri, bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri.	40
4.2. Tohumlara kolhisin uygulamalarının yapraklardaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu üzerine etkileri.	57
4.3. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasının süren, sürmeyen sürgün sayıları, meyve eni, meyve boyu ve meyve sayısı üzerine etkileri.....	65
4.4. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasının bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri.....	80
4.5. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamalarının yapraklardaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu üzerine etkileri.....	89
4.6. 2019 yılı tohum uygulamalarında stoma sayısı, morfolojik gözlemler ve flow sitometri analizine göre tetraploid bitki sayıları.	98
4.7. 2019 yılı koltuk tomurcuğu uygulamalarında stoma sayısı, morfolojik gözlemler ve flow sitometri analizine göre tetraploid bitki sayıları	99

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrad derece
g	gram
mg	miligram
kg	Kilogram
ml	Mililitre
l	Litre
µm	Mikrometre
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
mm	Milimetre
mm ²	Milimetre kare

Kısaltmalar

FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
β-karotene	Beta-karoten
DH	doubled haploid
NAA	Naftalen asetik asit
2,4 D	Diklorofenoksiasetik asit
N	Azot
K	Potasyum
FC	Flow sitometri
SÇKM	Suda çözünür kuru madde
DNA	Deoksiribo nükleik asit
Sa	Saat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biber; insan beslenmesindeki önemi, üretim miktarı ve çok yönlü tüketim şekli sayesinde önde gelen sebze türlerinden biridir. Dünyada yıllık 37 milyon tona yakın biber üretimi yapılmaktadır (Faostat, 2019). Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen Solanaceae familyası sebzelerinden olan biber, 792.617 da alanda toplam 2.6 milyon ton üretim miktarı ile aynı familyadaki domatesten sonra 2. sırada en fazla üretilen sebzedir. Türkiye, biber üretiminde Çin ve Meksika'dan sonra üçüncü sırada yer alarak tek başına dünya biber üretiminin %6.9'unu karşılamaktadır. Türkiye'yi Endonezya, İspanya, Nijerya ve Mısır izlemektedir (Anonim, 2019).

Biber, çok farklı formları bulunan ve çok yönlü değerlendirilebilen, ekonomik değeri yüksek sebze türleri arasında yer almaktadır. Seralarda yetiştirilen biber tiplerinin pazar payları incelendiğinde Kapyra ve sivri biber tiplerinin 20'şer milyon adet çekirdek (tohum sayısı) ile ilk sırayı aldıkları görülmektedir. Ülkemizde 2018 yılı toplam biber üretimimiz 2554 bin ton olup, bunun 1128 bin ton'u kapyra biber üretimi oluşturmaktadır (TÜİK, 2018). 2019 yılındaki Türkiye biber üretimi içerisinde % 47'lik bir payı, kapyra tipi biberler almıştır (TÜİK, 2020).

Ülkemizde biber yetiştiriciliği sivri, çarliston, dolmalık (iri kesit) ve salçalık/kapyra olmak üzere 4 ana kategoriye ayrılmaktadır. Biber taze tüketim ve sanayi hammaddesi olarak iki farklı amaçla üretilmektedir. Sanayi için biberler genel olarak konserve başta olmak üzere, salça, turşu, acı sos, işlenmiş et ürünlerinde katkı şeklinde kullanılmak üzere üretilmektedir (Vural vd., 2000).

Biber ihracatı global pazarlar incelendiğinde en büyük pazar payına sahip (%65) üç ülkenin Meksika, İspanya ve Hollanda olduğu görülmektedir. Türkiye'nin pazar payı ise 2019 yılı itibarıyla %2.2 dir. Dünya biber pazarının hacmi ise yaklaşık 5.5 milyar dolar mertebesinde. Türkiye'nin tarım gücü ve potansiyeli düşünüldüğünde bu pazardan aldığı pay oranının oldukça düşük olduğu anlaşılmaktadır. 2017 yılı sebze tohumluğu üretim miktarımız 3832 ton'dur. Aynı yıl toplam tohum ihracatımız 136.2 milyon dolar iken

bunun 19,6 milyon dolarlık (%14.38) kısmını sebze tohumları oluşturmaktadır. Ülkemiz sebze tohumu ihracatında domates, hıyar, biber, kavun ve karpuz öne çıkan türlerdir. Ülkemizin biber tohumu ithalatı için ödenen döviz miktarı yıllara göre artmış (2020: 15 milyon \$, 2019: 13.2 milyon \$, 2018: 10,5 milyon \$), buna karşılık biber tohumu ihracatımız çok düşük seviyelerde kalmıştır (2020: 2,5 milyon \$, 2019: 1.6 milyon dolar, 2018: 1.2 milyon \$) (TÜİK, 2017, 2018, 2019, 2020). Örnek olarak 2017 yılındaki biber tohumu ithalat ve ihracat verileri incelendiğinde; 4303 kg biber tohumluğu ihracatından 1.2 milyon \$ gelir elde edildiği, 2497 kg biber tohumluğu ithalatına ise 13.4 milyon dolar ödendiği dikkat çekicidir. İhracatımızın yaklaşık 10 katını ithal ettiğimiz biber türünde, ihracatımızdaki miktar olarak yüksek değere rağmen gelirden aynı oranda karşılığının bulunmaması, üstün niteliklere sahip F1 hibrit biber çeşitlerimizin olmadığını göstermektedir. Nitelikli çeşitlerin ıslahının ne kadar önemli olduğu bu hesaplardan da anlaşılabilir gibi çok açıktır.

Biber, insan diyetinde önemli bir besin kaynağıdır ve güçlü antioksidanlar olan fenolik bileşiklerin yanı sıra mükemmel bir A ve C vitamini kaynağıdır. Bu bileşiklerin seviyeleri genotip ve olgunluğa göre değişebilir (Howard vd., 2000). *Capsicum annuum*'un meyveleri, yoğun kırmızı rengini esas olarak meyve olgunlaşması sırasında sentezlenen karotenoid pigmentlere borçludur. Meyvelerin tam olgunluk halindeki kırmızı renginden sorumlu olan karotenoidler, sadece *Capsicum* cinsinde bulunabilen capsanthin, capsorubin ve capsanthin 5,6-epoksit maddeleridir (Davies vd., 1970; Mínguez-Mosquera ve Hornero-Méndez, 1994). Genel olarak, karotenoidlerin, askorbik asitlerin, flavonoidlerin, fenolik asitlerin ve diğer kimyasal bileşenlerin konsantrasyonu, biber olgunlaştıkça artarken, lutein seviyesi azalmaktadır. Siyah, mor ve beyaz biberler; yeşil, sarı, kırmızı, kahverengi veya turuncu biberlere kıyasla daha düşük askorbik asit seviyeleri bulundurlar. Provitamin A, sarı çeşitler dışında çoğu çeşitte yüksek seviyelerdedir ve koyu kırmızı-kahverengi biberler, diğer renkli biberlere kıyasla en yüksek provitamin A aktivitesine sahip bulunmuştur (Simonne vd., 1997).

Diğer yandan, canlı organizmalardaki lipid peroksidasyonu, lipid oksidasyonu olayı ile yaşlanma, kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar dahil çok çeşitli dejeneratif hastalıklar arasındaki olası ilişki; bilim dünyasında mercek altındadır. Bu nedenle antioksidanlar, oksidatif hasara karşı insanlardaki hücrelerin bir savunma mekanizması

olarak lipid peroksidasyonunun yani hücresel bozulmaların önemli inhibitörleridir (Vimala ve Ademan, 1999). Bu nedenle antioksidan özelliği yüksek olan biber gibi ürünlerin insan sağlığı bakımından önemi her geçen gün artmaktadır. Kapy biberlerin de aralarında yer aldığı kırmızı biberlerde toplam fenolik içerik ve toplam antioksidan aktivite, çeşitli sebzeler arasında en üst sırada yer almaktadır (Chu vd., 2002).

Guil-Guerrero vd. (2006), 10 farklı ticari biber çeşidi ve yerel genotipin besin değerleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında nem, ham protein, mevcut karbonhidratlar, lipitler, diyet lifi, küller, enerji değeri, C vitamini, yağ asitleri, karotenoidler, mineraller, nitrat ve oksalik asit miktarları üzerinde inceleme yapmışlardır. Analizlerin sonuçları, ticari biber çeşitlerinde geleneksel olanlara göre daha yüksek C vitamini ve karotenoid miktarları bulunduğunu göstermiştir. Biber meyveleri özellikle renkli aşamalarda, bazı besinler ve antioksidan bileşikler, özellikle C vitamini, mikro elementler ve karotenoidler bakımından iyi birer kaynak olarak önerilmiştir.

Kapy biberler; taze tüketimin yanı sıra, köz biber konservesi, acı biber sosu, biber salçası, yağlı biber turşusu, ezilmiş-öğütülmüş olarak, kurutulmuş, taze soğutulmuş, dondurulmuş vb. birçok tüketim alanına sahiptir ve gıda işleme sanayisi için önemli bir üründür. Ülkemizde 2017 yılı TÜİK rakamlarına göre işlenmiş biber ürünleri ihracatı toplam 115.2 milyon dolardır. Yine 2017 yılı TÜİK rakamlarına göre işlenmiş kapy biber ürünleri ihracatı ise 28.8 milyon dolardır. Kapy biberlerde nitelikli yerli hibrit çeşitlerin geliştirilmesi öncelikli konular arasındadır.

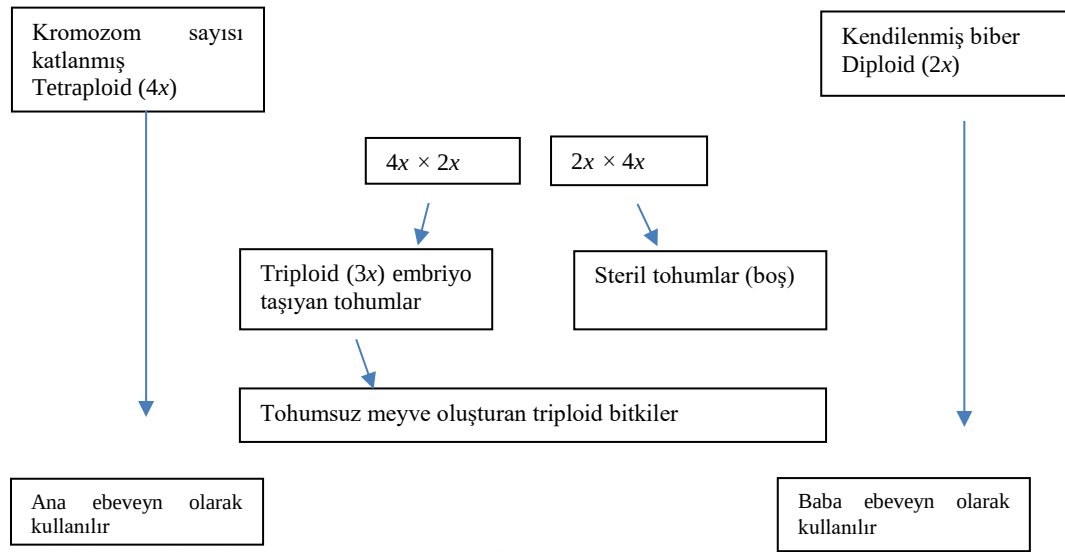
Solanaceae familyasına giren *Capsicum* cinsi, içerisinde 30 kadar türün bulunduğu geniş bir gruptur. Günümüzde bunlardan *Capsicum annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L. ve *C. pubescens* Ruiz & Pav. türlerinin kültürü yapılmaktadır. *Capsicum* türleri diploid olup temel kromozom sayısı $n=12$ ($2n=2x=24$)'dir (Greenleaf, 1986).

Kapy biberden elde edilen biber sosları ve köz biber imalatı iş akış sürecindeki aşamalardan biriside sap çıkarma ve çekirdek çıkarma / ayırma sürecidir. Özellikle köz biber işleminde sap ve çekirdek çıkarma işlemi el işçiliği ile yapılmaktadır. Hıyar, karpuz ve patlıcanda olduğu gibi son yıllarda tüketici isteklerindeki eğilimin bir sonucu

olarak, çekirdeksiz biber çeşitlerinin geliştirilmesine yönelik bir talep söz konusudur. Bu talep özellikle biber sosu, konservesi, köz biber, kurutulmuş veya öğütülmüş olarak birçok alanda kullanılan kapy biberde daha fazladır. Kapy biber işleyen sanayiciler bakımından çekirdeksiz kapy biber, işleme kolaylığı sağlayacaktır. Böylece gerek biber tohumu gerekse de işlenmiş kapy biber ihracatımızın artması sağlanacaktır. Poliploid ıslahı kullanılarak elde edilecek olan çekirdeksiz kapy biberin sağlayacağı tüketim kolaylığı ile tüketiciler ve işleme kolaylığı ile de sanayiciler tarafından tercih edileceği öngörülmektedir. Çekirdeksiz kapy biber çeşitlerinin işleme sanayisi açısından işçilik maliyetlerini düşürme ve çekirdeksiz temiz ürün elde etme bakımından önemi büyüktür. Ayrıca çekirdeksiz meyvelerin çekirdekli olanlara göre %25 daha fazla brix'e sahip olması (Syngenta'nın Anegello çeşidi) ve β -karotene içeriğinin 10 kat daha fazla olması da (Ishikawa vd., 2004) besin değeri açısından çekirdeksiz biberlerin önemli bir avantajıdır. Çekirdeksiz kapy biber elde edilmesi, piyasadaki mevcut biber çeşitlerinden farklı bir özelliğe sahip olması tüketici ve sanayici bakımından tercih edilebilirliğini artıracaktır. Yine çekirdeksiz kapy biberin yurt içi ve yurt dışı tohum ticaretinde ön plana çıkacağı ve ülkemiz biber tohumluğu ihracatında artışa neden olacağı düşünülmektedir.

Biberde tohumuz meyve oluşumu (partenokarpi), triploid yapıdaki bitkilerde ortaya çıkmaktadır. Karpuzda olduğu gibi triploid tohum elde edilmesi için tetraploid hatların ana ebeveyn olarak kullanılması gerekmektedir. Diploid hatların tetraploid polenlerle tozlanması sonucunda boş ve steril tohumlar meydana geldiği Mohr (1986), tarafından bildirilmektedir. Şekil 1.1'de triploid biber elde edilmesi şematik olarak gösterilmiştir.

Tohumuz kültürler için, tetraploid ($4x=48$) dişi birey ile diploid ($2x=24$) erkek bireyin tozlanmasıyla hibritler oluşur. Oluşan tohumlar triploid ($3x=36$) yapıda olup ekildiklerinde triploid bitkiler gelişir. Triploid bitkide üç set kromozom vardır ve bu üç set kromozom bölünemediğinden dolayı triploid hibritler kısır ve meyveler tohumuzdur. Triploid generasyon bireylerinin elde edilebilmesi için öncelikle katlama işlemine tabi tutulacak diploid hatların belirlenmesi, tetraploid bitkilerin elde edilmesi gerekmektedir.(İnan, 2007).



Şekil 1.1. Triploid biber elde edilmesi (Sarı, 1994'ten değiştirilerek).

Ploidi seviyesi arttırılmış bitkilerin elde edilmesinde kromozom katlaması için bitki ıslahçıları tarafından antimitotik maddeler kullanılır. Bu maddeler mitoz bölünme sırasında iğ iplikçiklerinin oluşumunu önleyerek hücre içindeki kromozom sayısının iki katına çıkmasını sağlamaktadır. Bu amaçla kullanımı en yaygın olan kimyasal madde kolhisindir. Kolhisin, güz çiğdemini (*Colchicum autumnale* L.) köklerinden elde edilen alkaloid yapısında kuvvetli bir zehir olup; renksiz, alkol, kloroform ve soğuk suda eriyen; sıcak suda ve eterde erimeyen bir maddedir. Kolhisin, uygulandığı dokuların hücrelerinde mitoz bölünmenin metafaz safhasında mikrotubule sentezini durdurmakta; bu sırada sayısı iki katına çıkmış kromozomların kutuplara çekilmesi mümkün olmadığından, kromozom sayısı iki katına çıkmaktadır (Köksal, 1999; Amanah vd., 2016).

Türkiye, biber üretiminde Çin ve anavatanı olan Meksika'dan sonra dünyada üçüncü sıradaki üretici ülke olmasına ve biberde geniş bir çeşitlenme alanı olmasına rağmen, çekirdeksiz biber tohumu üretimi ve buna yönelik partenokarpik meyve oluşturan bir çeşit bulunmamaktadır. Sanayide önemli fayda sağlayacak çekirdeksiz kapa biber çeşidinin geliştirilmesi, biber ıslah hedefleri arasında yer alan bir özelliktir. Bu araştırma ile yerli çekirdeksiz kapa biber çeşitleri geliştirme hedefine yönelik olarak, tetraploid ana ebeveyn geliştirilmesi için farklı in vivo kromozom katlama yöntemleri üzerinde çalışılmıştır. Bu amaçla en etkili ve pratik protokolün belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Biberlerde tohum içermeyen meyvelerin ortaya çıkmasında farklı fizyolojik ve genetik temeller rol oynayabilmektedir. Bunlardan ilki döllenme olmaksızın tohumuz meyve oluşumu yani partenokarpi, ikincisi ise poliploidi ıslahından yararlanarak triploid çeşitlerin geliştirilmesi sayesinde ticari olarak kullanımı öne çıkan döllenme sonrasındaki tohumuz meyve oluşumudur.

2.1. Biberde Tohumuz Meyve Oluşumu ve Poliploidi

Partenokarpi birçok bitki türünde iyi bilinen, doğal olarak oluşan veya farklı hormonların uygulanması gibi dışsal uyarıcılar tarafından teşvik edilen bir mekanizmadır. Birçok türde partenokarpinin kaynağı genetik veya epigenetik temellere dayanır. Partenokarpi bitkilerde mutasyonlar sonucunda oluşabilmekte ve bitkinin çoğaltılma şansı azalmaktadır. Bu da partenokarpiye neden nadir olarak rastlandığının belki de bir nedeni olarak görülebilir. Tüketiciler için partenokarpik meyveler oldukça cazibedir. Döllenme olmaksızın tohumuz meyve oluşumu, bitki yetiştiriciliğinde çekirdeksiz meyve elde edilmek istenen muz, mandarin, üzüm, yenidünya, Trabzon hurması gibi meyve türlerinde avantaj sağlayan bir özelliktir. Hıyarda gynoik çeşitlerde döllenmeye ihtiyaç duymaksızın dişi bitkilerde açan çiçeklerin doğrudan meyve oluşturmaları sayesinde tohumuz hıyar meyveleri elde edilmiş olur. Domates ve patlıcanda ise döllenme için gerekli sıcaklık koşulları sağlanamayan yetiştirme dönemlerinde büyüme düzenleyici uygulamaları yapılarak döllenme olmadan partenokarpik yani tohumuz meyve oluşumu uyartılır. Doğal partenokarpi yoluyla çekirdeksiz biber çeşitlerinin elde edilmesi şu ana kadar mümkün olmamıştır ve bu yüzden partenokarpiyi teşvik için kimyasal madde uygulamalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Birçok sebze türünde partenokarpinin teşvik edilmesi için oksinler, gibberellinler ve sitokininler ve oksin taşınımını engelleyen inhibitörler (Kim vd., 1992) yaygın ve başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Heuvelink ve Körner (2001) biberlerde meyve dökümünü önlemek partenokarpik meyve oluşumunu teşvik etmek ve meyve kalitesini arttırmak için stigmaya oksin uygulamışlardır. Böylece kendine tozlanma engellenmiş, tohumuz meyve oluşumu indüklenmiştir. Özellikle olumsuz çevre koşullarında çiçek ve meyve dökümünün önlenerek partenokarpik meyve tutumu sağlanabileceğini bildirmişlerdir.

Biber bitkileri 14 °C'nin altındaki gündüz sıcaklıklarında veya 26 °C'den daha yüksek gece sıcaklıklarında yetiştirildiğinde meyve tutumunda ortaya çıkan sorunlar nedeniyle bol miktarda partenokarpik meyveler elde edilmektedir. Ancak içinde tohum bulunmayan bu meyveler küçük ve şekilleri bozuk olduğundan ticari değerini kaybetmektedir. Halk arasında 'takoz meyve' de denen bu tip meyveleri vermeye yatkın olan genotipler, son yıllarda yapılan seleksiyon çalışmaları ile iyileştirilmiştir. Partenokarpik olarak daha iri ve düzgün şekilli meyve veren tipler geliştirilmiştir (Bosland ve Votava, 2000).

Partenokarpinin ıslah programlarındaki avantajlarını değerlendirmek amacıyla, Shishitoh No. 562 biber çeşidinde emaskülasyon ve stillerin kesilerek uzaklaştırılmasıyla elde edilen çekirdeksiz meyvelerde, meyve büyüklüğü, β -karotene, kapsisin ve askorbik asit içerikleri belirlenmiştir. Olgun çekirdeksiz biber meyvelerinde β -karotene (44.07 mg/g), kapsisin (1.73 mg/g) ve dihidrokapsisin (1.12 mg/g) içerikleri, çekirdekli meyvelere göre 10 kat daha fazla ölçülmüştür. Bununla birlikte çekirdekli ve çekirdeksiz meyvelerde askorbik asit miktarları aynı olurken, çekirdeksiz meyvelerin uzunluğu çekirdekli olanlara göre %50 daha kısa olarak belirlenmiştir. Partenokarpik biber meyvelerinde meyve boyu kısalması tipiktir (Ishikawa, 2004).

Karpuzlardaki çekirdeksizlik durumu, buraya kadar sözü edilen partenokarpik meyve oluşumundan farklı şekilde elde edilmektedir. Burada bir dölleme ve meyve tutumu olması gereklidir. Dölleme olmaksızın meyve oluşumu söz konusu değildir. Karpuz meyvelerindeki çekirdeksizlik, triploid kromozom sayısına sahip olan bitkilerde tohum oluşamaması prensibi çerçevesinde gerçekleşir. Biberlerde geliştirilmesi planlanan tohum içermeyen çeşit ıslahındaki izlenen ve bu çalışmada da planlanan sistem, poliploidi ıslahı kapsamında değerlendirilmektedir. Dışsal hormon veya gametosit uygulamaları ya da erkek kısırlık genini bulunduran ana ebeveynler kullanarak partenokarpik biberler elde

edilmekteyse de, karpuzlarda olduğu gibi tetraploid ve diploid biberlerin melezlenmesi sonucunda oluşan triploid hibrit tohumların yetiştirilmesiyle (İnan, 2007) tohumuz meyvelerin elde edilmesi daha kalıcı ve uygulaması güvenli bir yöntemdir.

Poliploidi hem yabani hem de kültür bitkilerinde evrimsel süreçte etkili başlıca sistemlerden biridir. Poliploid organizmalar diploid akrabalarına göre çoğunlukla daha yüksek vigor (güç), bazı durumlarda farklı özellikler açısından üstün nitelikler gösterirler. Poliploidlerin bu dikkat çekici üstünlüğü, bitki çeşitlerinin geliştirilmesini sağlamak için doğal veya sentetik yollar ile poliploidiyi teşvik eden birçok bitki ıslahçısının son yüzyılda temel hedefi olmuştur. Poliploidlerin bitki ıslahında sağladığı önemli sonuçlar, bitki organlarındaki irilik artışı (gigas etkisi), zararlı mutasyonlardan koruması, heterozigoti ve heterozisi arttırmasıdır. Poliploid bitkilerde yüksek verime sahip olma, ürün kalitesinde artış, biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransın yüksekliği olarak sayılabilen üstün özellikler bulunabilmektedir. Poliploidi ıslahı ile çekirdeksiz (tohumuz) çeşitlerin üretimi mümkün olur. Bunun yanı sıra türler arası hibrit bireylerdeki kısırılık özelliği, genom katlama işlemi sayesinde onarılabılır ve fertil türler arası hibrit bitkiler elde edilebilir (Sattler vd., 2016).

Doğrudan poliploidi ıslahı kapsamında olmasa da kromozom katlamasıyla ilgili olarak değinilmesi gereken bir konu da dihaploidlerdir. Dihaploidler (DH=doubled haploid), haploid hücrelerin kromozom katlanmasıyla elde edilir. Yapay olarak dihaploidlerin elde edilebilmesi, bitki ıslahı için önemlidir. Katlanmış haploidlerden elde edilen homozigot hatlar ıslah programları için son derece önemlidir. Dihaploidizasyon tekniği, bitki ıslahçılarına bir generasyonda saf hat eldesini sağlamakta ve yeni çeşitlerin elde edilmesinde zaman kazandırmaktadır. Katlanmış haploidlerin oluşturulmasında; haploidlerin eldesi ve haploidlerde kromozom katlaması olmak üzere iki aşama vardır. Dihaploid bitkiler; hibrit çeşit ıslahında homozigot hatların geliştirilmesi, mutasyon çalışmaları, resesif genlerin açığa çıkması sayesinde biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık, sitogenetik çalışmalar, haploid seviyesinde genetik çeşitliliğin teşvik edilmesi, evrimsel çalışmalar ve gen haritalaması gibi birçok alanda fayda sağlamaktadır. DH'lerin klasik ıslah ile elde edilmiş saf hatlara karşı; bir yıl veya bir sezonda saf hat elde edilmesi, çeşit geliştirmek için geçen süreyi kısaltması (3-5 yıl), heterozis oluşumunda olanak sağlaması, maliyetin ve giderin daha az olması, resesif mutantların tanımlanmasının

kolay olması, popülasyon haritalamasının kalıcı olması gibi avantajlı yönleri vardır. Kolhisin uygulamaları; haploid embriyoya uygulama (%0.001 ile %1 arasında, %0.2 daha yaygın), sürgün ucu (%0.1 ile %1 arası), tomurcuklara gliserin içinde kolhisin (%10'luk gliserin içinde %0.2 ile %0.4 kolhisin) şeklinde uygulanmakta olup, en yaygın ve etkin olanı genç bitkilere sürgün uçlarına yapılan uygulamadır (Badu vd., 2017). Kromozom katlaması yapılacak haploid bitkiler öncelikle budanmakta, bunun ardından yaprak koltuklarındaki tomurcuklarının üzerine yerleştirilen %0.5'lik kolhisin çözeltisi emdirilmiş pamuklar, 2 saat süreyle bekletilmektedir. Alüminyum folyo ile kapatılarak buharlaşma önlenmektedir. Uygulamanın ardından bu kısımlar saf su ile yıkanmakta ve etiket takılmaktadır (Alremi vd., 2014). Gelişen sürgünler beklenerek polen veren çiçeklerin açması sayesinde kendileme yapılmakta, böylece saf hatlar elde edilmektedir.

Haploid bitkilerden dihaploidlerin elde edilmesi veya diploid bitkilerden tetraploidlerin oluşturulması, ya da türler arası melezlemelerden ortaya çıkan kısır ve farklı ploidi (kromozom sayısı) seviyelerinde olan bitkilerin katlanması işlemlerini uygulama yöntemi bakımından bir arada değerlendirmek olasıdır. Uygulanan kimyasal madde, organ, uygulama süresi ve *in vivo/in vitro* koşullarda uygulama yapılması gibi konular bazında yapılacak bir literatür incelemesinin daha elverişli olacağına kanaat getirilerek aşağıda bu bilgilere yer verilmiştir:

Kromozom katlanması bazı bitki türlerinde kendiliğinden meydana gelmekle birlikte, pratikte çoğunlukla kimyasal madde uygulamalarıyla gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla azot protoksit, kafein, kloral hidrat, asenaften, sulfinilamid, etil merkuriklorid, heksaklorosikloheksan ya da kolhisin gibi antimitotik özellik gösteren kimyasallardan yararlanılmaktadır. Yine bu amaçla 2,4 D ve NAA gibi hormonlar ve trifluralin ve orizalin gibi bazı herbisitler de kullanılabilir. Günümüzde kromozom katlaması için bitki ıslahçıları tarafından en yaygın kullanılan kimyasal madde, kolhisindir. Kimyasal formülü $C_{22}H_{25}O_6$ olarak gösterilen 'kolhisin', değişik kaynaklarda 'kolkisin', 'kolşisin' veya 'kolçisin' olarak da ifade edilebilmektedir. Kolhisin, uygulandığı dokuların hücrelerinde mitoz bölünmenin metafaz safhasında iğ iplikçiklerinin oluşumunu engeller ve dolayısı ile replikasyona uğramış kromozomların kutuplara çekilmesini önleyerek, kromozom sayısının iki katına çıkmasını sağlar (Tepe, 2001). Uygulama, kavunda olduğu gibi tepe tomurcuklarının kolhisin çözeltisi içerisine *in vivo* koşullarda bandırılması şeklinde

olabilmektedir. Bu uygulama biçimlerinin tümü, katlanmış haploidlerin elde edilmesinde kullanılabileceği gibi, diploid bitkilerden yeni poliploidlerin elde edilmesi amacıyla da kullanılabilir (Ellialtıoğlu vd., 2001).

Tanaka (1950), patlıcanda 9 farklı çeşitte kolhisin uygulamalarıyla tetraploidler elde etmiştir. Tetraploidlerin çoğunda fertilité bakımından sorunlar ortaya çıksa da 'Uonuma Purse' patlıcan çeşidinde verimlilikte iyileşme olmuş, ayrıca böceklerle ve kuraklığa karşı diploid bitkilere göre daha yüksek dayanım elde edilmiştir. Tetraploid bitkilerin su, N ve K alımının daha fazla olduğu, yaprak alanı ve fotosentez ürünlerindeki artışla birlikte homojen ve bol meyve elde edilebildiği belirtilmiştir.

Chili biberinde (*Capsicum annuum* var. 'cerasiformis') kolhisin uygulamasıyla oktoploidi (8x) oluşturulmuş ve iki adet oktoploid bitkinin sitomorfolojik özellikleri incelenmiştir. Araştırmada %0.3'lük kolhisin çözeltisine batırılan pamuklar 4 yapraklı biber bitkilerine 12, 18 ve 24 saat boyunca uygulanmıştır. Genel olarak oktoploidler, tetraploidlerle karşılaştırıldığında gigas karakterleri sergilememiş; tersine, gelişme geriliği ve infertilite sorunları ortaya çıkmıştır. *Capsicum* için optimum ve istenen poliploidi seviyesinin muhtemelen tetraploid olduğunu düşündürecek şekilde, gelişme kuvveti düşük 8x bitkileri tanıtılmıştır. Bu bitkilerde mayoz oldukça düzensiz bulunmuş, polen ve tohum verimliliği çok düşük olmuştur. Ploidi seviyesinin tetraploidden daha ileri olmasının *Capsicum*larda bitki gücü azalması, verimliliğin düşmesi ve bitki yaşamasında sorunlar oluşturabileceği belirlenmiştir (Panda vd., 1984).

Chigusa biber çeşidinin tohumlarına kolhisin uygulamasıyla tetraploid bitkiler elde edilmiştir. Kolhisin uygulanmış tohumlardan elde edilen bitkilerin flow sitometri analizi bitkilerin yaklaşık %20'sinin tetraploid olduğunu göstermiştir (Ishikawa vd., 1997).

Ellialtıoğlu vd. (2006), patlıcanda anter kültürüyle elde edilen haploid bitkilerin kromozom sayılarını katlamak amacıyla kolhisin uygulaması yapmışlardır. 1 veya 2 saat süreyle %0.5 ve %1 dozlarında kolhisin çözeltisi içinde bekletilen mikro çelikleri in vitro koşullarda katlamaya çalışmışlardır. Haploid bitkilerin bir kısmını ise dış koşullara alıştırmışlardır. Sera koşullarında bitkiler önce budanmış daha sonra kolhisine (%0.5 ve %1 dozlarında) batırılmış pamukları 1 veya 2 saat süre ile koltuk tomurcuklarına

yerleştirmişlerdir. Yaptıkları bu uygulamaların sonucunda dihaploid ve yaşayan bitkilerin sayıları belirlenerek *in vivo* ve *in vitro* kolhisin uygulamaları kıyaslanmıştır. Çalışma sonucunda patlıcanda haploid bitkilerin kromozom sayılarının katlanmasında *in vitro* kolhisin uygulamasının uygulama kolaylığı ve erken çiçeklenme bakımından avantajlı bulunmuştur. Uygulama yapılan bitkilerin hepsinde uygun doz ve sürede yanıt alınabilmesi bakımından *in vivo* kolhisin uygulaması uygun bulunmuştur. Tek boğum çeliklerinin *in vitro* koşullarında %0.5'lik kolhisinde 2 saat bekletilmesi ile *in vivo* bitkilerin koltuk tomurcuklarına kolhisin (%0.5) batırılmış pamuklarla 2 saat ya da %1 kolhisine batırılmış pamuklarla 1 saat yapılan uygulamaların en elverişli oldukları gözlemlenmiştir.

Liu vd. (2007), Londra çınarı bitkisinde tetraploid bitki elde etmek amacıyla yaptıkları çalışmada kromozom katlamak amacıyla kolhisini tohumlara ve bitki büyüme ucuna uygulamışlardır. Kolhisinin kotiledon aşamasında fidelerin büyüme ucuna doğrudan uygulandığında gövde ve yaprak büyümesinin ve kök gelişiminin geçici olarak durduğunu daha sonra tekrar gelişmeye başladığını gözlemlemişlerdir. Çalışmada yer alan 12 bitkinin ploidi seviyeleri FC (flow sitometri) yöntemiyle incelenmiş olup tetraploid, miksoploid ve diploid bitkiler elde edilmiştir. Tetraploid bitkilerin morfolojik gözlemlerinde stoma büyüklüğünün arttığı ve daha kalın, geniş yapraklara sahip oldukları gözlemlenmiştir.

İnan (2007), tetraploid karpuz bitkisi elde etmek için yaptığı çalışmada; *in vivo* ile *in vitro* yöntemlerin tetraploid bitki elde edilmesi üzerindeki etkinliğini incelemiştir. *In vivo* yöntemlerin ilkinde kolhisin çözeltisi 7 farklı dozda (%0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ve 0.6) ilk gerçek yaprak oluşunca bitki büyüme ucuna damlatılmış; ikinci yöntemde ise kolhisin %0.0, %0.5 ve %1.0 dozlarında hazırlanıp serada yetişen diploid bitkilerin büyüme uçları daldırılmıştır. *In vitro*'da yapılan denemelerin ilkinde 4 farklı BA dozu (0, 1.2 ve 4 mg/L) içeren MS kültür ortamında kotiledonlardan bitki rejenerasyonu sağlanmış, ikinci yöntemde *in vitro* diploid mikro çeliklere kolhisin çözeltisinin 3 dozu (%0.0, 0.5 ve 1.0) uygulanmıştır. Yapılan bu araştırma sonucunda tetraploid bitki eldesi için kullanılan yöntemlerden en başarılısı *in vitro* koşullarda 4 mg/L BA içeren MS ortamında bitki rejenerasyonu ile gerçekleşmiş olup katlama oranı %60.4 olarak belirlenmiş, diğer başarılı yöntem %36.4 oranında tetraploid bitki elde edilen *in vitro* kolhisin uygulaması (%0.5 dozu) olarak gözlemlenmiştir. Çalışmada katlama başarısı %5 oranında kalan *in vivo* yöntemleri yeterli bulunmamıştır. Bu çalışmada ploidi seviyelerinin belirlenmesinde

morfolojik ve sitolojik gözlemlerden yararlanılmakla birlikte FC analizleri de kullanılmıştır.

Lehrer vd.nin (2008), *Berberis thunbergii* bitkisinde yaptıkları çalışmada kolhisin ve orizalin çözeltileri kullanılmıştır. Tohumlar %0.2, %0.5, %1, %2 dozlarında kolhisin ve %0.002, %0.005, %0.01, %0.02 dozlarında orizalin çözeltilerinde 6, 12 ve 24 saat bekletilmiştir. Serada 6 ve 52 haftalık büyümenin ardından ploidi seviyeleri FC ile belirlenmiştir. Bu çalışmayla kullanılan her iki kimyasalın da tetraploid bitki elde etmekte etkili olduğu saptanmıştır. Tohumların hayatta kalma oranları, kullanılan kimyasalların doz ve süre artışı ile azalmıştır. Orizalin, kolhisine göre daha fazla tohum ölümüne sebep olurken hayatta kalan fidelerde ploidi seviyelerinde değişkenlik gözlemlenmiştir. Tetraploid bitki elde edilmesinde orizalinde %0.002 dozu (%28 tetraploid bitki), kolhisinde %0.05 ile %0.2 dozlarında başarılı sonuçlar alınmıştır. Her iki kimyasalda da bitkilerin yaprak kenarlarında düzensizlik ve deformasyonlar gözlemlenmiştir. Kolhisin kullanılan uygulamalarda orizaline göre fidelerde düşük toksite gözlemlenirken, orizalinin düşük dozlarında tetraploidi oluşumu daha dikkate değer olarak gözlemlenmiştir.

Omran vd. (2008), diploid karpuz hatlarından tetraploid karpuz bitkileri elde etmeyi amaçlamışlardır. Dinitroaniline'nin 12 ve 15 mg/L dozları ve kolhisinin 300 ve 500 mg/L dozlarını kullanarak tohumları 12-36 saat bu çözeltilerde bekletmişlerdir. En yüksek tetraploid bitki eldesi 24 saat boyunca 12 mg/L konsantrasyonunda dinitroanilin kullanılarak elde edilmiştir. Kolhisinin ise her iki dozunda da tetraploid bitki elde edilmiştir.

Prača vd. (2009), domateste in vitro tetraploid üretim için, nispeten hızlı, pratik ve güvenilir olan kolhisin kimyasalını kullanmışlardır. Fide sürgün uçları 8mM kolhisin ile 96 saat muamele edilmiş ve %11.11 tetraploid regenerasyonu elde edilmiştir. Tetraploidlerin (2n=48) doğrulaması flow sitometri ve kök uçları preparasyonlarında sitogenetik analizlerle gerçekleştirilmiştir.

Kolhisinin *Citrullus lanatus*'un üç genotipine ait fidelerin apikal meristemleri üzerinde etkisi, ploidi seviyesi, morfolojik özellik, kromozom sayısı ve flow sitometri teknikleri ile incelenmiştir. %0.3 kolhisin uygulamasında yüksek bir mutasyon olduğu ve

en yüksek mutasyon oranının %15.1'e kadar olduğu gözlemlenmiştir. Tetraploid bitkilerde diploidlere göre; yapraklarda uzunluk, genişlik ve kalınlığın daha fazla olduğu, taç yaprak boyutu ve perikarp kalınlığının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Kontrol bitkilerinin kromozom sayısı $2n = 2x = 22$ iken mutasyona uğramış bitkilerin kromozom sayıları 2 katına çıkmış ve $2n = 4x = 44$ olmuştur (Shi vd., 2010).

Acı biberde kolhisin kullanılarak poliploidi teşvik edilmiş, güçlü ve kuvvetli kök sistemine sahip bitkiler elde edilmiştir. Biber tohumları ve genç fidelerin sürgün uçlarına %0.05, %0.01, %0.2 ve %0.4 kolhisin solüsyonu 24, 48 ve 72 saat süresince daldırılmış veya uygulanmıştır. Uygulamalar sonrasında, %48.6 oranında daha geniş ve uzun stoma uzunluğuna sahip bitki olduğu belirlenmiştir. Birim alanda (mm^2 'de) daha az sayıda stoma (%41.7 oranında bitki) ve bekçi hücrelerinde daha fazla kloroplast sayısı (%47.3 oranında bitkide) olmak üzere toplamda 313 bitki muhtemel poliploid olarak seçilmiştir. Bu bitkilerde Flow sitometri analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda muhtemel poliploid olarak kabul edilen 313 bitkiden 31 adet tetraploid, 270 mikshaploid ve 12 adet diploid bitki belirlenmiştir. Tetraploid bitkilerden 6 tanesi daha uzun primer kök uzunluğuna ve yüksek yoğunlukta lateral köklere sahip olması nedeniyle güçlü kök yapılı bitkiler olarak belirlenmiştir (Kulkarni ve Borse, 2010).

Islah hatları ve F1'lerden oluşan 500'den fazla biber çeşidinde yapılan anter kültürü çalışmalarında, haploid regenerasyon oluşturan bitkilerde kromozom katlama çalışmalarında %75 dihaploidizasyon oranı elde edilmiştir (Mityko ve Fari, 1997).

Arnavut (Cayenne) biberine olan ilgi, gıda endüstrisi, eczacılık ve kozmetikte kullanımındaki büyüme ile birlikte devamlı olarak artmaktadır. Kolhisin kullanımıyla meydana gelen mutasyonlardan yararlanmak ve meyve kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla biber tohumlarına kolhisin uygulamaları yapılmış poliploidi teşvik edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, üç farklı lokal Arnavut biberi tohumları %0.00 (K0), %0.015 (K1) ve %0.025 (K2) dozlarındaki kolhisin solüsyonlarında 6 saat bekletilmiştir. Çimlendirme aşamasından sonra, kromozomlar 8 günlük biber fidelerinin kök uçlarında ezme preparat tekniği kullanılarak ve aceto-orcein ile boyanarak incelenmiştir. Gerçekleştirilen ploidi analizinde 3 no'lu genotipte %0.015 kolhisin konsantrasyonunda %13 ile en düşük dihaploid ve %60

triploid oranı elde edilmiştir. Kolhisin uygulaması triploid bitki eldesini teşvik etmesinin yanı sıra, tetraploid ve mikshaploid elde edilmesini sağlamıştır (Amanah vd., 2016).

Ellialtıoğlu vd. (2002), in vitro kolhisin uygulamaları ile nanede poliploid bitki elde etmeyi amaçlamışlardır. Açık arazide yetişen *Mentha longifolia* türüne ait nane bitkilerinden alınan tek boğum eksplantlarını mikroorganizma içermeyen ortamda, 30 g/L sukroz, 6 g/L agar, 0.5 mg/L BA içeren MS besin ortamlarında kültüre almışlardır. Bir ay sonra, gelişen eksplant ve sürgün uçları hazırlanıp 100 veya 150 mg/L kolhisin kimyasalı içeren besin ortamlarında 5, 7 ve 10 gün yetiştirilip, kolhisin bulunmayan taze besin ortamlarına aktarmışlardır. Bu besin ortamında iki ay süreyle geliştirilen bitkileri sera dış koşullarına alıp, kök uçlarından kromozom sayımları yapılmış ve ploidi oranlarını belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda; kolhisin uygulamasında hem sürgün ucu uygulamasının hem de tek boğum eksplantının kullanılabileceğini gözlemlemişlerdir. Eksplantların 5 gün süreyle 100 mg/L kolhisin uygulamasından sonra kolhisin içermeyen ortama aktarılması durumunda %25-27 oranında poliploid bitki elde edilebileceğini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda kolhisin uygulaması ile birlikte değişik ploidi seviyeleri belirlenmiş olup, bazı bitkilerin ise miksploid oldukları gözlemlenmiş, uygulama süresinin 10 gün olması durumunda ise gelişme oranı ve eksplant başına elde edilen poliploid bitki oranının düştüğü gözlemlenmiştir. Bununla birlikte yaprak morfolojileri incelendiğinde stoma ve kromozom sayısı arasında bir ilişki kurulabileceği belirlenmiştir.

Yetişir ve Sarı (2003), haploid kavun (*Cucumis melo* L.) bitkilerinin dihaploidizasyon oranını yükseltmek için üç farklı yöntem denemişlerdir. In vivo bitkiciklerin veya eksplantların daldırılmasıyla, serada yetiştirilen bitkilerin sürgün uçlarının kolhisin çözeltisine daldırılmasıyla karşılaştırılmıştır. Ayrıca serada yetiştirilen bitkilerin yan tomurcuklarına kolhisin damlatılmıştır. Kolhisin uygulanan bitkilerin ploidi seviyesi morfolojik ve sitolojik olarak belirlenmiştir. Sürgün uçlarının daldırılmasıyla dihaploidizasyon oranı yaklaşık %89 olarak gözlemlenmiştir. Yan tomurcuklara uygulanan kolhisin etkisi önemsiz bulunmuştur.

Şimşek (2011), tarafından, çekirdeksiz karpuz ıslahında kullanılmak üzere tetraploid hatlar geliştirmek amacıyla kurulan çalışmada kolhisin (%0.0, %0.2, %0.3,

%0.4, %0.5) ve orizalin (0 μ M, 20 μ M, 35 μ M, 50 μ M) kimyasallarının farklı dozları dört karpuz genotipine in vivo koşullarda fide döneminde uygulanmıştır. Çalışma sonucunda kolhisin ve orizalin kimyasallarıyla tetraploid hatların geliştirilebileceği belirlenmiş olup başarı oranı %2.08 ile %0.69 arasında bulunmuştur. Kullanılan kimyasallardan kolhisinin orizaline göre tetraploid bitki elde etme başarısını arttırdığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda 12 tetraploid hat geliştirilmiştir.

Xing vd. (2011) tarafından, Pervane Çiçeği *Catharanthus roseus*'da yapılan çalışmada tohumlara kolhisin uygulanmış olup bitkilerin ploidi seviyeleri FC ile belirlenmiştir. Araştırmacılar kolhisin uygulamasında optimum doz ve sürenin (%0.2 dozunda ve 24 saat) olduğunu ve %30 oranında tetraploid bitki elde edildiğini bildirmişlerdir. Tetraploid bitkiler ile kontrol (diploid) bitkilerini morfolojik özellikler bakımından karşılaştırdıklarında tetraploid bitkilerin daha büyük stomalara daha fazla dal ve yaprağa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bundan dolayı tetraploid bitkilerde, alkaloid miktarının daha fazla olduğunu ve tetraploid bitkilerin alkaloid miktarını arttırmada daha etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

2011-2012 yılları arasında yapılan bir çalışmada kolhisinin altın çilek bitkisinde farklı dozlarda (Kontrol, % 0.2, 0.4, 0.8) ve uygulama sürelerinde (8, 16, 24 saat) etkileri ele alınmıştır. Uygulamada kolhisin tohumlara ve fide dönemindeki bitkilerin büyüme uçlarına uygulanmıştır. Uygulamanın bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemek için bitkilerin bazı morfolojik özellikleri incelenip, ploidi seviyesini belirlemek amacıyla flow sitometri analizleri yapılmıştır. Araştırmanın sonucunda tohumlara yapılan uygulamanın konsantrasyon ve süresine bağlı olarak, yaprak alanı bitki boyu ve kotiledonda büyük değişiklikler gözlemlenmiştir. Süre uzunluğu ve yüksek dozun bitki boyuna olumsuz etkileri gözlemlenmiş olup kolhisin dozu arttıkça; meyve boyu, meyve ağırlığı ve gövde çapının arttığı, SÇKM miktarının ise azaldığı belirlenmiştir. Fide döneminde büyüme ucuna yapılan uygulamanın sadece bitki boyunda farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada yapılan flow sitometri analizlerine göre kolhisin kimyasalının, bitkinin kromozom sayısında bir değişikliğe sebep olmadığı, çalışma sonucunda kolhisin uygulamalarının sadece morfolojik değişimlere neden olduğu gözlemlenmiştir (Ceren, 2012).

2.2. Poliploid Bitkilerin Belirlenmesi

Genel olarak kromozom sayısındaki değişmelere ploidi adı verilmektedir. Her kromozomdan birer taneye sahip olan bir organizmaya monoploid (n), ikişer taneye sahip olanlar diploid ($2n$), üçer taneye sahip olanlar triploid ($3n$) adını almakta, kromozom sayısı arttıkça bu isimler de tetraploid ($4n$), pentaploid ($5n$), hekzaploid ($6n$) veya oktoploid ($8n$) şeklinde değişmektedir. Monoploid (n) kromozom sayısının 3 veya daha fazla katına sahip organizmalar genellikle poliploid olarak tanımlanırlar. Poliploidi ise Autopoliploidi ve Allopoliploidi olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Autopoliploidi; sayıları artan kromozomların aynı türe ait olması, Allopoliploidi ise sayıları artan kromozomların farklı türlere ait olmasıdır. Genomlarında bu tür kromozom bulunduran bitkiler, doğal veya yapay yolla elde edilmiş melezlerdir.

Poliploid bitkiler, diploidlere göre daha iri vegetatif ve generatif organlara sahiptirler. Bu özellikleriyle özellikle süs bitkilerinde poliploid bitki elde etmek, başlıca varyasyon yaratma yöntemlerinden biri olmaktadır. Yapraklarında birim alandaki stoma hücrelerinin sayısı azalan ve klorofil içerikleri farklılaşarak daha koyu yeşil renkte yapraklara sahip olan poliploid bitkiler aynı zamanda daha yüksek fotosentetik aktiviteye sahip olmaktadır. Hücre irilikleri artan poliploid bitkilerin uçucu yağ içeren türlerde bu özellik bakımından da daha yüksek bir performans göstermeleri söz konusu olabilmektedir (Tepe, 2001).

Ellialtıoğlu vd. (2001), hücrelerin floresans dedektöründen tek tek geçerken emdikleri ışığın analizine dayanan flow sitometri (FC) yönteminde enzimatik olarak parçalanmış yaprak örneklerinde hücre çekirdekleri serbest bırakılmakta, H33258 veya DAPI gibi floresans boyalarla boyanan hücre çekirdeklerindeki DNA miktarı belirlendiğini bildirmişlerdir. Her bitki türü için yöntem optimize edilmeye ihtiyaç duyulduğunu, diğer yöntemlerin etkili olarak çalışmadığı durumlarda flow sitometrinin güvenilir ve geçerli sonuçlar sunmakla birlikte; klasik kromozom sayımları ile ploidi belirlemesi için tecrübeli eleman ve gerekli ekipmanları içeren laboratuvar alt yapısına ihtiyaç gösterdiği, gerekli koşulların sağlandığı durumlarda bile bazı bitki türlerinde kromozom sayımlarının çok güç olması sebebiyle sonuç alınamadığını bildirmişlerdir. Bu

dezavantajla birlikte bir araştırmacı günde 100'den fazla bitkide analiz yapabilmesi ve mikroploid hücrelerin ortaya çıkartılması gibi avantajları, flow sitometrinin günümüzde kromozom sayımlarının yapılması için en fazla tercih edilen yöntem haline gelmesine olanak sağladığını belirtmişlerdir.

Stomal incelemeler: stomalar gaz alışverişini sağlayan yaprak epidermisinde gömülü halde bulunan açıklıklardır. Bitki türlerinin değişiklik göstermesiyle stomaların iriliği, birim alanda bulunan stoma sayısı ile ploidi düzeyi arasında güvenilir ilişkiler gözlemlenmiştir. Örnek olarak kereviz (Şalk, 1979), karpuz (Sarı vd., 1999b), kavun (Abak vd., 1996), hıyar (Çağlar ve Abak, 1996) ve kabak (Kurtar, 1999)'ta haploid bitkilerin stoma büyüklükleri diploidlere göre daha küçük olup, birim alanda daha fazla stoma bulunduğu gözlemlenmiştir. Stomaların içerisinde bulunan kloroplast sayıları da bazı bitki türlerinde (şeker pancarı: Doctrinal vd., 1989; karpuz: Sarı vd., 1999b; kavun: Abak vd., 1996; hıyar: Çağlar ve Abak, 1996; biber: Abak vd., 1998; kabak: Kurtar, 1999) ploidi ayırıcı, güvenilir bir yöntem olarak dünya literatüründe yer almaktadır. Buna rağmen, çilek (Quarto vd., 1991) gibi poliploidi olgusu yaygın olan bitkilerde kloroplast sayımlarının ploidi belirlemek için yeterli olmadığı, mutlaka kromozom sayımlarıyla desteklenmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Ploidi belirleme: ploidi düzeyinin belirlenebilmesi için bitkilerde değişik yöntemlerden faydalanılmaktadır. Ploidi belirlemede kullanılan en eski ve güvenilir yöntem hızlı büyüyen doku ve organlarda yapılan kromozom sayımları olmakla birlikte bitkinin fenotipine göre yapılan ayrımlar da kromozom sayısı bakımından bir fikir vermektedir. Son yıllarda kromozom sayımlarına alternatif yöntemler geliştirilip farklı bitki türlerinde uygulama alanı bulmuştur. Bu yöntemler stoma hücreleri ve flow sitometri gözlemlerine dayanarak geliştirilmiş olup günümüzde ploidi düzeylerinin belirlenmesinde rutin olarak kullanılabilir aşamaya gelmiş yeni tekniklerdir.

Fenotipik gözlemler: bitkilerde ploidi oluşması durumunda bitkinin tüm organlarında irileşme meydana gelmektedir. Haploid bitkilerin elde edilmesi durumunda ise bitkinin tüm organları tam olarak oluşsa bile diploid bitkilere göre daha küçük olmaktadır.

Androgenetik ya da gynogenetik yollarla elde edilmiş olması farketmeksizin; haploid bitkiler, diploid bitkilerle karşılaştırıldığında tüm organlarının daha küçük yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Kurtar (1999), Urfa yerli kabak çeşidinde bitkilerin büyüme ucundan itibaren 7. yaprağının yaprak eni ve boyunu ölçen Kurtar diploid bitkilerin yaprak eninin 34.6 cm, yaprak boyunun ise 40.8 cm olduğunu, haploid bitkinin yaprak eninin 19.5 cm, yaprak boyunun 22.3 cm olduğunu belirtmiştir. Yapılan bu çalışmada normal yetiştirme koşullarında haploid bitkilerin de diploid bitkiler gibi çiçek açtıkları gözlemlenmiştir. Ancak haploid bitki çiçekleri morfolojik ve biyolojik olarak farklılık göstermiştir. Diploid bitkilere göre haploid bitkilerin erkek ve dişi çiçekleri daha küçük bir yapıda olup dişi çiçeklerin küçük yumurtalık ve küçük bir stigmaya sahip olduğu normal polenle tozlansa dahi hiçbir şekilde meyve bağlanmadığı, erkek çiçeklerin ise polen taşımadıkları ve çiçekler açmadan kuruyup döküldükleri gözlemlenmiş olup tüm bu gözlemler diğer bitki türlerinden elde edilen haploid bitkilerde de bildirilen ortak bulgulardır (Karakullukçu, 1991; Çağlar ve Abak, 1996; Sarı vd., 1996b). Fenotipik gözlemlerle haploid bitki ayrımı masrafsız ve hızlı bir yöntem olmasına rağmen güvenilirliği azdır. Bitkiler fenotipik olarak gözlemlendiğinde dişi ve erkek organlarının gelişmesi, meyve tutup tutmadığı, polen oluşturup oluşturmadığına bakılarak sadece o bitkinin haploid olup olmama olasılığının yüksek olduğu hakkında görüş bildirmek mümkün olsa da bu görüşü kesinleştirmek için bilinen diğer yöntemlere desteklemek gerekmektedir.

Ishikawa vd. (2001), tetraploid biberlerin diploid bitkilere göre daha büyük ve geniş çiçeklere sahip olduğunu, diploid çiçeklerde tipik olarak 6 stamen ve petal olduğu buna karşın tetraploid çiçeklerde 7 stamen ve petal bulunduğunu, yine tetraploid bitkilerin %20 daha büyük ovaryum ve %25 daha büyük polen çapına sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Sarı vd. (1999), karpuzda Sugar Baby ve Halep Karası çeşitlerinde haploid ve diploid bitkilerin ploidi seviyelerini belirlemek amacıyla direkt ve indirekt yöntemleri test etmiştir. Çalışmada denenen yöntemlerin tümünün başarıyla kullanılabileceği ortaya konulmuştur. Fakat kromozom sayımının emek gerektirdiği, morfolojik gözlemler için bitki yetiştirmek uzun sürdüğü ve flow sitometri yönteminin pahalı ve zahmetli olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte kloroplast sayma ve stomal ölçüm yöntemleri daha az iş gücü, emek ve kullanım kolaylığıyla diğer yöntemlere alternatif olarak düşünülebilir

kanısına varılmıştır. Çalışmanın sonucunda haploidlerdeki stoma verileri uzunluk, 17 ± 18 mm; koruyucu hücre çapı, 10 ± 12 mm ve kloroplast sayısı 6 ± 7 ve diploidlerde sırasıyla 23 ± 24 mm, 18 mm ve 11 ± 12 mm olarak gözlemlenmiştir.

Flow sitometri 1980'li yıllardan bu yana bitki DNA içeriğinin tahmin edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Flow sitometri bitki ıslahında özellikle genom büyüklüğü ve ploidi seviyesinin belirlenmesinde (özellikle poliploid ve hibrit ıslahında) yaygın olarak kullanılmaktadır. Doku kültüründen elde edilen bitkilerde somoklonal varyasyonlar sonucunda DNA'nın stabil olmaması nedeniyle flow sitometri özellikle tavsiye edilmektedir (Sliwinska, 2018). Flow sitometri, bir sıvı akım içerisinde hücrelerin veya diğer biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal özelliklerinin hızlı ve güvenilir şekilde ölçüldüğü bir cihaz ve tekniktir. Bu yöntem ile hücrenin çapı, içyapısı, enzim aktiviteleri ve DNA miktarları belirlenebilmektedir. DNA'nın yapısına bağlanan floresan boyalar bu teknikte kullanılarak, cihazın lazer ışınımıyla oluşan farklı dalga boylarını sisteme ileterek kullanılabilir bilgi oluşturmaktadır (Demirel vd., 2020).

Solanum macrocarpon ve patlıcan melezleri arasındaki F1'lerde fertilitenin yeniden sağlanması amacıyla kolhisin uygulaması ile kromozom katlamasıyla amphidiploidler (tetraploid) elde edilmiştir. F1 bitkilerin koltuk tomurcukları ve sürgün uçları %0.05 kolhisin içeren MS ortamında 2 veya 4 gün tutulmuştur. Kolhisin uygulamaları sonrasında kök hücrelerinde kromozom sayısı, stoma bekçi hücre büyüklüğü ve polen karakterleri gözlenerek iki adet amphidiploid belirlenmiştir. Amphidiploidlerde stoma büyüklüğü, polen çapı, çiçek çapı ve uzunluğu, anter genişliği, petal ve sepaller, F1'lere göre daha büyük olarak belirlenmiştir. Amphidiploidlerin kendilenmesi sayesinde meyve tutumu ve sağlıklı tohumlar elde edilmiştir (Khan vd., 2013).

%1 kolhisin çözeltisinde tohum uygulamasının ardından, *C. annuum* türüne ait Shishitoh 562, Chigusa ve Jalapeno çeşitlerinden tetraploid bitkiler elde edilmiştir. Diploid ve tetraploid bitkilerin meyve morfolojisi ve tohum sayıları karşılaştırıldığında; tetraploid bitkilerin ortalama tohum sayıları diploid bitkilerin tohum sayısının %18'i kadar bulunmuştur. Tetraploidlerin meyve uzunluğu diploidlerin %74'ü kadar olmuştur. Meyve şeklinde de küçük farklılıklar ortaya çıkmıştır (Ishikawa ve Nunomura, 2002).

Tetraploid bitkilerin abiyotik stres koşullarına daha yüksek tolerans gösterdiğine ilişkin bilgiyi doğrulayan bir çalışma, Ishikawa vd. (2001) tarafından biberde gerçekleştirilmiştir. Tetraploid biber (*Capsicum annuum* cv. Chigusa) bitkileri ile diploid Chigusa bitkileri kullanılarak düşük sıcaklıkta in vitro polen çimlenme oranları incelenmiştir. 15 °C’de tetraploidlerin polen çimlenmesi (%22.1) aynı sıcaklıktaki diploid bitkilerinkinden (%6.5) daha yüksek bulunmuştur.

Çeğil ve Çürük (2019), Faselis ve Karnaz hibrit patlıcan çeşitlerinde in vitro regenerasyon ortamına (10µM BA ve 1 µM IAA içeren MS ortamı) kolhisin ve orizalin ilavesiyle tetraploid bitkiler elde etmişlerdir. Karnaz çeşidinde en yüksek tetraploid bitki formasyonları 3.75 mM kolhisin uygulamasından ve 24 saat 43.2 µM orizalin içeren uygulamanın ardından 7 günlük regenerasyon ortamından elde edilmiştir. Faselis çeşidinde ise tetraploid bitkiler 8 veya 32 saat 2.5 mM kolhisin uygulaması sonrası 7 günlük regenerasyon ortamından elde edilmiştir. Tetraploid bitkilerin polen canlılığı kolhisin uygulamasından gelen bitkilerde %86.41, orizalin uygulamasında %95.68 olarak bulunurken; polen çimlenmesi oranları kolhisin uygulamasından oluşan bitkilerde %25.54 ve orizalin uygulamasından elde edilenlerde %28.47 olarak belirlenmiştir.

Shi vd. (2009), kavunda ploidi seviyesini belirlemek amacıyla kullanabilecek basit ve hızlı yöntemleri araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada diploid (TS ve 0517) kültür bitkilerinde stoma ve bekçi hücrelerdeki kloroplast sayılarını incelemişlerdir. Genotiplerdeki kromozom sayıları farklılığı ile paralel olarak kloroplast sayılarında da büyük ölçüde fark olduğu gözlemlenmiştir. Stomada bulunan bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısı 15’ten az olduğu durumda bitkilerin diploid, 15’ten fazla olması durumunda tetraploid olduğu gözlemlenmiştir. Stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayımıyla kromozom sayısının belirlenmesinde ortalama %90.2’lik doğruluk payıyla yüksek derecede güvenilir olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonucunda bitkinin fide döneminde diploid ya da tetraploid olduğunu belirlemek amacıyla genotipin stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayısının mikroskopla ölçülmesinin daha doğru ve hızlı bir yöntem olabileceği belirtilmiştir.

Takizawa vd. (2008), tatlı biber çeşitlerinin ıslahında poliploid bitkilerin kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Hidroponik yetiştiricilikte diploid ve tetraploid bitkileri,

büyüme karakteristikleri, fotosentez (Pn) ve mineral madde alımları 3 farklı meyve yükü altında belirlenmiştir. Çalışmada diploid ‘Shishito No.562’ çeşidi ve bu çeşidin tetraploidleri kullanılmıştır. Her iki poliploidde bitki gücünün kontrolü için 0, 3 ve 7 meyve tutumuna izin verilmiştir. Tetraploid bitkiler diploid olanlara göre daha yüksek kök, yaprak ve gövde ağırlığına sahip bulunmuştur. Diploid bitkilerde artan meyve yükü kök ve gövde kuru ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Tetraploid bitkilerde yaprak alanı ve kalınlığı artmakla birlikte, poliploid bitkilerde fotosentez bakımından farklılık belirlenmemiştir. Tetraploid bitkilerde diploid olanlara göre meyve uzunluğu ve ağırlığı daha düşük olmasına rağmen, artan meyve yükünde daha homojen meyveler elde edilmiştir. Tetraploid bitkiler daha yüksek nitrat azotu (NO₃-N) alımına sahip olmuştur.

Jaskani vd. (2004), kolhisin uygulamasıyla elde ettikleri tetraploid karpuz bitkilerinde meyve özellikleri, tohum morfolojisi ve çimlenme durumunu inceleyerek diploidlerle karşılaştırmışlardır. Tetraploid bitkilerin diploid olanlara göre meyve kabuklarının daha kalın (17.6), ancak daha az meyveye ve tohuma sahip olduklarını (31.3) gözlemlemişlerdir. Tetraploid bitkilerin tohum uzunluğu (9.1 mm), genişliği (6.3 mm) ve kalınlığı (2.8 mm) olarak belirlenmiştir. Tetraploid bitkilerin tohum kabuğunda uzunlamasına eksen boyunca çatlaklar gözlemlenmiştir. Diploid tohumların neredeyse tamamı doluyken tetraploidlerde zayıf embriyolar olduğu görülmüştür. Bununla birlikte tetraploidler, daha düşük tohum çimlenmesi göstermiştir. Tetraploid tohumlarda kalın tohum kabuğunun kotiledonlara yapışması, tohumların kök ucu 90° açıyla saksılara ekilmesiyle azaltılmıştır. Diploidlere göre tetraploid fidelerde kotiledon ve yaprak boyutlarının arttığı da gözlemlenmiştir.

Jaskani vd. (2005), karpuzda tetraploid bitki elde etmek için kotiledon aşamasındaki bitkilere kolhisin uygulamışlar ve sonuçları FC yöntemleri ile belirlemişlerdir. Flow sitometri yöntemlerini; bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısı, kromozom sayımı, yaprak alanı, çiçek boyutu vb. diğer ploidi tarama yöntemleri ile karşılaştırmak için yapmışlardır. Bunun sonucunda FC analizinin, kloroplast sayımlarına kıyasla tetraploidleri tespit etmek için hızlı ve uygun olduğunu belirlemişlerdir. Bekçi hücrelerdeki kloroplast sayısı diploid bitkilerde 5-7 arasındayken tetraploidlerde 10-12 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Kromozom sayım metodu ile tetraploid bitkilerin tanımlanmasında öbür yöntemlere göre daha fazla zamana ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir.

Tetraploid bitkilerin çiçek boyutu ve yaprak alanının daha fazla ve 4 polen kolpisinin olduğu, diploidlerde ise 3 polen kolpisinin olduğu gözlemlenmiştir. Tetraploid tohumlar diploidlere göre daha geniş tohumlara, daha kalın tohum kabuğuna ve kısmen daha zayıf embriyolara sahip olduğu beklenenden daha küçük kotiledonlara sahip olduğu gözlemlenmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Kapya biber ıslah hatlarına ait tohumlarda veya bu tohumlardan yetiştirilen genç bitkilerde kolhisin uygulamaları yapılarak poliploidi teşvik edilmesi planlanmıştır. Çekirdeksiz biber elde edilmesinin ana materyali olan tetraploid hat elde etmesi amacıyla araştırma kapsamında yürütülen bu çalışma 2 farklı denemeden oluşmaktadır. Bu denemeler;

In vivo kolhisin uygulamasıyla tetraploid bitki elde edilmesi;

- Kapya biber ıslah hatlarına ait tohumlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları,
- Tohumlardan yetiştirilen genç bitkilerin koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları, çalışmalarından meydana gelmektedir.

In vivo çalışmalarının bir bölümü (2019-2020 denemeleri) PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketine ait Topallı köyünde bulunan merkez işletme seralarında, diğer bir bölümü (2020-2021 denemeleri) Kurşunlu AR-GE şubesinde bulunan seralarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmadaki yaprak alan ölçümleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesinde, flow sitometri yöntemi ile ploidi düzeyini belirleme çalışmaları ise Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesinde yapılmıştır.

3.1.1. Bitkisel materyal ve özellikleri

2019-2021 tarihlerinde PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketinde yürütülen çalışmanın bitkisel materyalini, PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketi AR-GE merkezine ait olan, kapya biber ıslah hatlarından seçilen farklı özelliklere sahip 12 saf kapya biber hattı oluşturmaktadır. Deneme materyalleri Şekil 3.1’de görülmektedir.



Şekil 3.1. Araştırmanın yürütüldüğü seradan görüntü.

3.1.2. Araştırma yerinin coğrafi konumu

Araştırmanın yürütüldüğü PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketi Topallı köyünde bulunmaktadır. Topallı köyü; Antalya'nın kuzeyini çevreleyen Masa dağı'nın uzantısının bittiği yer ile güneyinde Kurşunlu Şelalesi ve güneybatısında Kurşunlu Ormanları arasındaki bölgede bulunmaktadır. PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketinin uydu görüntüleri Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Araştırmanın yürütüldüğü PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketinin uydu görüntüleri

3.1.2. Araştırma alanının iklim verileri

Çalışma örtü altında yapıldığı için yağış miktarı, biberin nötr gün bitkisi olması nedeni ile güneşlenme süreleri verilerine yer vermeye gerek duyulmamıştır (Çizelge 3.1). Uzun yıllar ortalaması ve deneme süresince sıcaklık verileri incelendiğinde deneme alanının sıcaklık bakımından yetiştiriciliğe uygun olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 3.1. Antalya bölgesi uzun yıllar ve deneme süresince gerçekleşen aylık ortalama sıcaklık değerleri

	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran
Uzun Yıllar Ortalama Sıcaklık Değerleri (1930 - 2020)								
Ortalama Sıcaklık (°C)	15.5	11.6	10.0	10.7	12.9	16.4	20.6	25.3
Ortalama En Yüksek Sıcaklık (°C)	21.3	16.7	14.9	15.6	18.0	21.4	25.6	30.7
Ortalama En Düşük Sıcaklık (°C)	10.8	7.6	6.0	6.4	8.1	11.2	15.2	19.6
2019 yılı Ortalama sıcaklık Değerleri								
Ortalama Sıcaklık (°C)	18.1	12.8	10.6	12.9	14.7	16.6	21.5	26.0
Ortalama En Yüksek Sıcaklık (°C)	22.9	16.9	14.2	17.0	18.8	20.5	25.0	29.7
Ortalama En Düşük Sıcaklık (°C)	14.9	10.1	8.1	9.8	11.5	13.5	18.5	22.8
2020 yılı Ortalama sıcaklık Değerleri								
Ortalama Sıcaklık (°C)	18.9	13.6	11.7	12.3	14.9	17.4	22.0	23.9
Ortalama En Yüksek Sıcaklık (°C)	23.1	18.2	16.5	16.4	18.9	21.2	26.4	27.4
Ortalama En Düşük Sıcaklık (°C)	16.0	10.6	8.5	9.4	11.7	14.5	18.5	20.8

3.2. Yöntem

3.2.1. In vivo kolhisin uygulamasıyla tetraploid bitki elde edilmesi

Kapya biber ıslah hatlarına ait tohumlara %0.1 ve %0.2 dozlarında, 24 ve 48 saat sürelerde kolhisin uygulamaları,

Tohumlardan yetiştirilen genç bitkilerin koltuk tomurcuklarına %0.3 ve %0.5 dozlarında, 12 saat ve 24 saat sürelerde kolhisin uygulamaları, çalışmalarından meydana gelmektedir.

3.2.1.1. Kapyra biber ıslah hatlarına ait tohumlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması

PETEK TAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketine ait biber çeşit adaylarından tetraploid bitki elde edilmesi için seçilen 12 farklı genotipe ait tohumlar viyollere ekilmeden önce %0.1 ve %0.2 dozlarında kolhisin içeren çözeltilere 24 ve 48 saat süresince daldırılmıştır (Kulkarni ve Borse 2010). Bu amaçla saf su içerisinde çözündürülen kolhisinin oluşturduğu çözelti (1mg/1mL) 1 litrelik kapaklı cam şişeye doldurularak buzdolabında muhafaza edilmiştir. Kolhisinin tohum uygulamalarındaki uygulama dozu ve süreleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Kapyra biber tohumlarına uygulanan kolhisin doz ve süreleri.

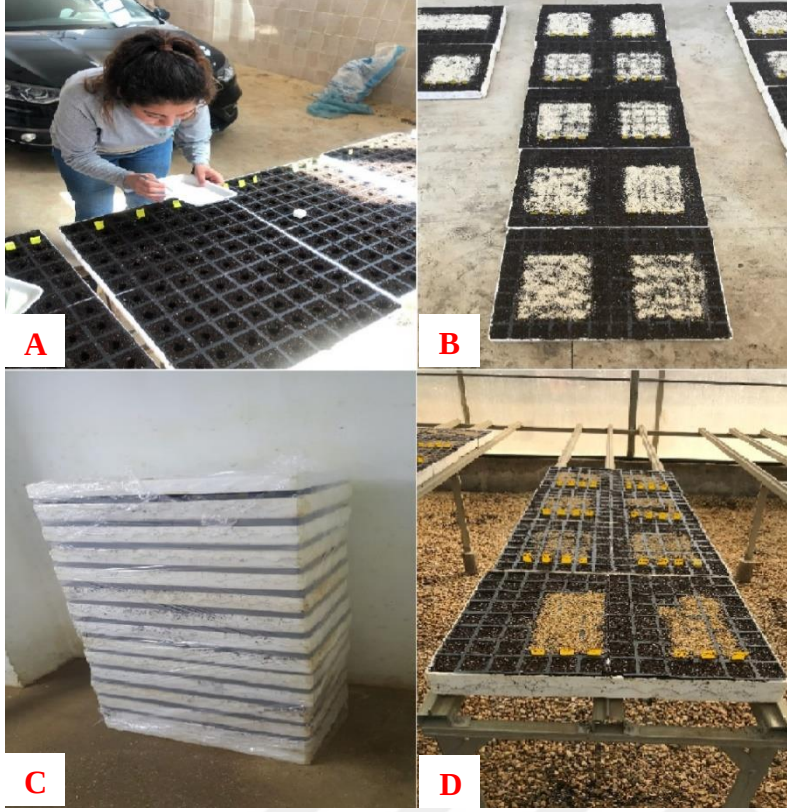
Uygulama no	Kolhisin dozu	Uygulama süresi
1	%0,1	24 saat
2	%0,1	48 saat
3	%0,2	24 saat
4	%0,2	48 saat

2 doz ve 2 süre olacak şekilde yapılacak uygulamalar için hazırlanan 10’ar mL’lik kolhisin çözeltileri amber renkli cam şişelere doldurulmuş, güvenli koşullarda hazırlanan bu çözeltilere 12 adet kapyra biber hattına ait tohumlar bırakılmıştır. 12 kapyra biber hattının her birinden 5’er adet tohum x 4 tekerrür olacak şekilde; içinde 10 mL kolhisin solüsyonu bulunan amber renkli şişelerde (100 ml’lik) 24 ve 48 saat süresince 25 °C sıcaklığındaki iklim dolabında uygulamaya tabi tutulmuştur. Uygulamalar sonrası kolhisin solüsyonu süzildükten sonra tohumlar önce çeşme suyu ile daha sonra saf suda 10 dk. durulanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.1. Kapyra biber hatlarının tohumlarına kolhisin uygulaması. A. Tohumların kolhisin çözeltisine daldırılması, B. Tohumların, içerisinde kolhisin çözeltisi bulunan amber renkli şişelerde 25 °C sıcaklıktaki iklim dolabında bekletilmesi, C. Uygulama sonrası kolhisin çözeltisinin süzülmesi, D. Uygulama sonrası saf su ile durulama işlemi.

Tohum uygulaması tamamlandıktan sonra, 12 farklı kapyra biber genotipine ait tohumlar hiç bekletilmeden viyollere ekimleri yapılmıştır. Kontrol olarak kullanılacak tohumlar sadece saf su içerisinde bekletilmiş olup kontrol bitkileri uygulama ile aynı zamanda ekilmiştir. Tohum ekimleri fidelikte 2:1 oranında torf:perlite karışımı doldurulmuş 96'lık viyollere yapılmıştır. Tohum ekiminden sonra tohumların üzeri vermikulit ile kapatılıp su ile nemlendirilmiştir. Ekim yapılan viyoller 24°C sıcaklığındaki çimlendirme odasında 3 gün tutulmuş olup kökçük çıkışı başlar başlamaz viyoller PETEKTAR Tohumculuğa ait fideliğe alınmıştır (Şekil 3.4). Fideler dikim büyüklüğüne gelene kadar bakımları ve kültürel işlemleri fidelikte gerçekleştirilmiştir. Fideler 3-4 yapraklı hale geldiğinde hem uygulama görmüş hem de uygulama görmemiş tohumlardan elde edilen fideler 15 cm çapındaki saksılara aktarılıp dikim büyüklüğü gelene kadar bakımlarına devam edilmiştir (Şekil 3.4).



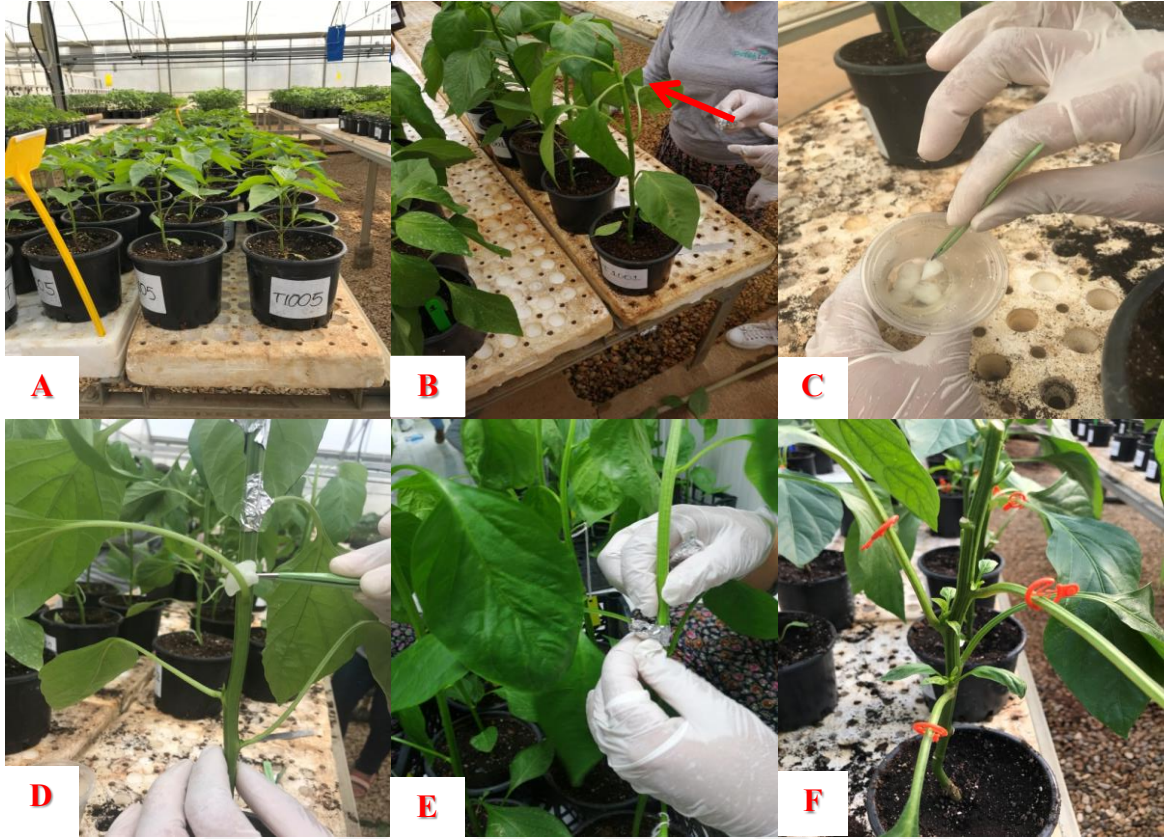
Şekil 3.2. Kolhisin uygulanmış ve uygulanmamış kapya biber hatlarına ait tohumların ekimi. A. Tohumların viyollere ekilmesi, B. Ekim yapılmış viyollerin üzerinin örtülmesi, C. Viyollerin çimlendirme odasında bekletilmesi, D. Viyollerin fideliğe yerleştirilmesi.



Şekil 3.3. Kolhisin uygulanmış ve uygulanmamış tohumlardan elde edilen fidelerin fidelikte yetiştirilmesi. A. Saksılardaki biber fideleri (tohum uygulamaları). B. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması için saksılara şaşırtılmış biber fideleri.

3.2.1.2. Tohumlardan yetiştirilen genç bitkilerin koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamaları

Bitkilerde ploidi seviyesinin artırılması amacıyla tohum uygulamaları yapıldığı gibi koltuk tomurcuklarına yapılan uygulamalar da sıklıkla kullanılmaktadır. Literatürde çeşitli doz ve sürelerde yapılan kolhisin veya farklı başka antimitotik kimyasal maddelerin uygulamaları bulunmaktaysa da bu çalışmada Çizelge 3.2’de gösterilen %0.3 ve %0.5 kolhisin dozları ile 12 ve 24 saatlik süreler denenmiştir. 12 farklı kopya hattında 4 tekerrürlü yapılan bu uygulama için hiç uygulama görmemiş 5’er adet biber tohumlarının ekimleri 2:1 oranında torf:perlit karışımı doldurulmuş 96’lık viyollere yapılmıştır. Ekim yapılan viyoller 24 °C sıcaklığına ayarlanmış çimlendirme odasında 3 gün tutulmuş daha sonra fideliğe alınmıştır. Kolhisin uygulanmamış tohumların ekimi ile elde edilen fideler dikim büyüklüğüne gelene kadar bakımları ve kültürel işlemleri fidelikte gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kolhisin uygulaması için uygun büyüklüğe gelen her bir fide 15 cm çapındaki saksılara tek tek şaşırtılmış 4-5 yapraklı genç bitki haline gelinceye kadar bekletilmiştir (Şekil 3.6 A). Kolhisin uygulaması için uygun büyüklüğe gelen fidelerin tepe kesimleri yapılmış olup (Şekil 3.6 B), Çizelge 3.2’ de verilen doz ve sürelerde küçük pamuk topları kolhisin solüsyonlarına daldırarak pamukların solüsyonu emmesi sağlanmıştır (Şekil 3.6 C). Bir pens yardımı ile alınan kolhisin emdirilmiş pamuk topları tepe kesimi yapılmış olan biber fidelerinin koltuk tomurcukları üzerine (Şekil 3.6 D) tutturulmuştur (Ellialtıoğlu vd. 2006). Daha sonra koltuk tomurcuklarını üzerindeki pamuk topları ışıktan etkilenmemeleri ve uygulama süresince kurumamaları için alüminyum folyo ile tomurcuklara zarar vermeyecek şekilde sarılmıştır (Şekil 3.6 E). Uygulama sürelerinin sonunda alüminyum folyo sökülmüş ve tomurcuklar saf su ile yıkanmıştır. Uygulama yapılan tomurcuğun bulunduğu yaprağa plastik halka etiketler takılmıştır (Şekil 3.6 F). Uygulama sonrası fideler seralardaki yerlerine dikilmeden önce bir hafta daha fidelikte bekletilmiştir.



Şekil 3.4. Biber fidelerinin koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması. A. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması için saksılara şaşırtılmış biber fideleri. B. Uygulama öncesi fidelerde tepe kesimi. C. Pamuklara kolhisin solüsyonun emdirilmesi. D. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması E. Uygulama sonrası tomurcukların alüminyum folyo ile sarılması F. Uygulamalar sonrası süren koltuk tomurcukları ve etiketleme.

Çizelge 3.3. Kappa biber fidelerinin koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulama doz ve süreleri.

Uygulama no	Kolhisin Dozu	Uygulama süresi
1	%0.3	12 sa
2	%0.3	24 sa
3	%0.5	12 sa
4	%0.5	24 sa

Tohum uygulamalarından gelen ve koltuk tomurcuklarına uygulama yapılmak üzere yetiştirilen fidelerin tek tek saksılara aktarıldığı görüntüler Şekil 3.7’de, gösterilmiştir. 12 farklı kappa biber hattına ait tohum uygulaması yapılmış veya uygulama yapılmamış kontrol fideleri ile saksılardaki bitkilerin serada gelişmeleri görülmektedir.

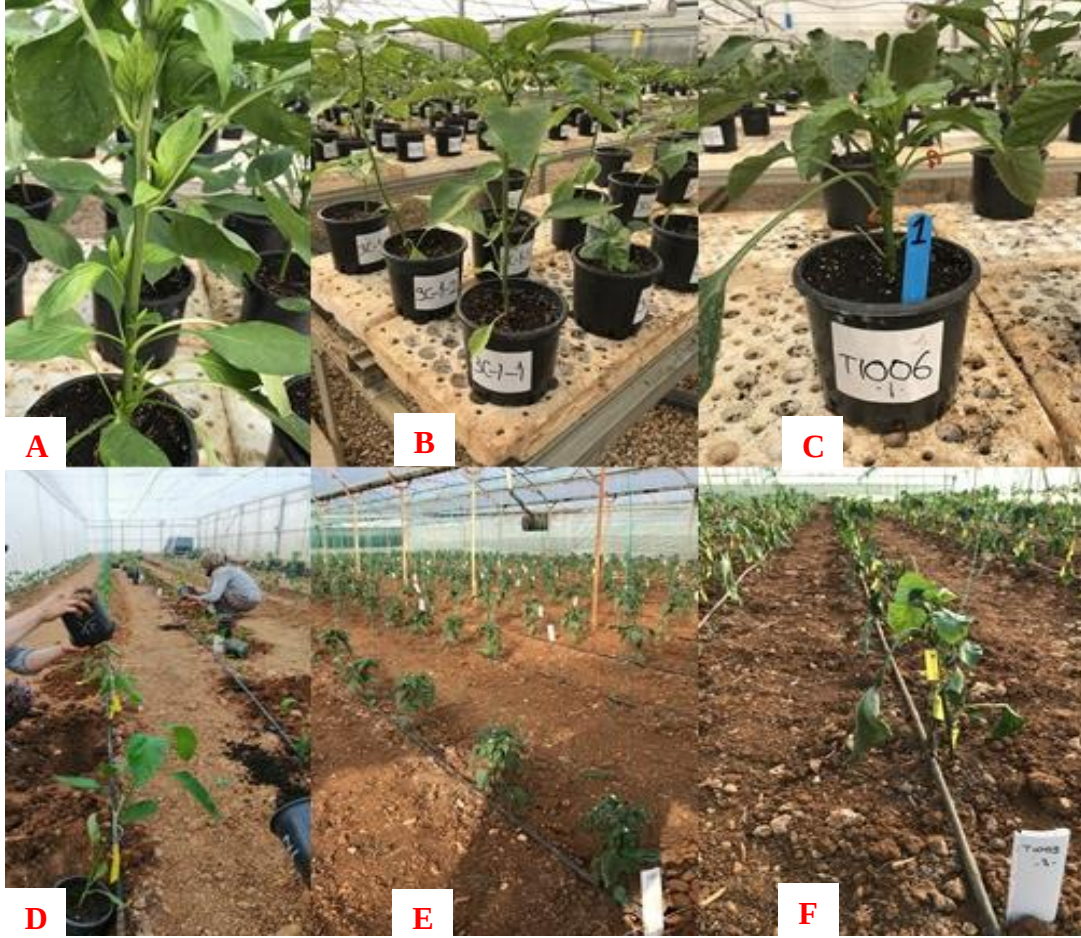


Şekil 3.5. Kolhisin uygulamalarında kullanılan 12 farklı kopya biber hattına ait fidelerin serada görünüşleri. A. Kolhisin uygulanmış ve uygulanmamış tohumlardan elde edilen fidelerin viyollerdeki görünümü, B. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulanmak üzere saksılara şaşırtılmış biber fideleri.

3.2.1.3. Tohum ve genç fide dönemi koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamasından elde edilen fidelerin seradaki yetiştirilme verlerine dikimi ve yetiştirilmesi

Hem tohumlara hem de genç fidelerin koltuklarına kolhisin uygulaması yapılan fideler ve kolhisin uygulaması görmemiş ancak tepeleri kesilmiş kontrol uygulamaları dikim büyüklüğüne geldiğinde fidelikten çıkartılmıştır. Önceden düzenlenip gerekli ilaçlamaları yapılan seraya fideleri dikebilmek için 50x50x100 cm aralıklarla çukurlar açılmış ve serin saatte dikim gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8). Damla sulama sistemi ile gübreleme ve sulama işlemleri yapılmıştır. Bitkilere hastalık ve zararlı bakımından her gün düzenli bir şekilde kontrol edilip gerekli görüldüğü takdirde ilaç uygulaması yapılmıştır. İlaç uygulamasının yanında ek olarak seraya zararlılarla mücadele için yapışkan uzaklar asılmış ve 40 mesh trips tülü çekilmiştir. Dikim sonrası tohum (Şekil 3.8 E) ve koltuk tomurcuğu (Şekil 3.8 F) uygulamaların fideleri askıya alınmış olup gerekli kültürel işlemler yapılmıştır. Koltuk tomurcuğuna uygulama yapılan bitkilerde etiketler düzenli bir şekilde kontrol edilip düşen etiketler düzeltilerek; etiketlerin üzerine hat no, tekerrür no,

bitki no ve sürgün no'ları yazılmıştır. Koltuk tomurcuğuna uygulama yapılan bitkilerde düzenli bir şekilde kendiliğinden süren sürgünler temizlenmiştir.

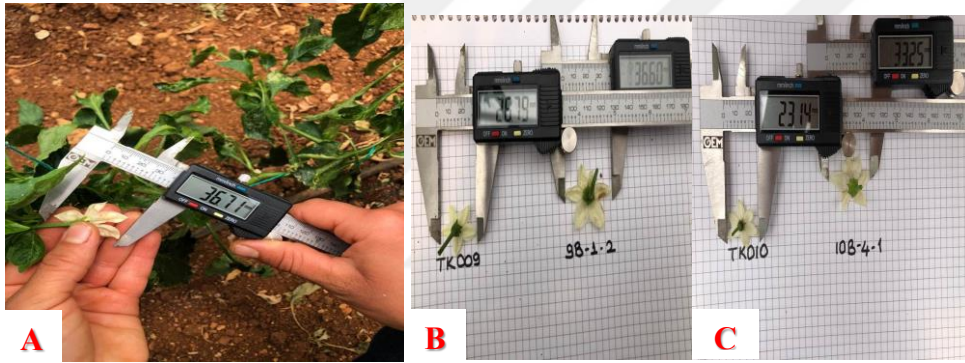


Şekil 3.6. Tohum ve genç fide dönemi koltuk tomurcuğu uygulamalarından elde edilen fidelerin seraya dikimleri. A. Kontrol bitkileri. B. Tohum uygulamaları. C. Koltuk tomurcuğu uygulamaları. D. Fidelerin seraya dikimi. Dikim sonrası askıya alınmış tohum uygulamalarının (E) ve koltuk tomurcuğu uygulamalarının bitkileri (F).

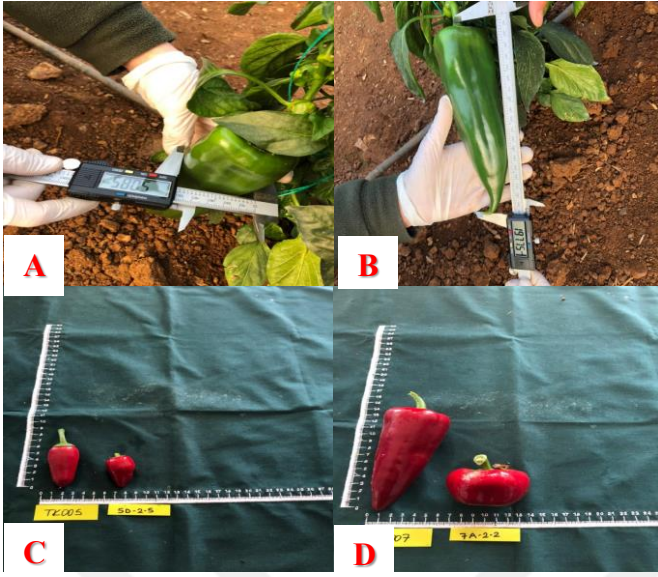
3.2.1.4. Tohum ve koltuk tomurcukları kolhisin uygulamalarından gelen bitkilerde agronomik çalışmalar ve morfolojik gözlemler

Kolhisin uygulanan tohum ve koltuk sürgünlerinden gelişen fidelerde, bitki ve sürgünlerde morfolojik gözlemler yapılmıştır. Tohumlara ve koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması sonrası seraya dikilen bitkilerde bitki boyu, çiçek çapı, meyve eni, meyve boyu ve yaprak alanı ölçümleri yapılmıştır. Bitki boyu bir cetvel yardımı ile, çiçek

çapı (Şekil 3.9), meyve eni ve meyve boyu (Şekil 3.10) kumpasla ölçülerek belirlenmiştir. Morfolojik gözlemlerde kolhisinden etkilenen bitkilerde, bu bitkilerin meyvelerinde ve tohum bağlama durumunda bir takım değişiklikler gözlemlenmiştir (Şekil 3.11). Yaprak alanı ölçümleri için her bir uygulamaya ait bitkilerden ve kontrol bitkilerinden büyüme noktasından geriye doğru alınan 4. genç yaprak örnekleri alüminyum folyo arasına konulmuş ve uygulama kodu folyo üzerine yazılmıştır. Daha sonra her bir uygulama grubundan yapraklar alüminyum folyoya ayrı ayrı sarılarak kuru buz kutularına kilitli poşette yerleştirilmiş olup ölçüm için hazırlanmıştır. Yaprak alanı ölçümleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesine götürülerek, LI-COR, LI-3000C model yaprak alanı ölçer cihazında yapılmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.7. Kolhisin uygulamasının çiçek çapı üzerine etkileri ve çiçek çapının ölçülmesi. A. Çiçek çapının ölçülmesi. B. Uygulamanın 9 no'lu hatta çiçek çapı üzerine etkisi. C. Uygulamanın 10 no'lu hatta çiçek çapı üzerine etkisi.



Şekil 3.8. Kolhisin uygulamasının meyve büyüklüğü üzerine etkileri ve meyvelerde en-boy ölçümleri. A. Meyve çapının ölçülmesi. B. Meyve boyunun ölçülmesi. C ve D. Kontrol ve uygulamalardaki meyve farklılıkları

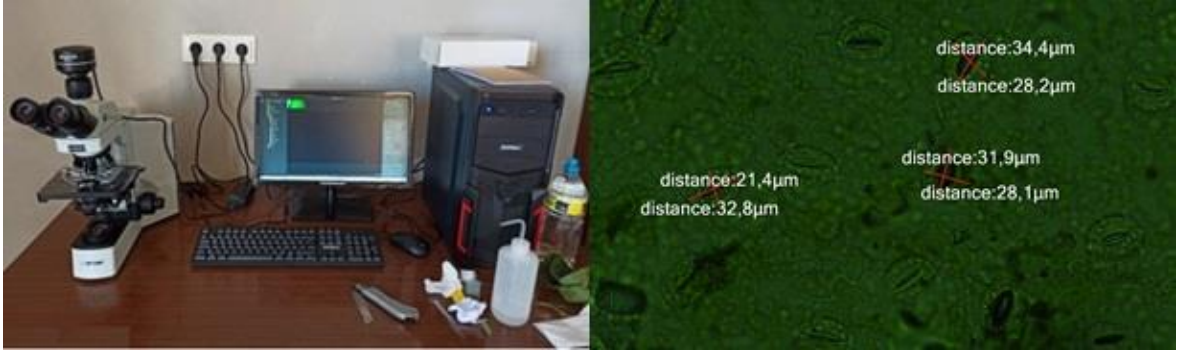


Şekil 3.9. Morfolojik gözlemlerde görülen değişiklikler. A. Kapa biber hatlarında görülen sivri biber meyveli bitki. B. Aynı bitki üzerinde dolmalık ve kapa biber. C. Meyve tutumundaki anomalilikler. D. Tohum bağlamayan meyveler.



Şekil 3.10. Yaprak alan ölçümleri. A. Yaprak örneklerinin alınması B. Yaprak örneklerinin paketlenmesi. C. Yaprak örneklerinin kuru buz kutularında saklanması. D. Yaprak alanlarının LI-COR, LI-3000 C model yaprak alan ölçerde ölçümü.

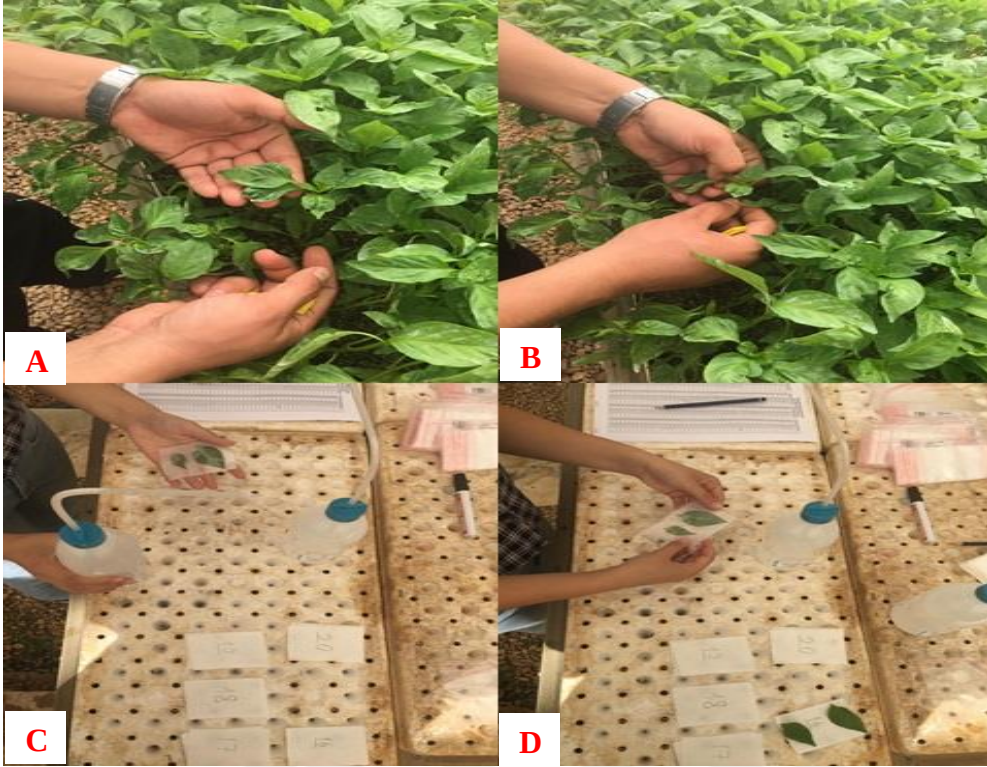
12 farklı genotipte tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamaları sonrası bitkilerde stoma gözlemleri (stoma en, boy ölçümleri) yapılmıştır. Stoma sayımları için her bir uygulamanın tüm bitkilerinden sabah erken saatlerde büyüme ucundan itibaren 4. yaprak alınmış ve her yaprakta bir preparat hazırlanarak, Saptop, CX40-T marka trinoküler mikroskopta 3 farklı bölgede birim alanda (0.08 mm^2) sayım ve ölçümler yapılmıştır. Preparat hazırlanırken yaprağın alt kısmından bir miktar epidermis lam üzerine konulup, üzerine 1 damla saf su damlatılarak lamel kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlarda stoma sayısı, stoma eni ve boyu belirlenmiştir. Ölçümler 40 büyütme objektif ve 10 büyütme okülerde yapılmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.11. Ploidi belirlemek amacıyla biber yapraklarının alt yüzeyindeki epidermiste yer alan stomaların boyut ve sayılarının ölçümü

3.2.1.5. Flow Sitometri Analizi

Bitkilerde ploidi düzeylerinin belirlenmesi için Flow sitometri analizleri yapılmıştır. Bu amaçla, 2020-2021 yetiştirme döneminde tekrar kurulan *in vivo* tetraploid bitki elde edilmesi denemelerinden elde edilen bitkilerde yapılan stomal incelemeler sonucunda belirlenen bitkiler ve morfolojik gözlemlerde muhtemel poliploidi olabilecek bitkilerin tohumları viyollere ekilerek bakımları fidelikte devam etmiştir. Viyollerde büyüyen bitkilerin hastalık ve zararlılara karşı her türlü mücadelesi titizlikle yapılmıştır. Flow sitometri analizleri için uygun büyüklüğe gelen bitkilerin büyüme noktasından geriye doğru 2. ve 4. yaprakları olmak üzere 2 adet yaprak alınıp kaba filtre kağıtlarının üzerine konulmuştur ve kaba filtre kağıdına kurşun kalemle uygulama kodları yazılmıştır. Kaba filtre kağıdına yerleştirilen yaprakların üzerine 2. bir filtre kağıdı daha kapatılarak saf su ile nemlendirilmiştir, daha sonra her bir örnek kilitli poşetlere konulmuştur ve poşetlere delgeç ile delik açılmıştır. Bu işlem stomal incelemeler ve morfolojik gözlemler sonucu muhtemel poliploidi olarak belirlenen tohum uygulamalarından 265 bitki, sürgün uygulamalarından 151 bitki ve 12 adet kontrol bitkisi olmak üzere toplamda 428 adet bitki için tek tek uygulanmıştır. Örnekler alındıktan sonra serada bekletilmeden +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Ertesi gün tüm örnekler tamamlanınca yaprak örneklerinin direk buzla temasını engellemek için araç buzdolabının tabanına buz kasetleri ve üzerine strafor konulmuş ve yaprak örnekleri bunların arasına yerleştirilerek özel araçla analizlerin yapılması için Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesine götürülmüştür (Şekil 3.14).



Şekil 3.12. Flow sitometri analizleri için örneklerin alınması. A. Büyüme ucundan geriye doğru alınacak yaprağın belirlenmesi. B. Yaprakların alınması. C. Kaba filtre kağıdı arasına yaprakların konulup nemlendirilmesi. D. Örneklerin 2. Kaba filtre kağıdıyla kapatılması.

3.2.2. Tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulaması sonrasrısı serada yetiştirilen bitkilerde kendileme, hasat, tohum çıkarma depolama ve paketleme

Hem tohumlara hem de koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması yapılan bitkilerde saf tohum elde edebilmek için kendilemeler yapılmıştır. Kendilemeler için küçük izolasyon keseleri temin edilmiştir. Tüm bitkilerde polen oluşturmamış çiçekler seçilip çiçekler açmadan izolasyon keseleri takılmıştır. Her bitki de en az 3 adet kendilenmiş meyve olacak şekilde kendilemeler yapılmıştır. İzolasyon keseleri takıldıktan sonraki günden itibaren kese takılan çiçeğin meyve bağlayıp bağlamadığı kontrol edilmiş, kuruyan meyve bağlamayan çiçeklerden izolasyon keseleri çıkartılıp dezenfekte edildikten sonra yeniden başka bir çiçeğe takılmıştır. Çiçekleri meyve bağlayan bitkilerin izolasyon keseleri çıkartılıp, hasat zamanı kendilemeli meyveyi ayırt edebilmek adına meyve sapına tel takılmıştır. Kendileme işlemi tohum ve koltuk tomurcuğu uygulamalı bitkilerde aynı

yöntemle yapılmış olup koltuk tomurcuğuna uygulama yapılan bitkilerde her bir kolhisin uygulamalı sürgün için 3'er tane kendileme yapılmıştır. Kendilemeli meyveler hasat olgunluğuna gelene kadar bitkilerin tüm sezon boyunca gerekli bakımları eksiksiz yapılmıştır (Şekil 3.15).



Şekil 3.13. Çiçeklerde kendileme işlemlerinin yapılması. A. Kendileme kesesinin çiçeğe takılması. B. Çiçeklerine kendileme keseleri takılmış bir bitki. C. Kendilenmiş çiçeğe tel takılması. D. Kendilenmiş bir meyve.

Hasat meyveler tam kırmızı renk aldıkları zaman yapılmıştır. Meyveler hasat edilirken uygulama bilgileri bir etikete yazılıp meyveyle birlikte poşete konulmuştur. Tohum uygulaması yapılmış bitkilerde, bir bitkinin tüm kendilenmiş meyveleri birlikte hasat edilirken koltuk tomurcuğu uygulaması yapılan bitkilerde her bir uygulamanın meyveleri ayrı etiketlenilip hasat edilmiştir. Hasat tamamlandıktan sonra meyveler kontrol bitkilerinin meyveleriyle karşılaştırılmıştır. Meyveler boyuna ikiye yarılarak tohum yatakları meyveden ayrılıp su içinde yıkanmıştır. Daha sonra her bir uygulamaya ait tohumlar etiketleriyle birlikte tül keselere konulup kurutma makinasında kurutulmuştur. Kurutma işlemi gerçekleştirilen tohumlar keselerden çıkarılıp temizlendikten sonra (boş

tohum, meyve kabuğu vb.) küçük zarflara konulup zarfların üzerine etiket bilgileri yazılmıştır. Zarflanan tohumlar uygulama gruplarına göre ayrı ayrı plastik kasalara yerleştirilerek gruplandırılıp +5 °C sıcaklığındaki tohum deposunda depolamaya alınmıştır (Şekil 3.16).



Şekil 3.14. Tohum ve koltuk tomurcuklarında kolhisin uygulamasından elde edilen bitkilerde tohumların eldesi. A. Meyvelerde hasat olgunluğu. B. Meyve hasadı. C. Tohum ayırma ve çıkarma. D. Tohum kurutma. E ve F. Tohumların zarflara konulması ve +5 °C sıcaklıkta depolanması.

3.3. İstatiksel Değerlendirme

Araştırmada, tohum ve koltuk tomucuğu kolhisin uygulamaları sonrası, (çıkış oranı, meyve karakterleri, bitki boyu, çiçek çapı, yaprak alanı, uygulama yapılan göz sayısı, süren ve sürmeyen göz sayısı, sera sürgün sayısı) elde edilen veriler SPSS (18.0 for Windows) istatistiksel programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında %1 ve %5 düzeyinde önemlilik durumları Duncan çoklu karşılaştırma testi ile gerçekleştirilmiştir. Tekerrürü bulunmayan diğer gözlemler için verilerin ortalamaları alınarak değerlendirme yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

2019-2021 yılları arasında PETEKTAR Tohum San. ve Tic. Ltd. şirketinde yürütülen bu çalışmada, bitkisel materyali söz konusu şirketin AR-GE merkezine ait, kapy biber ıslah hatlarından seçilen farklı özelliklere sahip 12 hattan oluşmaktadır. 12 farklı hatta tohum ve koltuk tomurcuklarına 2 farklı doz ve 2 farklı süre kolhisin uygulaması yapılmış sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve aşağıda sunulmuştur.

4.1. Tohumlara Kolhisin Uygulaması

Tohumlara kolhisin uygulamalarının çıkış oranı ve bitkilerin bazı morfolojik karakterleri üzerine etkisi Çizelge 4.1’de (ve devamında) verilmiştir.

Çizelge 4.1. Tohumlara kolhisin uygulamasının çıkış oranı, meyve karakterleri, bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri.

Hat no	Doz	Süre	Çıkış (%)	Meyve eni (cm)	Meyve boyu (cm)	Meyve sayısı (adet/bitki)	Bitki boyu (cm)	Çiçek çapı (mm)	Yaprak alanı (cm²)
1	%0.1	24 sa	55.00	3.67 a	13.23 a	5.13 b	19.19 b	24.18 b	37.50 b
	%0.1	48 sa	40.00	4.13 a	16.00 a	3.50 b	20.25 b	25.25 ab	60.50 a
	%0.2	24 sa	50.00	4.00 a	14.00 a	4.67 b	19.38 b	27.00 a	41.75 ab
	%0.2	48 sa	60.00	4.38 a	15.83 a	5.54 b	23.08 b	-	34.08 b
	Kontrol		54.00	2.28 b	7.78 b	26.11 a	36.94 a	24.31 b	24.44 b
Ortalama			51.80 öd	3.68**	13.37*	8.99**	23.76**	25.18**	39.66*
2	%0.1	24 sa	63.33	4.83 ab	18.03 a	5.78 b	34.47 b	23.75 b	48.25 ab
	%0.1	48 sa	80.00	5.23 a	18.18 a	8.68 b	35.52 b	25.33 a	46.96 abc
	%0.2	24 sa	93.33	4.42 b	12.92 b	8.50 b	32.42 b	22.00 c	36.87 d
	%0.2	48 sa	80.00	5.06 a	17.32 a	7.79 b	34.74 b	-	54.86 a
	Kontrol		84.00	3.28 c	8.11 c	14.17 a	46.89 a	23.67 b	42.39 bc
Ortalama			79.97 öd	4.56 **	14.91 **	8.98 **	36.80**	23.69**	45.87**
3	%0.1	24 sa	75.00	3.98 b	20.40 a	3.38 b	18.91 c	26.50 ab	51.40
	%0.1	48 sa	65.00	4.27 b	19.77 a	3.73 b	30.69 b	20.50 c	52.88
	%0.2	24 sa	85.00	4.37 b	17.13 ab	4.55 b	23.36 bc	22.00 c	54.15
	%0.2	48 sa	60.00	5.02 a	18.79 b	4.58 b	18.00 c	23.17 bc	45.42
	Kontrol		74.00	2.67 c	11.39 c	20.61 a	50.22 a	27.64 a	40.67
Ortalama			71.8 öd	4.06 **	17.50 **	7.37 **	28.24**	23.96**	48.90 öd

Çizelge 4.1. Tohumlara kolhisin uygulamasının çıkış oranı, meyve karakterleri, bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri (devam)

Hat no	Doz	Süre	Çıkış (%)	Meyve eni (cm)	Meyve boyu (cm)	Meyve sayısı (adet/bitki)	Bitki boyu (cm)	Çiçek çapı (mm)	Yaprak alanı (cm ²)
4	%0.1	24 sa	100.00	4.68 a	16.92 ab	7.40 b	22.70 b	28.00 a	47.75
	%0.1	48 sa	100.00	4.87 a	18.73 a	5.73 b	28.20 b	25.33 ab	59.40
	%0.2	24 sa	100.00	4.93 a	16.73 ab	6.53 b	22.57 b	23.00 bc	48.50
	%0.2	48 sa	93.33	4.22 b	15.58 b	7.48 b	24.80 b	21.75 c	68.73
	Kontrol		100.00	3.00 c	10.50 c	15.00 a	35.42 a	25.17 ab	45.94
Ortalama			98.34 öd	4.34 **	15.70 **	8.43 **	26.74**	24.65**	54.06 öd
5	%0.1	24 sa	85.00	3.00 a	7.92 a	12.10 b	22.47	27.21 ab	22.75 c
	%0.1	48 sa	100.00	3.00 a	7.65 a	12.85 b	24.35	26.82 ab	31.00 ab
	%0.2	24 sa	100.00	2.95 a	7.79 a	13.66 b	25.90	24.37 c	36.54 a
	%0.2	48 sa	100.00	2.94 a	8.29 a	11.08 b	24.01	27.78 a	26.93 bc
	Kontrol		100.00	1.67 b	6.33 b	34.17 a	30.00	25.25 bc	30.33 abc
Ortalama			96.0 öd	2.71**	7.60 *	16.77 **	25.35 öd	26.29**	29.51 *
6	%0.1	24 sa	95.00	3.00 a	7.13 a	10.77 b	14.85 c	18.00 c	-
	%0.1	48 sa	95.00	2.96 a	6.61 a	6.76 c	19.26 ab	24.00 b	-
	%0.2	24 sa	95.00	2.99 a	6.40 a	7.89 bc	20.20 ab	-	-
	%0.2	48 sa	95.00	3.08 a	6.74 a	9.11 bc	23.00 a	29.00 a	-
	Kontrol		95.00	1.50 b	3.92 b	15.03 a	17.78 bc	-	19.11
Ortalama			95.00 öd	2.71**	6.16**	9.91**	19.02**	23.66**	19.11
7	%0.1	24 sa	90.00	5.46 a	7.58 b	5.73 b	28.21 a	31.00 a	40.00 a
	%0.1	48 sa	85.00	4.45 b	11.18 a	3.33 b	30.06 a	25.50 c	26.21 b
	%0.2	24 sa	80.00	4.49 b	5.08 c	4.07 b	22.16 b	30.00 ab	26.75 b
	%0.2	48 sa	70.00	4.88 ab	10.48 a	5.40 b	27.75 ab	28.25 b	14.00 c
	Kontrol		80.00	3.17 c	8.17 b	36.67 a	32.50 a	22.08 d	29.11 ab
Ortalama			81.00 öd	4.49**	8.50**	11.03**	28.14*	27.37**	27.22**
8	%0.1	24 sa	75.00	4.16 a	10.47 a	12.80 b	27.48 b	22.88 d	31.50 b
	%0.1	48 sa	45.00	4.29 a	10.29 a	10.75 b	28.17 b	31.00 a	53.00 ab
	%0.2	24 sa	55.00	4.67 a	10.46 a	7.83 b	23.56 b	27.75 b	71.00 a
	%0.2	48 sa	73.33	4.70 a	10.67 a	13.72 b	25.74 b	25.00 c	52.17 ab
	Kontrol		65.00	3.14 b	7.08 b	22.33 a	39.56 a	24.00 cd	35.78 b
Ortalama			62.67 öd	4.20 **	9.79*	13.49**	28.90**	26.13**	48.69*
9	%0.1	24 sa	85.00	4.50 a	16.96 ab	4.20 b	26.35 c	29.33 a	48.21 bc
	%0.1	48 sa	65.00	4.25 a	18.00 a	3.81 b	31.56 b	28.75 a	56.50 b
	%0.2	24 sa	65.00	3.94 a	12.02 c	6.00 b	25.33 c	26.00 b	73.00 a
	%0.2	48 sa	80.00	4.25 a	18.00 a	3.81 b	27.81 bc	26.17 b	71.50 a
	Kontrol		75.00	3.17 b	12.67 bc	16.06 a	37.03 a	26.56 b	40.92 c
Ortalama			74.0 öd	4.02 **	15.53*	6.78**	29.62**	27.36**	58.03**

Çizelge 4.1(devamı) Tohumlara kolhisin uygulamasının çıkış oranı, meyve karakterleri, bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri.

Hat no	Doz	Süre	Çıkış (%)	Meyve eni (cm)	Meyve boyu (cm)	Meyve sayısı (adet/bitki)	Bitki boyu (cm)	Çiçek çapı (mm)	Yaprak alanı (cm ²)
10	%0.1	24 sa	75.00	4.36 a	17.95 a	4.32 b	18.54 c	26.17 b	51.22 b
	%0.1	48 sa	90.00	4.28 a	16.30 a	5.05 b	31.42 b	29.00 ab	35.75 c
	%0.2	24 sa	80.00	5.12 a	16.43 a	5.06 b	25.81 bc	30.00 a	70.00 a
	%0.2	48 sa	90.00	4.41 a	13.03 ab	4.83 b	21.70 c	26.21 b	34.50 c
	Kontrol		90.00	2.69 b	11.08 a	17.42 a	37.14 a	26.33 b	53.67 b
Ortalama			85.00 öd	4.17**	14.96*	7.33**	26.92**	27.54*	49.02**
11	%0.1	24 sa	95.00	4.42 a	15.37 a	6.23 b	31.13	25.88	41.89
	%0.1	48 sa	90.00	4.58 a	14.13 a	6.17 b	29.56	25.05	44.68
	%0.2	24 sa	90.00	4.28 a	14.01 a	5.45 b	29.88	25.56	39.42
	%0.2	48 sa	90.00	4.72 a	15.55 a	6.05 b	28.78	23.88	40.89
	Kontrol		95.00	3.00 b	10.00 b	30.00 a	31.44	24.89	53.78
Ortalama			92.0 öd	4.20**	13.81**	10.78**	30.16 öd	25.05 öd	44.13 öd
12	%0.1	24 sa	25.00	4.13 b	8.25 b	5.25 b	20.75 a	24.00 b	35.50 ab
	%0.1	48 sa	0.00	-	-	-	-	-	-
	%0.2	24 sa	25.00	5.00 a	10.50 a	3.75 b	18.00 ab	-	35.50 ab
	%0.2	48 sa	30.00	4.88 a	11.38 a	4.13 b	18.75 ab	25.00 a	42.00 a
	Kontrol		30.00	2.39 c	7.50 b	26.11 a	15.89 b	22.16 c	26.67 b
Ortalama			22.0 öd	4.1**	11.44**	9.81**	18.35**	23.72**	34.92**

öd: Önemli değil, * (p<0.05), ** (p<0.01)

- : Veri elde edilememiştir.

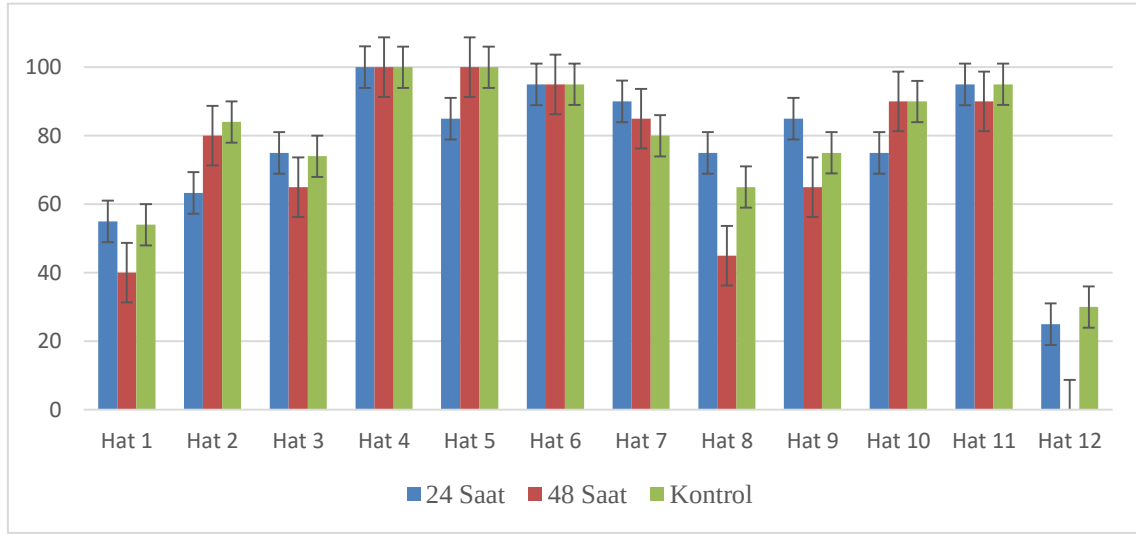
4.1.1. Morfolojik analizler

Tetraploid hat elde etmek için hatlara ait tohumlara %0.1 ve %0.2 dozlarında 24 ve 48 saat süreyle kolhisin uygulaması yapılmış ve bitkiler morfolojik özellikleri bakımından (tohum çıkış oranı, meyve eni, meyve boyu, meyve sayısı, bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı) incelenmiştir.

4.1.1.1. Tohumların çıkış oranı (%)

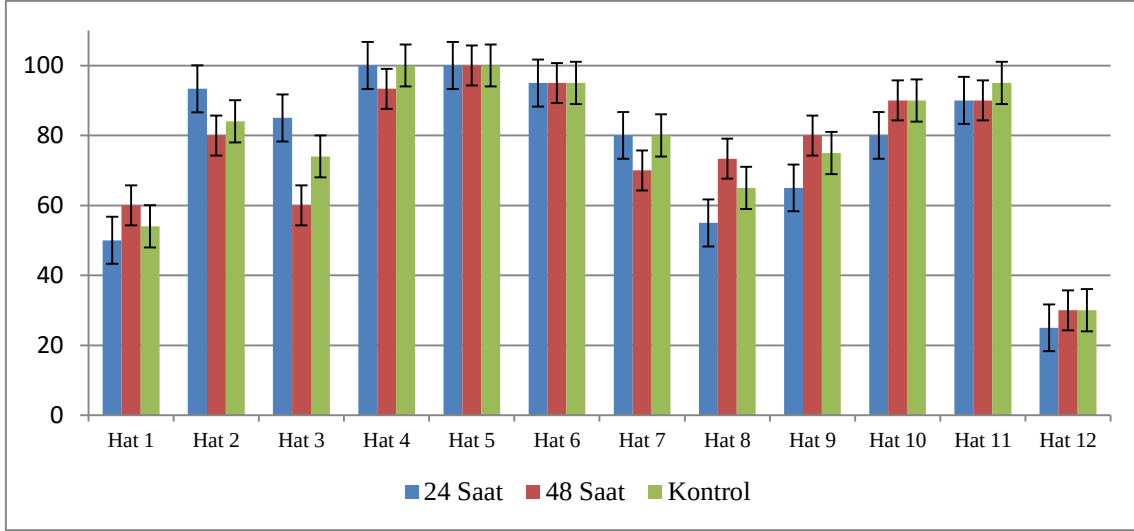
12 farklı hatta uygulanan kolhisin dozları ve sürelerinin hatlara göre en uygun kombinasyonunu bulmak amacıyla elde edilen sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

24 saat %0.1 kolhisin çözeltisinde bekletilen; 1, 3, 7, 8 ve 9 no'lu hatlara ait tohumlarda çimlenme oranı kontrole göre artış gösterirken, 4, 6 ve 11 no'lu hatlarda aynı kalmış, 2, 5, 10 ve 12 no'lu hatlarda azalma görülmüştür. 48 saat %0.1 kolhisin çözeltisinde bekletilen; 7 no'lu hatta ait tohumlarda çimlenme oranı kontrole göre artış gösterirken 4, 5, 6 ve 10 no'lu hatlarda aynı kalmış, 1, 2, 3, 8, 9 ve 11 no'lu hatlarda azalma görülürken, 12 nolu hatta çimlenme görülmemiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen çıkış oranları (%)

24 saat %0.2 kolhisin çözeltisinde bekletilen; 2 ve 3 no'lu hatlara ait tohumlarda çimlenme oranı ortalamaya göre artış gösterirken, 4, 5, 6 ve 7 no'lu hatlarda aynı kalmış, 1, 8, 9, 10, 11 ve 12 no'lu hatlarda azalma görülmüştür. 48 saat %0.2 kolhisin çözeltisinde bekletilen; 1, 8 ve 9 no'lu hatta ait tohumlarda çimlenme oranı ortalamaya göre artış gösterirken 5, 6, 10 ve 12 no'lu hatlarda aynı kalmış, 2, 3, 4 ve 7 no'lu hatlarda azalma görülmüştür (Şekil 4.2).



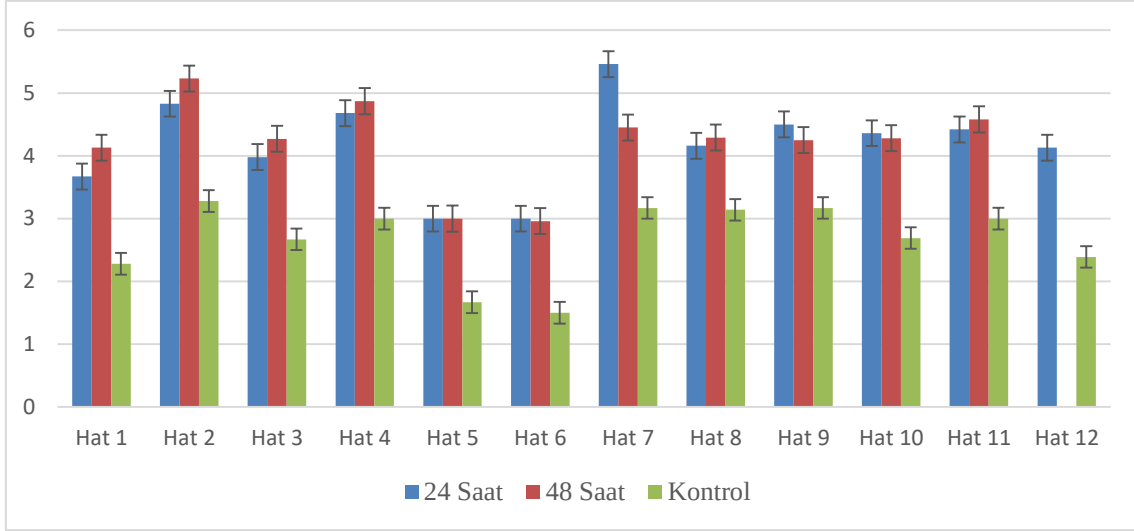
Şekil 4.2. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen çıkış oranları (%)

%0.2 kolhisin dozunda % 4 azalma göstermiştir. 48 saat %0.1 ve %0.2'lik kolhisin çözeltisinde bekletilen tohumlarda ise saat süreyle hatlarda tohum çıkış oranı en yüksek 4 numaralı hatta %100 olarak gözlemlenirken, %0.1 dozunda ve 24 saat sürede en düşük çıkış oranı ise 12 numaralı hatta %25 olarak gözlemlenmiştir. %0.1 dozunda ve 48 saat süreyle kolhisin çözeltisinde bekletilen tohumlarda çıkış oranı en yüksek 4 ve 5 numaralı hatlarda %100 iken, en düşük çıkış oranı ise 12 numaralı hatta %0 olarak gözlemlenmiştir. 24 saat ve %0.2 dozunda çıkış oranına bakıldığında ise en düşük çimlenme oranı 12 numaralı hatta gözlemlenirken, en yüksek çıkış oranı %100 ile 4 ve 5 numaralı hatta gözlemlenmiştir. %0.2 dozunda 48 saat sürede çıkış oranları incelendiğinde en yüksek çıkış 5 numaralı hatta %100 olarak ölçülmüş olup en düşük çıkış oranı ise 12 numaralı hatta %30 olarak ölçülmüştür. Genel olarak bakıldığında 12 hat üzerinde kolhisin uygulamalarının çıkış oranı ortalama %80.7 iken, kontrol uygulamalarının çıkış oranı ise %82.6 olarak belirlenmiştir. Lehrer vd. (2008)'nin, *Berberis thunbergii* bitkisinde yaptıkları çalışmada kolhisin ve orizalin çözeltileri kullanılmıştır. Tohumlar %0.2, %0.5, %1, %2 dozlarında kolhisin ve %0.002, %0.005, %0.01, %0.02 dozlarında orizalin çözeltilerinde 6, 12 ve 24 saat bekletilmiştir. Bu çalışmayla kullanılan her iki kimyasalın da tetraploid bitki elde etmekte etkili olduğu saptanmıştır. Tohumların çıkış oranları, kullanılan kimyasalların doz ve süre artışı ile azalmıştır. Rauf (2006), kolhisin uygulamaları sonucunda pamukta (*Gossypium arboreum*) kromozom sayılarının katlanmadığını ancak yaprak alanı, çiçeklenme ve çiçek sayısı gibi özelliklerinde

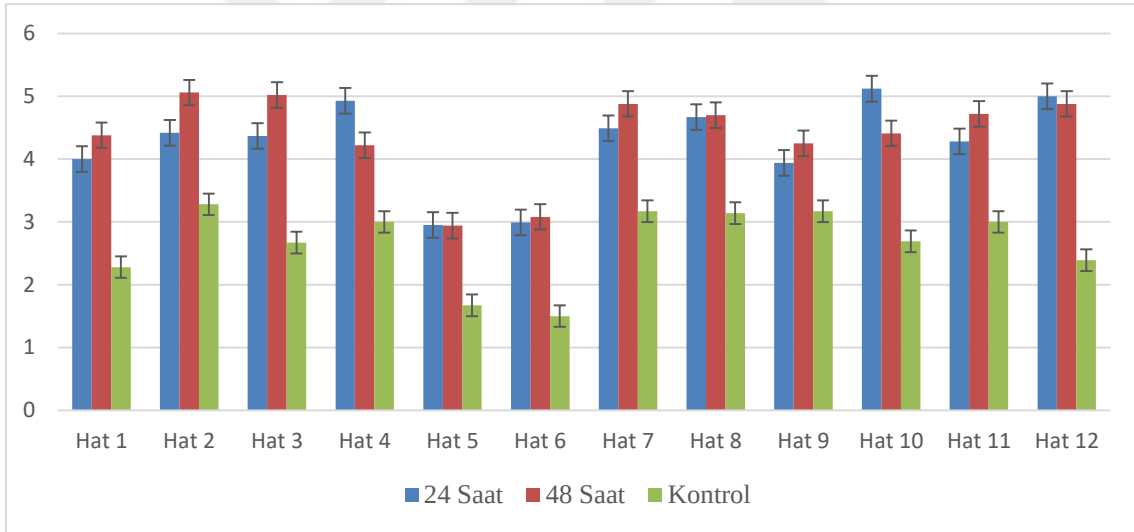
değişimler belirlendiğini, çimlenme oranlarının kontrollere göre düşük bulunduğunu bildirmiştir. Çalışma sonucunda Lehrer vd. (2008) ve Rauf (2006)'nın bulduğu sonuçlara benzer şekilde 24 saat %0.1 oranında kolhisin dozu uygulamasında 2, 5, 10 ve 12, 48 saat süresince yapılan uygulamada 1, 2, 3, 8, 9 ve 11 no'lu genotipler ile 24 saat %0.2 oranında kolhisin dozu uygulamasında 1, 8, 9, 10, 11 ve 12, 48 saat süresince yapılan uygulamada 2, 3, 4, 7 ve 11 no'lu genotiplerin çimlenmesinde azalma görülmüştür. Bunlardan ayrı %0.1 kolhisin dozunun her iki uygulama süresinde 4 ve 6 no'lu genotipler ile %0.2 kolhisin dozunun her iki uygulama süresinde 5 ve 6 no'lu genotiplerin çimlenme oranları değişmemiş, 24 saat %0.1 oranında kolhisin dozu uygulamasında 1, 3, 7, 8 ve 9, 48 saat süresince yapılan uygulamada 7 no'lu genotipler ile 24 saat %0.2 oranında kolhisin dozu uygulamasında 2 ve 3, 48 saat süresince yapılan uygulamada 1, 8 ve 9 no'lu genotiplerin çimlenme oranlarının arttığı tespit edilmiş olup bu farklılığın genotiplerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte kullanılan hatların kontrol uygulamalarındaki farklı çimlenme oranlarının tohumlarının saklama süresi ve koşullarına bağlı olarak olumsuz etkilendiği ve buna bağlı olarak çıkış oranlarını olumsuz etkilediği düşünülmektedir.

4.1.1.2. Meyve eni (cm)

Farklı iki doz ve sürelerde uygulanan kolhisin çözeltisinin meyve eni üzerine etkileri incelendiğinde; %0.1 dozunda 24 saat süre ile bekletilen tohum uygulamasından elde edilen bitkilere ait meyve enlerinde kontrole göre değişik oranlarda artış gözlenmiştir. Her hattın kendi kontrol ortalamasına göre meyve eninde en yüksek artış oranı 7 numaralı hatta olurken, meyve eninde en düşük artış oranı 8 numaralı hatta gözlemlenmiştir. 5 ve 6 no'lu hatlarda %0.1 kolhisin dozunda uygulama süresi bakımından farklılık tespit edilememiştir. %0.1 dozunda 48 saat süre ile kolhisin çözeltisi uygulanan tohumlardan elde edilen bitkilere ait meyve enlerinde artış gözlemlenirken, uygulama sonucu tohum çimlenmesi olmadığı için 12 numaralı hatta ait meyve eni değeri elde edilememiştir. Meyve eni bakımından her bir hattın kontrol ortalamasına göre en yüksek artış oranı 2 numaralı hatta gözlemlenirken, en düşük artış oranı 9 numaralı hatta görülmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve enleri (cm)



Şekil 4.4. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve enleri (cm)

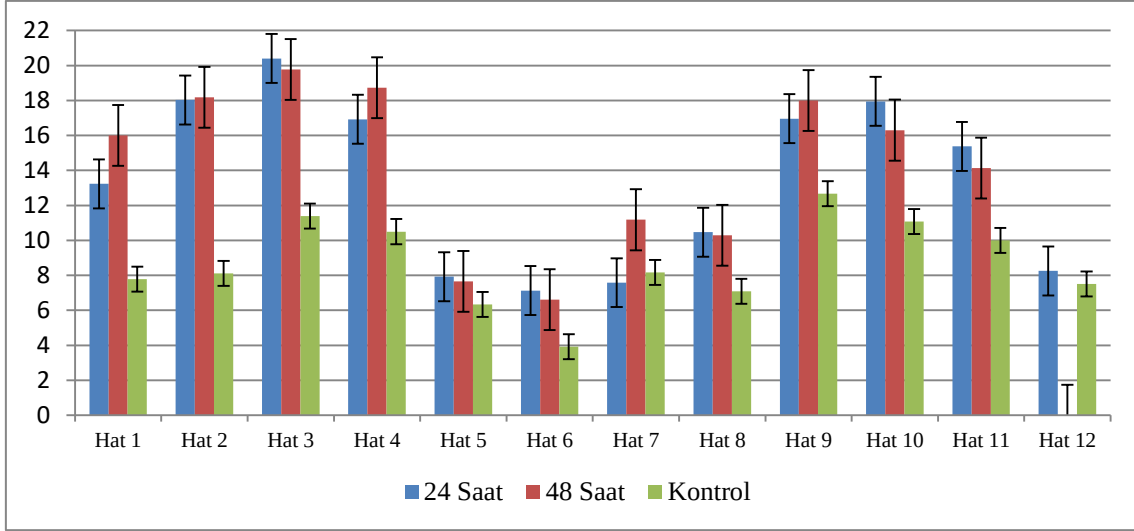
24 saat süreyle %0.2'lik kolhisin çözeltisinde bekletilen tohumlardan elde edilen bitkilere ait meyve enleri tüm hatlarda ortalamaya göre artış gösterirken, en yüksek artış 12 numaralı hatta en düşük artış oranı ise 9 numaralı hatta gözlemlenmiştir. 48 saat ve %0.2'lik kolhisin uygulamasında da kontrole göre tüm hatlarda artış gözlemlenmiştir. En yüksek artış oranı 12 numaralı hatta gözlemlenirken en düşük artış oranı ise yine 9 numaralı hatta gözlemlenmiştir. Meyve eni farklılıkları hatta bağlı olarak değişiklik

göstermiştir (Şekil 4.4). Örneğin, Mensah vd. (2007) nın yapmış oldukları çalışma ile farklı kolhisin konsantrasyonları (%0.0-%0.25 arasında) ile muamele edilen susam tohumlarında doza bağlı olarak meyve iriliğinde artış olduğunu belirlemişlerdir. Denemede kullanılan genotip sayısına bağlı olarak değişik oranlarda Mensah vd. (2007) olduğu gibi meyve eninde artış olduğu görülmüştür. Genotipler arasında en yüksek artış %0.1'lik kolhisin çözeltisi 24 saat uygulamasında 7 no'lu, 48 saatlik uygulamada ise 2 no'lu genotipte elde edilirken 5 ve 6 no'lu genotipler her iki uygulama süresinde aynı oranda artış göstermiş, diğer genotiplerdeki artışın birbirine yakın oranlarda olduğu görülmüştür. Ancak %0.2'lik kolhisin çözeltisi 24 saat uygulamasında 10 ve 12 no'lu, 48 saatlik uygulamasında ise 2 ve 3 no'lu genotiplerde artış olduğu, her iki uygulama dozu ve süresi karşılaştırıldığında yüksek uygulama dozunda elde edilen meyve en değerleri, düşük doz uygulamasından elde edilen değerlerden genotiplere bağlı olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu değişen oranlardaki artan meyve en oranları değerlerinin uygulama dozu, süresi ve genotipten kaynaklandığı düşünülmektedir.

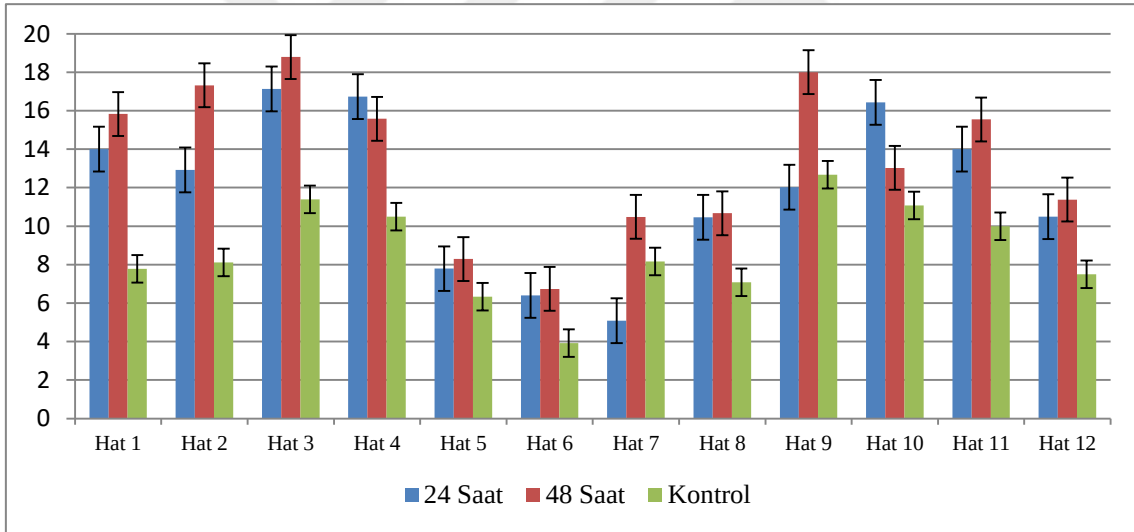
4.1.1.3. Meyve boyu (cm)

Tohumlara uygulanan 24 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisinden elde edilen bitkilere ait meyve boylarından 7 no'lu hatta ait değerler azalırken diğer hatlardan elde edilen meyve boyları artış göstermiştir. %0.1'lik kolhisin çözeltisinde 48 saat tohum uygulamasına ait bitkilerde 12 no'lu hatta çimlenme olmadığı için ölçüm yapılamazken diğer hatlarda değişik oranlarda artış gözlemlenmiştir (Şekil 4.5).

%0.2'lik kolhisin çözeltisi 24 saat uygulamasında 7 ve 9 no'lu hatlara ait meyve boylarında azalma görülürken diğer hatlarından elde edilen meyve boyları ortalamaya göre değişik oranlarda artış göstermiştir. 48 saat %0.2'lik kolhisin çözeltisi uygulamasında tüm hatlara ait meyve boylarında artış görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve boyları (cm)



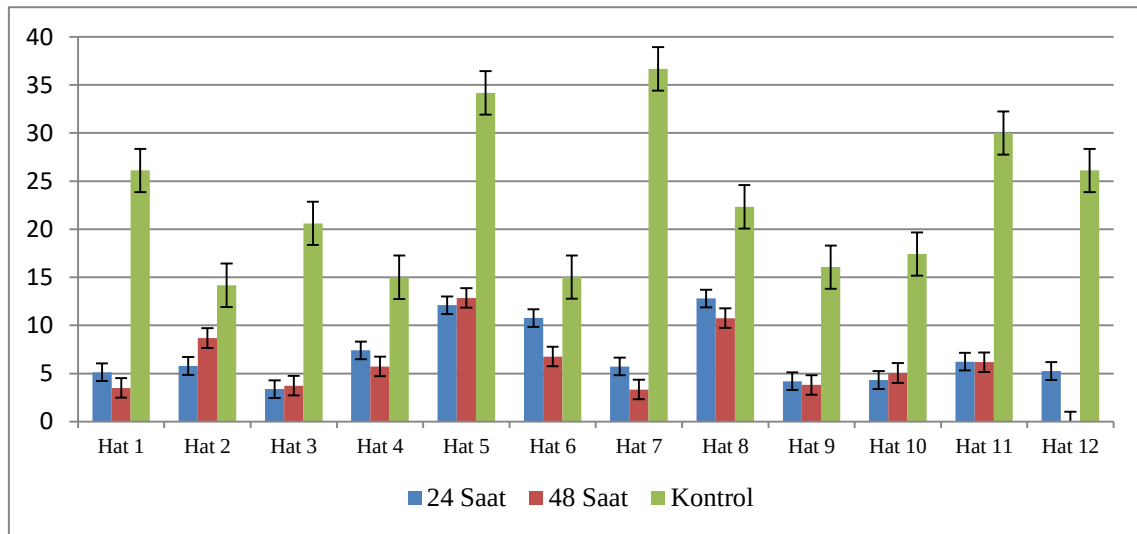
Şekil 4.6. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve boyları (cm)

Genel olarak bakıldığında, tohumlara %0.1 ve %0.2 dozlarında 24 ve 48 saat sürelerde uygulanan kolhisin çözeltisi; %0.1 dozunda 24 saat sürede 7 no'lu hatta ve %0.2 dozunda 24 saat sürede 7 ve 9 no'lu hatlarda meyve boyu kontrole göre azalırken, diğer hatlarda tüm doz ve sürelerde artış görülmüştür. Ceren (2012), altın çilek bitkisinde tohum ve fide dönemindeki bitkilerin büyüme uçlarına uyguladığı farklı doz (kontrol, %0.2, 0.4, 0.8) ve sürelerde (8, 16, 24 saat) kolhisinin etkilerini tespit etmiştir. Araştırmanın

sonucunda tohumlara yapılan uygulamanın konsantrasyon ve süresine bağlı olarak, süre uzunluğu ve yüksek dozun, meyve boyunu azalttığı belirlenmiştir. Çalışmamızın sonucunda her iki kolhisin dozu ve süresinde bütün genotiplere ait tohum uygulamasından elde edilen bitkilere ait meyve boyları, kontrole oranla Ceren (2012)'nin elde ettiği sonuçlara benzer şekilde arttığı tespit edilmiştir. Her iki doz ve uygulama süresi karşılaştırıldığında en yüksek meyve boyu 24 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisi uygulaması yapılan 3 no'lu hattın elde edilirken, 48 saat %0.2'lik kolhisin çözeltisi uygulamasında genel olarak genotiplere ait meyve boyları 24 saatlik uygulamaya göre daha yüksek değerler vermiştir. Uygulama doz ve sürelerine bağlı olarak görülen bu değişken sonuçlara genotip farklılığının neden olduğu düşünülmektedir.

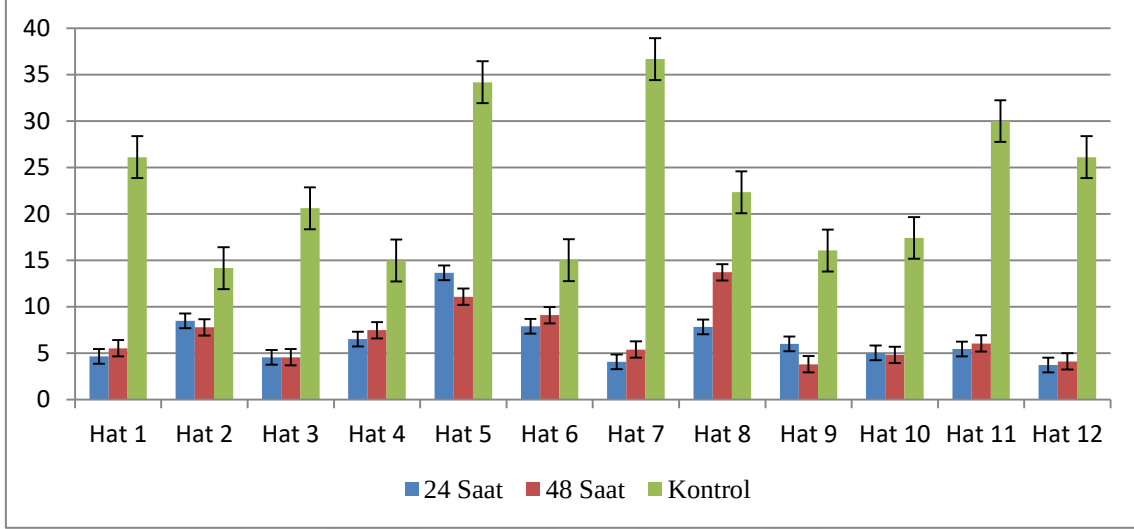
4.1.1.4. Meyve sayısı (adet/bitki)

Hatlara ait tohumlara 24 saat ve 48 saat süreyle %0.1 kolhisin çözeltisi uygulanması sonucu elde edilen bitkilere ait meyve sayısı ortalamaya göre değişik oranlarda azalış gösterirken, 48 saat %0.1 kolhisin çözeltisi uygulamasında 12 no'lu hatta tohum çimlenmesi olmadığı için meyve elde edilememiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin meyve sayıları (adet/bitki)

%0.2'lik kolhisin çözeltisi, 24 saat ve 48 saat uygulamasından elde edilen bitkilerin tümünde meyve sayısının ortalamaya göre azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.8).

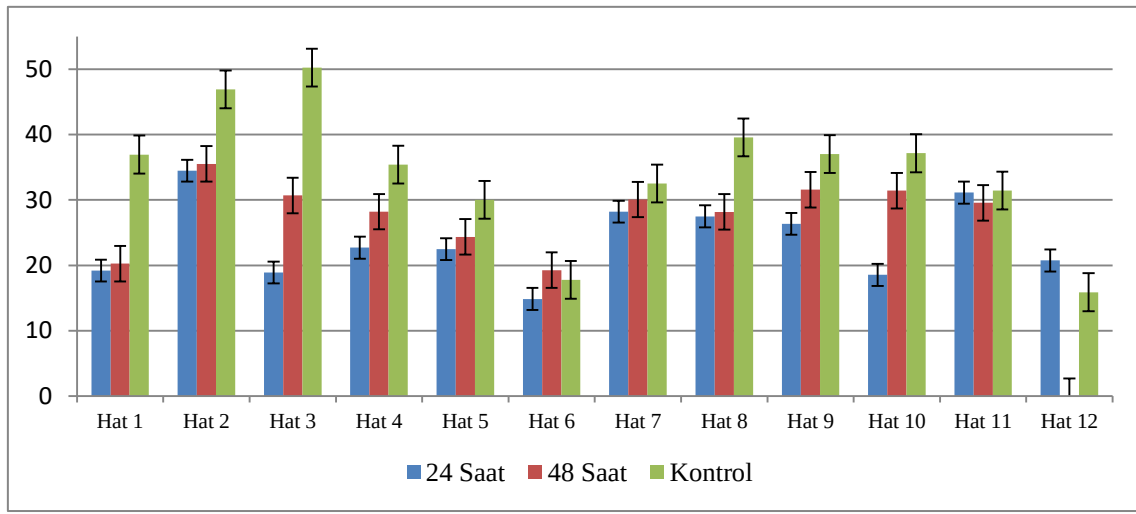


Şekil 4.8. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin meyve sayıları (adet/bitki)

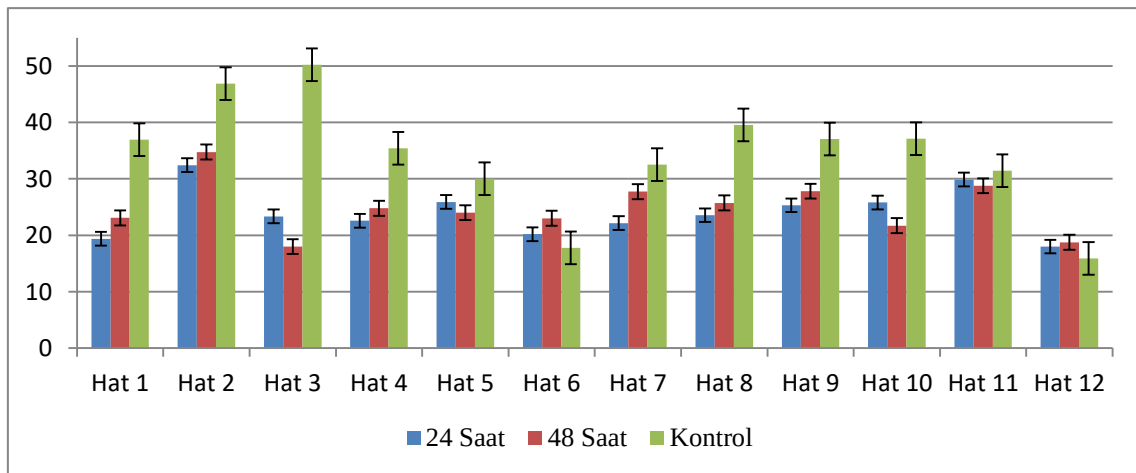
Kolhisin uygulamaları tüm hatlarda bitki başına düşen meyve sayısını kontrole göre azaltmıştır. 6 no'lu hat hariç diğer hatlarda uygulamaların aynı istatistiksel grupta yer aldığı tespit edilmiştir. Nitekim Mensah vd. (2007)'nin yapmış oldukları çalışmada farklı kolhisin konsantrasyonları (%0.0-%0.25 arasında) ile muamele edilen susam tohumlarında doza bağlı olarak meyve sayısı gibi bazı kantitatif özelliklerde de azalma meydana geldiğini belirlemişlerdir. Tanaka (1950), bu sonuçlardan farklı olarak patlıcanda 9 farklı çeşitte kolhisin uygulamalarıyla tetraploidler elde etmiştir. Tetraploidlerin çoğunda fertilitate bakımından sorunlar ortaya çıksa da 'Uonuma Purse' patlıcan çeşidinde verimde artış olmuş, çok sayıda tetraploid meyve elde edildiğini belirtmiştir. Çalışmamızda tohum uygulaması yapılan tüm genotiplere ait meyve sayıları kontrol ile kıyaslandığında oldukça düşük değerler elde edilmiş, Tanaka (1950)'nin patlıcan ile yaptığı çalışma sonucu ile tam karşıt bir durum oluşturmuştur. Her iki uygulama dozunda oransal olarak en büyük düşüş 7 no'lu genotipte olurken, en az değer kaybı 24 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisi uygulaması sonucu 6 no'lu genotipten elde edilmiştir. Kolhisinin doz oranlarına göre genotiplerin meyve sayılarındaki değişim ve genotiplerin kontrolleri arasındaki meyve sayılarının farklı olmasının genotip özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.1.5. Bitki boyu (cm)

Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisi uygulaması sonucu elde edilen bitki boyları değerleri 6 no'lu hat hariç diğerleri kontrole göre değişik oranlarda azalırken, 6 no'lu hatta ait 48 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisi uygulanan bitki boyu değeri artmıştır. 12 no'lu hatta ait 48 saat %0.1'lik kolhisin çözeltisi uygulaması sonucu çimlenme olmadığı için bitki boyu ölçülememiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitki boyları (cm)



Şekil 4.10. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitki boyları (cm)

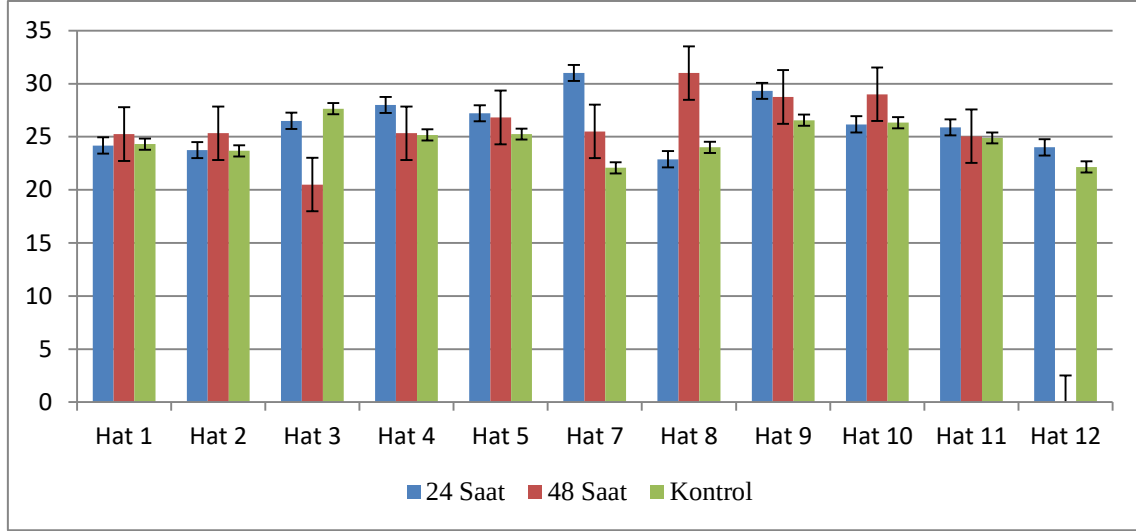
Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saat %0.2'lik kolhisin çözeltisi uygulaması sonucu elde edilen bitki boyları değerleri 6 ve 12 no'lu hatlarda kontrole göre artarken diğer hatlardan elde edilen bitkilerin boyları değişik oranlarda azalış göstermiştir (Şekil 4.10).

Bitki boyu 12 no'lu hat hariç diğer hatlarda, %0.1 ve %0.2 dozlarında 24 ve 48 saat sürelerinde uygulanan kolhisin çözeltisinde kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. Kolhisin uygulamasının bitki boyunda azalmaya neden olduğuna ilişkin çalışmalardan birisi Rauf (2006), tarafından pamukta (*Gossypium arboreum*) yapılmıştır. Kolhisin uygulamaları sonucunda kromozom sayılarının katlanmadığını ancak bitki boyu oranının kontrollere göre düşük bulunduğunu bildirmiştir. Nitekim, Ceren (2012), altın çilek bitkisi tohum ve fide dönemindeki bitkilerin büyüme uçlarına yaptığı kolhisinin farklı doz ve sürelerinde tohumlara yapılan uygulamanın konsantrasyon ve süresine bağlı olarak, süre uzunluğu ve yüksek dozun bitki boyunu olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Çalışma sonucunda 6 no'lu genotipin 48 saat %0.1 kolhisin dozu uygulaması ile 24 ve 48 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamaları hariç tüm bitki boyları Ceren (2012) ve Rauf (2006)da elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermiş ve olumsuz etkilenmiştir. Her iki kolhisin dozu uygulamasından en çok 3 no'lu genotip olumsuz etkilenirken en az 11 no'lu genotipin etkilendiği tespit edilmiştir. Tohumdan uygulanan kolhisin dozuna bağlı olarak bitki boylarındaki azalış farklı olmuştur. Bu farklılığın genotip özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.1.6. Çiçek çapı (mm)

Farklı iki doz ve sürelerde uygulanan kolhisin çözeltisi uygulamalarında; 24 saat %0.1'lik çözeltide bekletilen hatlara ait tohumlarda elde edilen bitkilerden 2, 4, 5, 7, 9, 11, 12 no'lu hatların çiçek çapları kontrole göre değişik oranlarda artış gösterirken, 1, 3, 8 ve 10 no'lu hatlar azalma göstermiş, 6 no'lu hattın ise kontrol bitkisinde çiçek çapı ölçülemediği için veri elde edilememiştir. 48 saat %0.1'lik çözeltide bekletilen; 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 no'lu hatların tohumlarından elde edilen bitkilerin çiçek çapları artış gösterirken 3 no'lu hat ortalamaya göre azalma göstermiştir. 6 numaralı hattın kontrol

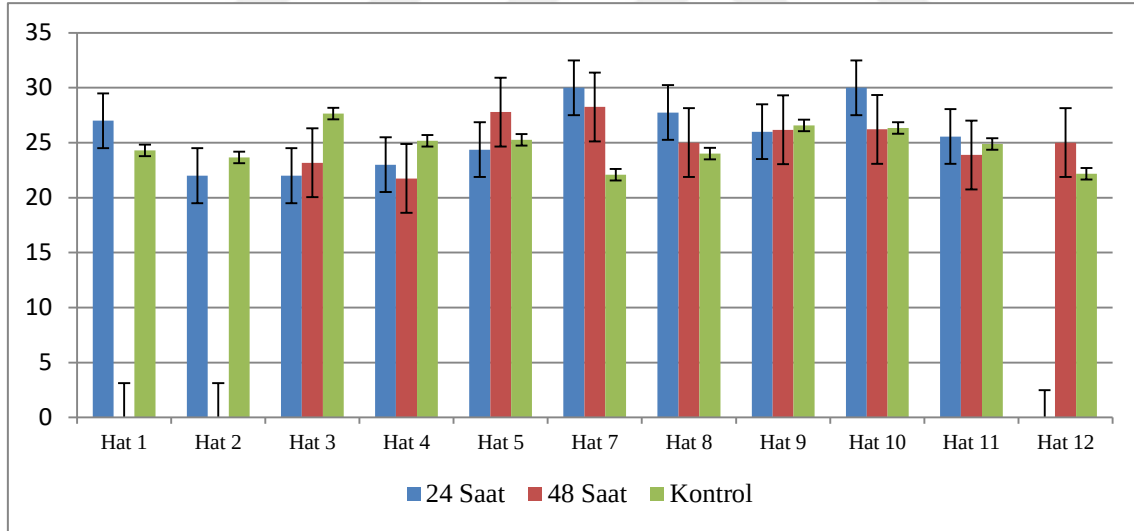
bitkisinde çiçek çapı ölçülemediğinden veri elde edilmemiş, 12 numaralı hata ise 48 saat %0.1 kolhisin çözeltisi uygulamasında tohum çimlenmesi olmadığı için bitki elde edilememiş ve çiçek çapı ölçülememiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin çiçek çapları (mm)

24 saat %0.2'lik çözeltide bekletilen 1, 7, 8, 10 ve 11 no'lu hatlara ait tohumlardan elde edilen bitkilerin çiçek çapları kontrole göre artış gösterirken, 2, 3, 4, 5, 9 no'lu hatlara ait çiçek çapları azalış göstermiştir. 6 no'lu hatta ve kontrol bitkilerinde çiçek çapı ölçülemediğinden, 12 no'lu hatta ise çiçek çapı ölçülemediğinden dolayı veri elde edilememiştir. 48 saat %0.2'lik çözeltide bekletilen; 5, 7, 8, 12 no'lu hatlara ait tohumlardan elde edilen bitkilerin çiçek çapı kontrole göre artış gösterirken, 3, 4, 9, 10, 11 no'lu hatlar azalış göstermiştir. 1 ve 2 no'lu hatlar ile 6 no'lu hattın kontrol bitkisinde çiçek çapı ölçülemediği için veri elde edilememiştir (Şekil 4.12). Yaptığımız çalışmada kolhisin uygulama dozu ve süresinin çiçek çapı üzerine etkisine genel olarak bakıldığında %0.1'lik kolhisin dozunun 24 saat uygulamasında 6 hatta, 48 saat uygulamasında 8 hatta artış görülmüştür. %0.2 dozunda 24 ve 48 saat kolhisin uygulaması yapılan 5'er hatta azalış gözlemlenmiş 7 hatta ise kontrole göre artış görülmüştür. Ishikawa vd. (2001), tetraploid biberlerin diploid eşdeğerlerine göre daha büyük ve geniş çiçeklere sahip olduğunu, diploid çiçeklerde tipik olarak 6 stamen ve petal olduğu buna karşın tetraploid çiçeklerde 7 stamen

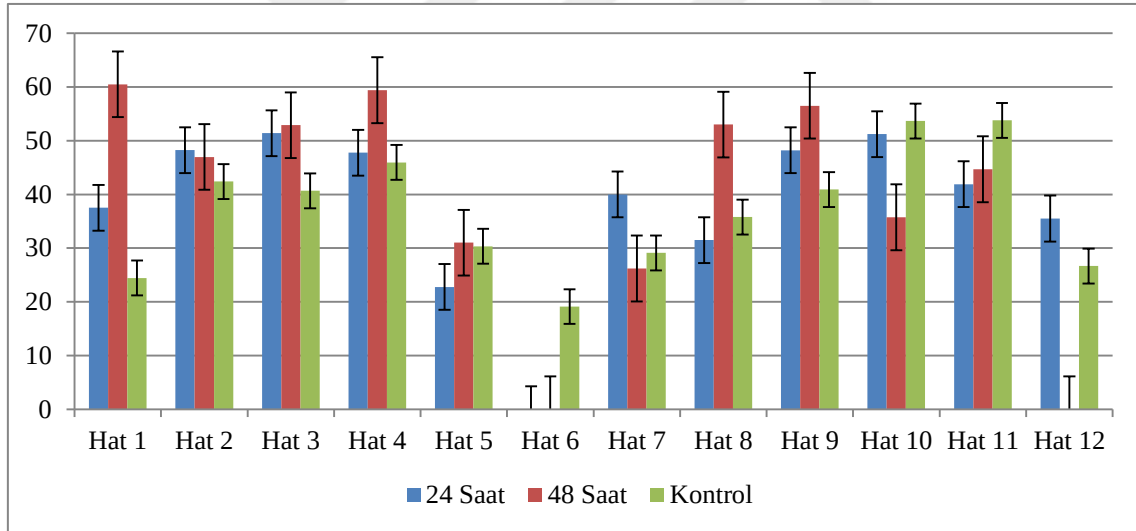
ve petal bulunduğunu, yine tetraploid bitkilerin %20 daha büyük ovaryum ve %25 daha büyük polen çapına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda çiçek çaplarındaki değişim; 24 saat %0.1 kolhisin dozunda 3, 4, 5, 7, 9, 11 ve 12 no'lu genotipler, 48 saatlik uygulamada 1, 2, 5, 7, 8, 9 ve 10 no'lu genotipler ile 24 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamasında 1, 7, 8, 10 ve 11 no'lu genotipler ile birlikte 48 saatlik uygulamada 5, 7, 8 ve 12 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar Ishikawa vd. (2001) ile benzerlik göstermiştir. Ancak, 24 saat %0.1 kolhisin dozunda 8 no'lu genotip ve 48 saatlik uygulamada 3 no'lu genotip ile 24 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamasında 2, 3, 4, 5 ve 9 no'lu genotipler ile birlikte 48 saatlik uygulamasında 4, 9, 10 ve 11 no'lu genotiplere ait çiçek çaplarında azalma, 24 saat %0.1 kolhisin dozunda 1, 2 ve 11 no'lu genotipler ile 48 saatlik uygulamada çiçek çaplarında değişim görülmemiştir. Önceki çalışmalar ile benzer ve farklı sonuçların elde edilmesinin nedeninin genotipler arası farklılıktan ileri geldiği düşünülmektedir.



Şekil 4.12. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin çiçek çapları (mm)

4.1.1.7. Yaprak alanı (cm²)

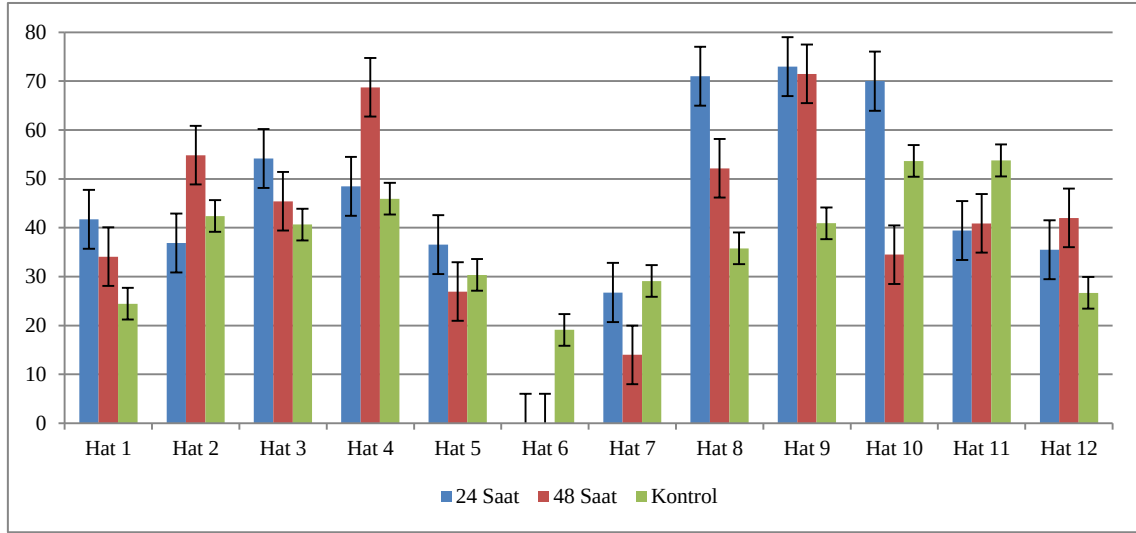
%0.1'lik dozda 24 saat kolhisine maruz bırakılan; 1, 2, 3, 4, 7, 9, 12 no'lu hatların tohumlarından elde edilen bitkilerin yaprak alanlarında kontrole göre artış görülürken 5, 8 ve 11 no'lu hatlarda kontrole göre yaprak alanında azalma görülmüştür. 6 no'lu hatta ise kolhisin uygulanmış tohumların bitkilerinden yaprak örneği alınamadığı için ölçüm yapılamamış olup veri elde edilememiştir. %0.1'lik dozda 48 saat kolhisine maruz bırakılan; 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9 no'lu hatların tohumlarından elde edilen bitkilerde yaprak alanı kontrole göre artış gösterirken, 7, 10, 11 no'lu hatlarda azalmıştır. 6 ve 12 no'lu hatlarda ise kolhisin uygulanmış tohumların bitkilerinden yaprak örneği alınamadığı için ölçüm yapılamamış olup veri elde edilememiştir(Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin yaprak alanları (cm²)

24 saat %0.2'lik çözeltide bekletilen; 1, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12 no'lu hatların tohumlarından elde edilen bitkilerde yaprak alanı kontrole göre artış gösterirken, 2, 7, 11 no'lu hatlarda kontrole göre azalma görülmüştür. 6 no'lu hatta ise kolhisin uygulanmış tohumların bitkilerinden yaprak örneği alınamadığı için ölçüm yapılamamış olup veri elde edilememiştir. 48 saat %0.2'lik çözeltide bekletilen; 1, 2, 3, 4, 8, 9, 12 no'lu hatların

tohumlarından elde edilen bitkilerde yaprak alanı kontrole göre artış gösterirken, 5, 7, 10, 11 no'lu hatlarda kontrole göre azalma görülmüştür. 6 no'lu hatta ise kolhisin uygulanmış tohumların bitkilerinden yaprak örneği alınamadığı için ölçüm yapılamamış olup veri elde edilememiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin yaprak alanları (cm²)

Çalışmamızda, 1, 3, 4 ve 9 no'lu hatların tüm doz ve sürelerde yaprak alanı kontrole göre artış gösterirken, 11 no'lu hattın yaprak alanında tüm doz ve sürelerde azalma görülmüştür. Tanaka (1950), patlıcanda 9 farklı çeşitte kolhisin uygulamalarıyla elde edilen tetraploid bitkilerin yaprak alanı ve fotosentez ürünlerindeki artışla birlikte homojen ve bol meyve elde edilebildiğini belirtmiştir. Shi vd. (2010)'nin yapmış oldukları çalışmada tetraploid bitkilerin yaprak eni, boyu ve kalınlığının diploid bitkilerden daha fazla olduğunu, petal büyüklüğü ve perikarp kalınlığının önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Takizawa vd. (2008), tatlı biber çeşitlerinin ıslahında poliploid bitkilerin kullanılabilirliğini açığa kavuşturulmuşlardır. Hidroponik yetiştiricilikte diploid ve tetraploid bitkileri, büyüme karakteristikleri, fotosentez (Pn) ve mineral madde alımları 3 farklı meyve yükü altında belirlenmiştir. Tetraploid bitkilerde yaprak alanı ve kalınlığı artmakla birlikte, poliploid bitkilerde fotosentez bakımından farklılık belirlenmemiştir. Çalışmamızda kullanılan genotiplere ait kontrol uygulaması yaprak alanları arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında en düşük yaprak alanı 6

no'lu genotipe aitken, en yüksek yaprak alanı 10 ve 11 no'lu genotiplere aittir. 24 saat %0.1 oranındaki kolhisin uygulaması sonucunda 5, 8 ve 11 no'lu genotipin, 48 saat uygulamasında 7, 10 ve 11 no'lu genotiplerin, kolhisin dozunun %0.2 oranı ve 24 saat uygulamasında 2 ve 7 no'lu genotipler, 48 saat uygulamasında 5, 7, 10 ve 11 no'lu genotiplerden kontrol uygulamasından daha küçük değerler elde edilmiş Tanaka (1950), Takizawa vd. (2008) ve Shi vd. (2010)nin elde ettiği sonuçlar ile karşıt bir durum oluştururken, diğer genotiplerin her iki doz ve uygulama süresi sonucunda genotiplere ait yaprak alanaları artarak Tanaka (1950), Takizawa vd. (2008) ve Shi vd. (2010) ile benzer olduğu görülmüştür.

%0.1 ve %0.2 dozlarında kolhisin çözeltisi içinde 24 ve 48 saat süresince bekletilen tohumlardan elde edilen bitki yapraklarındaki stoma sayısı, stoma eni ve stoma boyu üzerine etkileri incelenmiş olup elde edilen sonuçlar çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Tohumlara kolhisin uygulamalarının yapraklardaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu üzerine etkileri.

Hat No	Doz	Süre	Stoma sayısı (adet)	Stoma eni(µm)	Stoma boyu(µm)
1	0.2%	24 sa	6.33b	23.03	30.8
	0.2%	48 sa	7.32a	24.75	34
	Kontrol		11*	21.5 öd	30 öd
2	0.1%	24 sa	5.66b	25.54	34.9ab
	0.1%	48 sa	5.8b	25.65	37.2a
	0.2%	24 sa	6.66a	25.1	33.9b
	0.2%	48 sa	6.33ab	23.63	33.73b
	Kontrol		12.3***	27.3 öd	33*
3	0.1%	24 sa	6ab	22.13	31.9
	0.1%	48 sa	5.85b	24.4	33.4
	0.2%	24 sa	7a	23.3	34.6
	0.2%	48 sa	5.6b	25.7	33.7
	Kontrol		13*	23.2 öd	30.6 öd
4	0.2%	24 sa	6.6	26.9	32.6
	Kontrol		9 öd	28.7 öd	33.4 öd
5	0.1%	24 sa	4.97b	21.5	31.12
	0.1%	48 sa	5.4b	23.16	32.04
	0.2%	24 sa	5.94ab	22.7	31.96
	0.2%	48 sa	6.35a	23.87	34.11
	Kontrol		11**	26.7 öd	29.3 öd
6	0.1%	24 sa	6.3ab	24.2	35.8b
	0.1%	48 sa	3.76c	27.76	40.73a
	0.2%	24 sa	6.36a	25.7	35.86b
	0.2%	48 sa	5.35b	23.87	36.9ab
	Kontrol		9.7**	27.7 öd	34.1**
7	0.1%	24 sa	4.9	25.92	42.1
	0.1%	48 sa	-	-	-
	0.2%	24 sa	3.7	28.3	47.75
	0.2%	48 sa	3.5	29	49.55
	Kontrol		8.3 öd	24 öd	30.9 öd

Çizelge 4.3. Tohumlara kolhisin uygulamalarının yapraklardaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu üzerine etkileri. (devam)

Hat No	Doz	Süre	Stoma sayısı (adet)	Stoma eni(µm)	Stoma boyu(µm)
8	0.1%	24 sa	7.8a	25.1	33.75
	0.1%	48 sa	7.5ab	23.95	35.45
	0.2%	24 sa	-	-	-
	0.2%	48 sa	7.3b	23.7	35.9
	Kontrol		12.7*	26.4 öd	33.2 öd
9	0.1%	24 sa	6.3	25.3	34
	0.1%	48 sa	6.8	21.5	34.05
	0.2%	24 sa	6.3	28.7	38.2
	0.2%	48 sa	6.7	23.6	33.7
	Kontrol		8.7 öd	24.6 öd	32.2 öd
10	0.1%	24 sa	7.3	23	30.1
	0.1%	48 sa	-	-	-
	0.2%	24 sa	-	-	-
	0.2%	48 sa	7.7	25.7	32.2
	Kontrol		10.3 öd	23.7 öd	33.2 öd
11	0.1%	24 sa	8	25	34.3
	0.1%	48 sa	8	27.2	38.3
	0.2%	24 sa	8	21.8	33.9
	0.2%	48 sa	-	-	-
	Kontrol		11 öd	26.1 öd	33 öd
12	0.1%	24 sa	8.3	26.3	37.2
	0.1%	48 sa	-	-	-
	0.2%	24 sa	8.3	31.9	42.1
	0.2%	48 sa	-	-	-
	Kontrol		12.3 öd	30.2 öd	36 öd

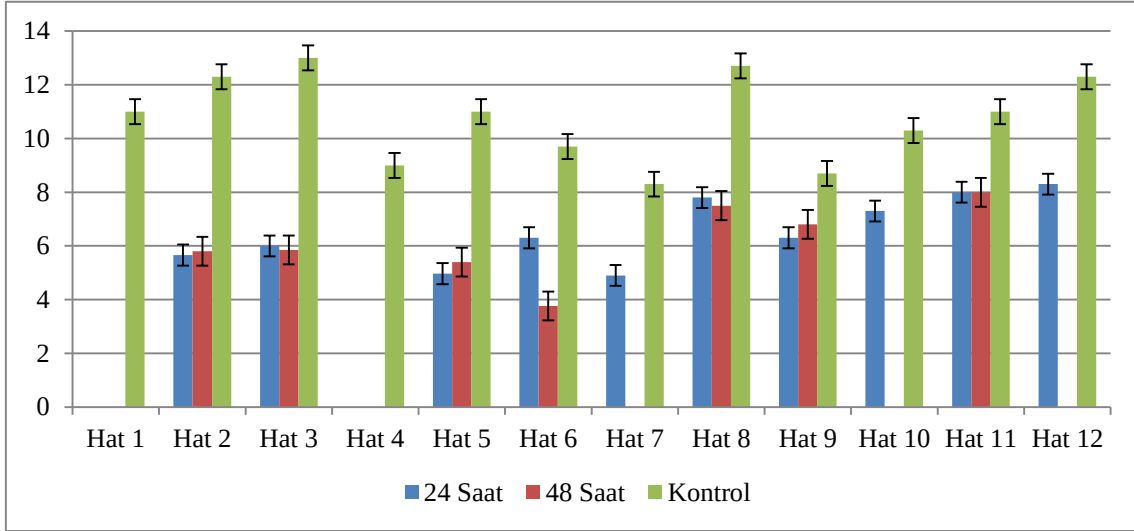
öd: Önemli değil, * (p<0.05), ** (p<0.01)

- : Veri elde edilememiştir.

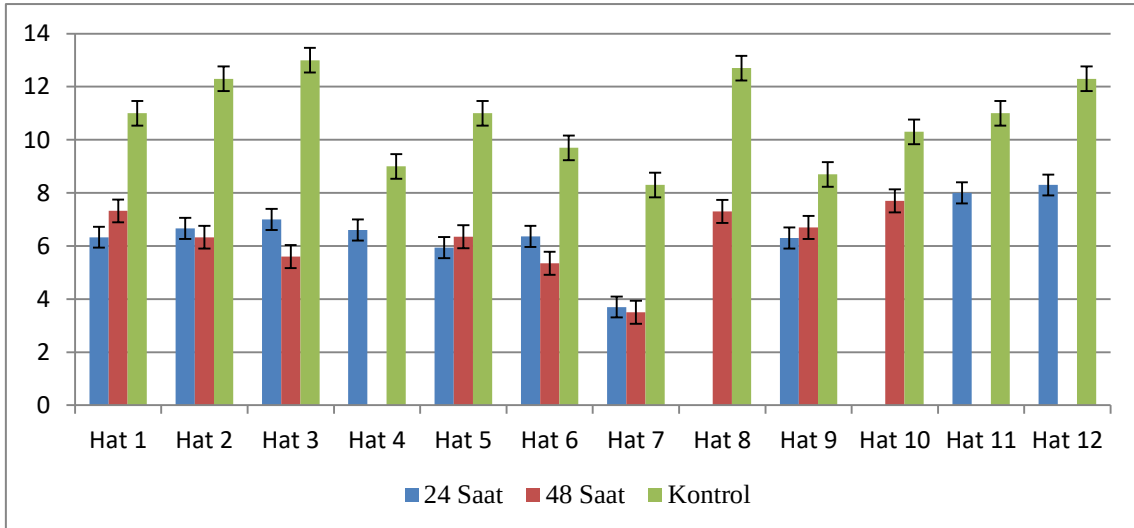
4.1.1.8. Stoma sayısı (adet)

Hatlara ait tohumlara farklı süre ve dozlarda uygulanan kolhisin çözeltisi, bitkilere ait stoma sayıları ortalama değerlerinin kontrol ortalamasından daha düşük değerler elde edilmesine neden olmuştur (Şekil 4.15, Şekil 4.16). İstatistiki olarak hatlar arası farklılıklar 1, 3 ve 8 no'lu hatlar %5 seviyesinde, 2, 5 ve 6 no'lu hatlar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). İstatistiki olarak %5 düzeyinde önemli olan, 1 no'lu hat stoma sayısı, en düşük 24 saat, en yüksek 48 saat %0.2 kolhisin dozunda, 3 no'lu hat stoma sayısı, en düşük 48 saat %0.2 kolhisin dozunda en yüksek 24 saat %0.2 kolhisin dozunda, 8 no'lu hat stoma sayısı, en düşük 48 saat %0.2 kolhisin dozunda en yüksek 24 saat %0.1 kolhisin dozunda elde edilmiştir. İstatistiki olarak %1 düzeyinde önemli olan, 2 no'lu hat stoma sayısı, en düşük 24 saat % 0.1 kolhisin, en yüksek 24 saat %0.2 kolhisin dozunda, 5 no'lu hat stoma sayısı, en düşük 24 saat %0.1 kolhisin dozunda, en yüksek 48 saat %0.2

kolhisin dozunda, 6 no'lu hat stoma sayısı, en düşük 48 saat %0.1 kolhisin dozunda, en yüksek 24 saat %0.2 kolhisin dozunda tespit edilmiştir.



Şekil 4.15. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma sayısı (adet/bitki).



Şekil 4.16. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle % 0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma sayısı (adet/bitki).

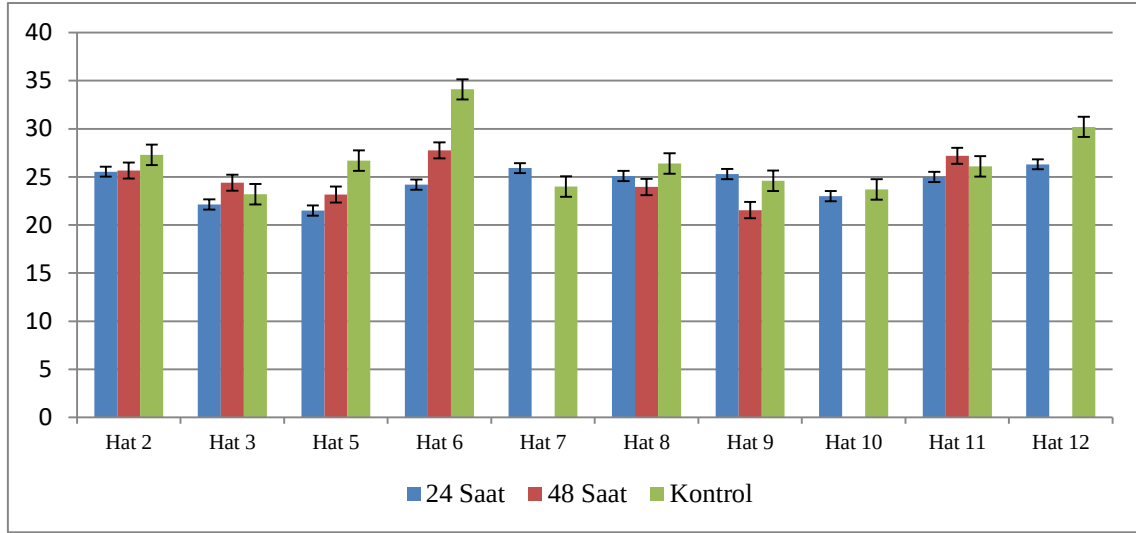
Çalışmamızda farklı süre ve dozlarda hatlara ait tohumlara uygulanan kolhisin çözeltisi sonucu, bitkilerdeki stoma sayıları ortalama değerlerinde, kontrol ortalaması

değerlerinden daha düşük veriler elde edilmiştir. İstatistiki olarak hatlar arası farklılıklar %5 seviyesinde 1, 3, 8 no'lu hatlarda, %1 seviyesinde 2, 5, 6 no'lu hatlarda önemli bulunurken 4, 7, 9, 10, 11, 12 no'lu hatlarda istatistiki olarak önemli olmasa da stoma sayısı değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Nitekim Zhao vd. (2007)de tetraploid bitkilerde stomatal hücrelerin daha büyük olduğunu, stomadaki kloroplast sayısının arttığını ve stoma sıklığının azaldığını belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada Kulkarni ve Borse (2010)nin çalışmasında ise, acı biberde kolhisin kullanılarak poliploidi teşvik edilmiş, güçlü ve kuvvetli kök sistemine sahip bitkiler elde edilmiştir. Biber tohumları ve genç fidelerin sürgün uçlarına uyguladığı kolhisinin değişik doz ve sürelerinde birim alanda (mm^2 'de) daha az sayıda stoma (%41.7 oranında bitki) bulunduğunu bildirmişlerdir. İnan (2007) bu sonuçlardan farklı olarak kolhisin uygulamalarının birim alana düşen stoma sayısında bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerle oluşturulan Şekil 4.15 ve Şekil 4.16 incelendiğinde Zhao vd. (2007) ve Kulkarni ve Borse (2010) ile benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. Kontrol uygulamalarının birim alanda stoma sayıları kendi aralarında da değişiklik gösterirken uygulama dozu ve süreleri ile de değiştiği görülmektedir. En yüksek değişim 3 no'lu genotipin 48 saat süre ile %0.2 kolhisin dozunda görülürken en az değişim 6 no'lu genotipin her iki doz ve süresinde tespit edilmiştir. Tespit edilen bu farklıların genotipten kaynaklandığı düşünülmektedir.

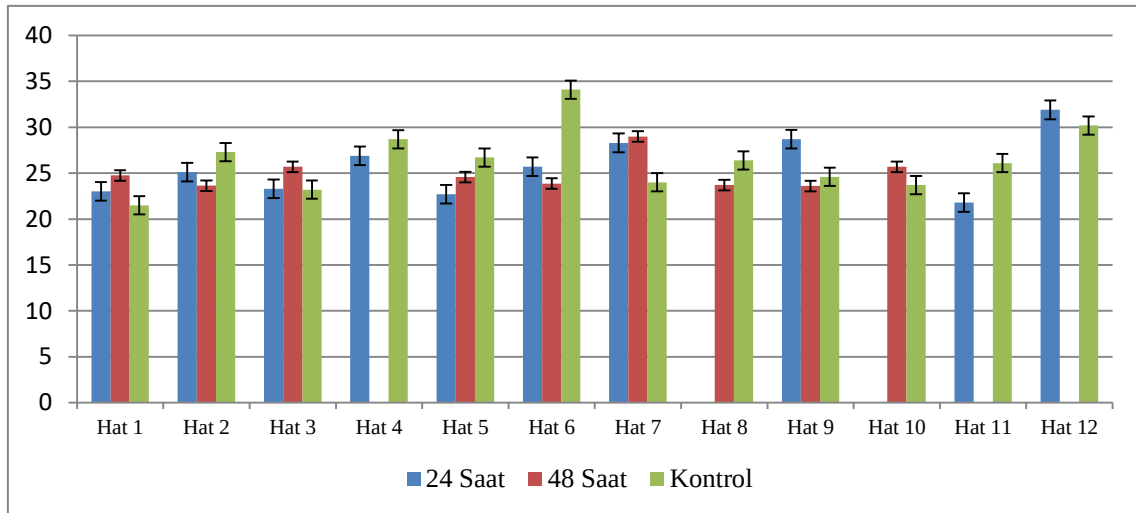
4.1.1.9. Stoma eni (μm)

Seçilen 12 hatta ait stoma eni değerlerinin istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. 1 no'lu hattın stoma eni ortalama değerleri 24 ve 48 saat süresince uygulanan %0.2 kolhisin dozu uygulamasında, kontrol uygulamasından daha yüksek, 2 no'lu hat her iki süre ve dozlarda kontrol ortalamasından daha düşük, 3 no'lu hat 24 saat %0.1 dozu hariç diğer uygulamalar kontrol ortalamasından daha yüksek, 4 no'lu hat 24 saat %0.2 dozu kontrol ortalamasından daha düşük, 5 no'lu hat her iki süre ve dozlarda kontrol ortalamasından daha düşük, 6 no'lu hat 48 saat %0.1 dozu hariç diğer uygulamalar kontrol ortalamasından daha düşük, 7 no'lu hat her iki süre ve dozlarda kontrol ortalamasından daha yüksek, 8 no'lu hat her iki süre ve dozlarda kontrol ortalamasından daha düşük, 9 no'lu hat 24 saat %0.1 ve %0.2 dozları kontrol ortalamasından daha yüksek,

48 saat %0.1 ve %0.2 dozları ise daha düşük, 10 no'lu hat 24 saat %0.1 dozu kontrol ortalamasından daha düşük, 48 saat %0.2 dozu daha yüksek, 11 no'lu hat 48 saat %0.1 dozu kontrol ortalamasından daha yüksek diğer uygulamalar daha düşük, 12 no'lu hat 24 saat %0.1 dozu kontrol ortalamasından daha düşük, 24 saat %0.2 dozu daha yüksek olarak elde edilmiştir (Şekil. 4.17, Şekil 4.18)



Şekil 4.17. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma eni (µm)

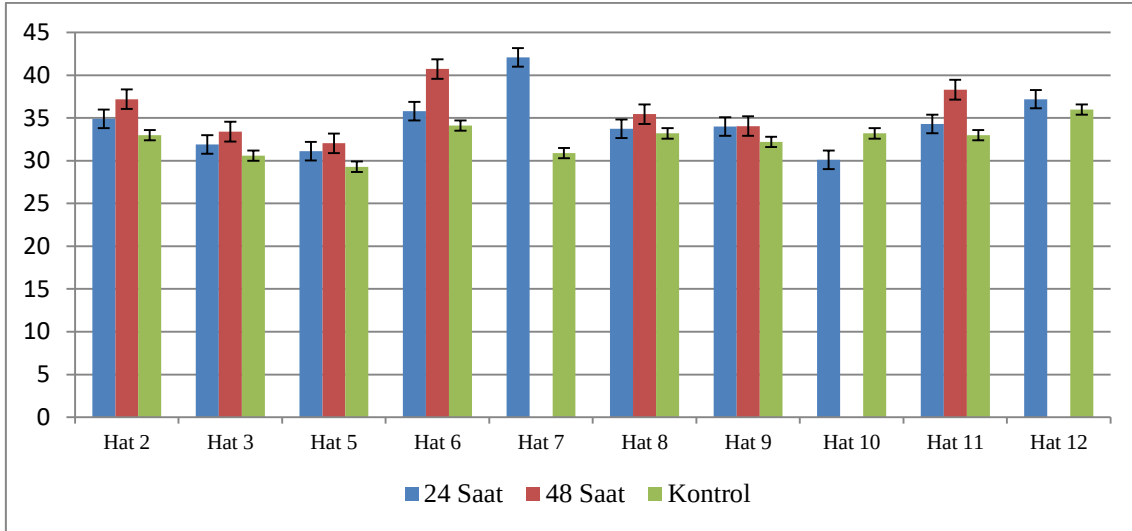


Şekil 4.18. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma eni (µm)

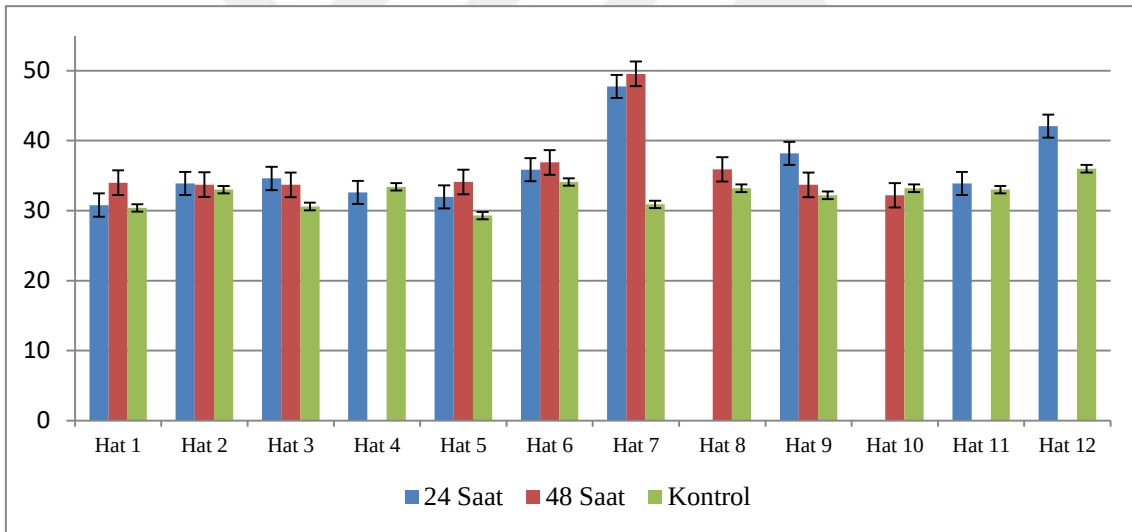
Bu çalışmada genel olarak tüm hatlara bakıldığında her iki doz ve sürelerde stoma eni değerleri farklılık göstermiştir. Bu farklılığın genotiplerin etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim yapılan başka bir çalışmada Sarı vd. (1999), diploid bitkilerde stoma çapının 18 μm ve olduğunu, haploid bitkilerin ise 10-12 μm stoma çapına sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Ellialtıoğlu vd. (2001) de haploid bitkilerin sahip olduğu stomaların diploid olanlara göre daha küçük olduğunu, ploidi düzeyi arttıkça stoma sayısının azaldığını, stoma iriliğinin arttığını bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda stoma en değerlerini incelediğimizde 24 saat süresince %0.1 kolhisin uygulamasından 7 ve 9, 48 saat süresince kolhisin uygulamasından 3 ve 11 no'lu genotipler ile 24 saat süresince %0.2 kolhisin uygulamasından 1, 7, 9 ve 2 no'lu genotipler ile 48 saat uygulamasından 1, 3, 7 ve 10 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar Sarı vd. (1999) ve Ellialtıoğlu vd. (2001) ile uyumludur. Ancak 24 saat süresince %0.1 kolhisin dozu oranı uygulamasından 1, 5, 6, 8, 10, 11 ve 12, 48 saat süresince uygulamadan 2, 5, 6, 8 ve 9 no'lu genotipler ile 24 saat süresince %0.2 kolhisin uygulamasından 2, 5, 6 ve 11 no'lu genotipler ile 48 saat uygulamasından 3, 5, 6, 8, 10, 11 ve 12 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar ortalamadan daha düşük çıkmış, önceki araştırma sonuçları ile karşıt durumdadır. Uygulama dozları ve süreleri karşılaştırıldığında en az değişim %0.1 kolhisin dozunda 2 no'lu genotipte görülürken en yüksek değişim %0.2 kolhisin dozu uygulaması yapılan 6 no'lu genotipte elde edilmiştir. Stoma eni değerlerindeki bu farklı sonuçların genotip etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.1.10. Stoma boyu (μm)

Tohumdan kolhisin uygulanan bitkilerden elde edilen stoma boy ortalama değerleri 2 no'lu hat istatistiki olarak %5 seviyesinde, 6 no'lu hat %1 seviyesinde önemli iken diğer hatlar ortalamaları arası farklılık önemli bulunmamıştır. 2 no'lu hat stoma boyu ortalama değeri en yüksek 48 saat %0.1 kolhisin dozunda, en düşük değer 24 saat %0.2 kolhisin dozunda, 6 no'lu hat stoma boyu ortalama değeri en yüksek 48 saat %0.1 kolhisin dozunda, en düşük değer ise 24 saat %0.1 dozunda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19, Şekil 4.20).



Şekil 4.19. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle %0.1'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma boyu (µm)



Şekil 4.20. Hatlara ait tohumlara 24 ve 48 saatlik sürelerle % 0.2'lik kolhisin uygulaması sonucu elde edilen bitkilerin stoma boyu (µm)

Çalışmamızda uygulanan kolhisin çözeltisinin, farklı doz ve sürelerde stoma boyunda artış meydana getirdiği görülmüştür. En yüksek artış ise %0.2 dozunda 7 no'lu hatta meydana gelmiştir. Örneğin, Xing vd. (2011), Pervane Çiçeği *Catharanthus roseus*'da yapılan çalışmada tohumlara kolhisin uygulamış olup bitkilerin ploidi seviyeleri FC ile belirlenmiştir. Tetraploid bitkiler ile kontrol (diploid) bitkilerini morfolojik özellikler bakımından karşılaştırdıklarında tetraploid bitkilerin daha büyük stomalara daha

fazla dal ve yaprağa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Sarı vd. (1999) de yaptıkları çalışmada; diploid bitkilerde stoma uzunluğunun 23-24 µm, haploid bitkilerin ise 17-18 µm stoma uzunluğuna sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Nitekim Kulkarni ve Borse (2010), acı biberde kolhisin kullanılarak poliploidi teşvik etmiş, güçlü ve kuvvetli kök sistemine sahip bitkiler elde edilmiştir. Biber tohumları ve genç fidelerin sürgün uçlarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması sonrasında, %48.6 oranında daha geniş ve uzun stoma uzunluğuna sahip bitki oluştuğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda stoma boyu değerlerini incelediğimizde 24 saat süresince %0.1 kolhisin dozu uygulamasından 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 ve 12, 48 saat süresince uygulama yapılan tüm genotipler ile 24 saat süresince %0.2 kolhisin dozu uygulamasından 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 ve 12 no'lu genotipler ve 48 saat uygulamasından 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar Sarı vd. (1999) ve Kulkarni ve Borse (2010) ile uyumludur. Ancak 24 saat süresince %0.1 kolhisin dozu uygulamasından 10 no'lu genotip ile 24 saat süresince %0.2 kolhisin dozu uygulamasından 4 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar ortalamadan daha düşük çıkmıştır ve önceki araştırma sonuçları ile uyum sağlamamaktadır. Uygulama dozları ve süreleri karşılaştırıldığında en az değişim %0.1 kolhisin dozunun 24 saat uygulamasında 9 no'lu genotipte görülürken en yüksek değişim 7 no'lu genotipte görülmüş, her iki uygulama süresince %0.2 kolhisin dozu uygulaması yapılan 2 no'lu genotip en az değişim gösterirken en yüksek değişim 7 no'lu genotipten elde edilmiştir. Stoma boyu değerlerindeki bu farklı sonuçların genotip etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2. Tohumlardan Yetiştirilen Genç Bitkilerin Koltuk Tomurcuklarına Farklı Doz ve Sürelerde Kolhisin Uygulamaları

12 farklı hatta ait tohumların viollere ekimi yapıldı. Çimlenen tohumlar fideliğe alınıp gerekli bakımları yapıldıktan sonra uygun büyüklüğe gelen fidelere %0.3 ve %0.5 dozlarında 12 ve 24 saat sürelerinde kolhisin çözeltisi uygulandı. Koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamasının süren ve sürmeyen göz sayıları, sera sürgün sayıları, meyve eni, meyve boyu ve bitki başına meyve sayısı üzerine etkileri Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasının süren, sürmeyen göz sayıları, meyve eni, meyve boyu ve meyve sayısı üzerine etkileri.

Hat no	Doz	Süre	Uygulama yapılan göz sayısı (adet/bitki)	Süren göz sayısı (adet/bitki)	Sürmeyen göz sayısı (adet/bitki)	Sera sürgün sayısı (adet/bitki)	Meyve eni (cm)	Meyve boyu (cm)	Meyve sayısı (adet/bitki)
1	%0.3	12 sa	3.2	3.0	0.2	1.94 b	3.28 a	7.06	8.33 b
	%0.3	24 sa	4.2	4.1	0.1	1.64 b	2.78 abc	4.22	5.56 b
	%0.5	12 sa	3.6	3.5	0.1	2.06 b	2.67 bc	4.50	6.22 b
	%0.5	24 sa	3.9	3.7	0.2	1.81 b	3.00 ab	9.00	7.08 b
	Kontrol		3.67	3.53	0.13	3.53 a	2.28 c	7.78	26.11 a
Ortalama			3.72 öd	3.57 öd	0.15 öd	2.20*	2.80*	6.51 öd	10.66 **
2	%0.3	12 sa	4.1	4.1 a	0.0	2.06 bc	3.58	10.83	7.75 b
	%0.3	24 sa	4.2	4.1 a	0.1	2.33 b	3.72	11.56	7.67 b
	%0.5	12 sa	3.9	3.5 ab	0.4	2.08 bc	4.33	7.50	3.83 b
	%0.5	24 sa	3.9	3.3 b	0.6	1.56 c	3.89	8.89	5.72 b
	Kontrol		4.07	3.97 a	0.1	3.97 a	3.28	8.11	14.17 a
Ortalama			4.04 öd	3.79*	0.25 öd	2.40**	3.76 öd	9.38 öd	7.83**
3	%0.3	12 sa	3.8	3.5	0.3	2.36 b	2.89	10.67	6.89 b
	%0.3	24 sa	4.0	4.0	0.0	2.33 b	2.67	7.50	4.33 b
	%0.5	12 sa	4.1	3.8	0.3	1.22 c	3.17	11.22	6.22 b
	%0.5	24 sa	4.2	4.0	0.2	1.92 bc	2.33	7.83	5.50 b
	Kontrol		3.97	3.80	0.17	3.80 a	2.67	11.39	20.61 a
Ortalama			4.02 öd	3.85 öd	0.18 öd	2.33**	2.74 öd	9.72 öd	8.71**
4	%0.3	12 sa	4.0	4.0 a	0.0 c	1.67 bc	2.44 b	6.44 c	5.33 b
	%0.3	24 sa	4.0	3.9 ab	0.1 c	1.69 bc	2.75 b	6.83 c	8.67 b
	%0.5	12 sa	4.1	3.1 c	1.0 a	1.36 c	2.50 b	8.50 bc	8.00 b
	%0.5	24 sa	4.1	3.5 b	0.6 b	2.14 b	3.75 a	12.67 a	8.83 b
	Kontrol		4.03	3.90 ab	0.13 c	3.90 a	3.00 b	10.50 ab	15.00 a
Ortalama			4.05 öd	3.70 **	0.35**	2.15**	2.89*	8.99**	9.17**
5	%0.3	12 sa	2.5	1.7	0.8	1.47 b	2.50	5.50 ab	5.50 b
	%0.3	24 sa	3.4	2.0	1.4	1.50 b	2.00	5.83 a	9.83 b
	%0.5	12 sa	2.9	1.4	1.5	1.31 b	2.00	2.00 c	3.00 b
	%0.5	24 sa	2.4	1.2	1.2	1.58 b	1.33	3.33 bc	6.33 b
	Kontrol		2.93	2.77	0.17	2.77 a	1.67	6.33 a	34.17 a
Ortalama			2.81 öd	1.81 öd	1.0 öd	1.73*	1.90 öd	4.60**	30.0**
6	%0.3	12 sa	3.0 b	2.8	0.2 b	1.72 bc	1.50	3.06	5.17 b
	%0.3	24 sa	3.2 b	3.2	0.0 b	2.0 b	1.50	3.00	6.25 b
	%0.5	12 sa	4.3 a	3.1	1.2 a	1.89bc	1.25	2.50	7.50 b
	%0.5	24 sa	3.1 b	2.4	0.7 b	2.69 ab	1.50	3.33	8.06 b
	Kontrol		3.50 ab	3.33	0.17 b	3.33 a	1.50	3.92	15.03 a
Ortalama			3.43*	2.97 öd	0.46**	2.32**	1.45 öd	3.16 öd	8.4 *

Çizelge 4.3. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasının süren, sürmeyen göz sayıları, meyve eni, meyve boyu ve meyve sayısı üzerine etkileri (devam)

Hat no	Doz	Süre	Uygulama yapılan göz sayısı (adet/bitki)	Süren göz sayısı (adet/bitki)	Sürmeyen göz sayısı (adet/bitki)	Sera sürgün sayısı (adet/bitki)	Meyve eni (cm)	Meyve boyu (cm)	Meyve sayısı (adet/bitki)
7	%0.3	12 sa	3.9	3.9 a	0 b	2.36 b	2.83	4.44	3.67 b
	%0.3	24 sa	3.8	3.8 a	0 b	1.97 b	3.00	4.89	4.44 b
	%0.5	12 sa	4.1	3.5 b	0.6 a	1.81 b	2.50	6.17	6.00 b
	%0.5	24 sa	3.9	3.7 b	0.2 b	2.25 b	2.83	5.72	7.61 b
	Kontrol		3.93	3.87 a	0.07 b	3.87 a	3.17	8.17	36.67 a
Ortalama			3.92 öd	3.75*	0.17**	2.45**	2.87 öd	5.88 öd	11.68**
8	%0.3	12 sa	4.0	3.2	0.8	1.58 b	2.67	8.83	8.61 b
	%0.3	24 sa	3.7	3.3	0.4	1.31 b	3.00	8.83	12.50 b
	%0.5	12 sa	4.0	3.9	0.1	1.50 b	3.00	9.33	10.83 b
	%0.5	24 sa	4.0	3.2	0.8	1.33 b	2.33	5.44	3.44 b
	Kontrol		3.90	3.77	0.13	3.77 a	3.14	7.08	22.33 a
Ortalama			3.91 öd	3.45 öd	0.46 öd	1.90**	2.83 öd	7.91 öd	11.54*
9	%0.3	12 sa	4.0	4.0	0	1.81 b	2.58	6.08 b	7.25 b
	%0.3	24 sa	3.4	3.4	0	2.0 b	2.33	7.00 b	7.44 b
	%0.5	12 sa	3.9	3.9	0	2.06 b	3.08	8.83 b	8.58 b
	%0.5	24 sa	3.8	3.7	0.1	1.67 b	2.89	7.03 b	5.56 b
	Kontrol		3.77	3.77	0.0	3.77 a	3.17	12.67 a	16.06 a
Ortalama			3.78 öd	3.76 öd	0.01 öd	2.26**	2.81 öd	8.32**	8.98**
10	%0.3	12 sa	4.0	4.0	0	1.81 c	3.11	9.33	8.22 b
	%0.3	24 sa	4.0	4.0	0	2.25 c	3.36	9.53	6.03 b
	%0.5	12 sa	4.1	4.1	0	3.03 b	2.67	5.56	4.89 b
	%0.5	24 sa	3.8	3.8	0	2.25 c	2.22	7.11	5.11 b
	Kontrol		4.03	4.03	0	4.03 a	2.69	11.08	17.42 a
Ortalama			3.99 öd	3.99 öd	0	2.67**	2.81 öd	8.52 öd	8.33**
11	%0.3	12 sa	4.1	4.1	0	2.22 b	2.56	6.78	11.11 b
	%0.3	24 sa	4.0	4.0	0	1.61 b	2.56	5.56	8.03 b
	%0.5	12 sa	4.0	3.9	0.1	1.81 b	2.50	5.89	9.94 b
	%0.5	24 sa	3.7	3.7	0	1.92 b	2.28	5.17	7.78 b
	Kontrol		4.03	4.0	0.03	4.0 a	3.00	10.00	30.00 a
Ortalama			3.97 öd	3.94 öd	0.03 öd	2.31**	2.58 öd	6.68 öd	13.37**
12	%0.3	12 sa	3.4	3.3	0.1	1.50 b	2.56	7.22	12.00 bc
	%0.3	24 sa	3.9	3.8	0.1	1.83 b	2.67	5.33	6.00 c
	%0.5	12 sa	3.5	2.8	0.7	1.22 b	3.28	8.11	12.61 bc
	%0.5	24 sa	3.9	3.5	0.4	1.44 b	2.78	8.11	18.17 ab
	Kontrol		3.60	3.47	0.13	3.47 a	2.39	7.50	26.11 a
Ortalama			3.66 öd	3.39 öd	0.28 öd	1.89**	2.73 öd	7.26 öd	14.98**

öd: Önemli değil, * (p<0.05), ** (p<0.01)

Kolhisin uygulamalarının uygulama yapılan göz sayısı üzerine etkileri 6 no'lu hatta istatistiki olarak önemli olurken, diğer hatlarda önemsiz bulunmuştur. Uygulamalar sonrası süren göz sayısında ise 2, 4 ve 7 nolu hatlarda önemli bir etki belirlenirken, diğer hatlarda önemsiz olmuştur. Sürmeyen göz sayısında ise 4, 6 ve 7 no'lu hatlarda önemli, diğer hatlarda ise önemsiz olarak tespit edilmiştir. Bitkiler seraya dikildiklerinde ise serada süren göz sayısı belirlenmiştir. Uygulamaların serada süren göz sayısı üzerine etkisi tüm hatlarda istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tüm hatlarda doğal olarak en yüksek sera sürgün sayıları kontrol bitkilerinden elde edilmiştir. Uygulamalarda ise hatlara göre farklı sonuçlar alınmıştır.

4.2.1. Morfolojik analizler

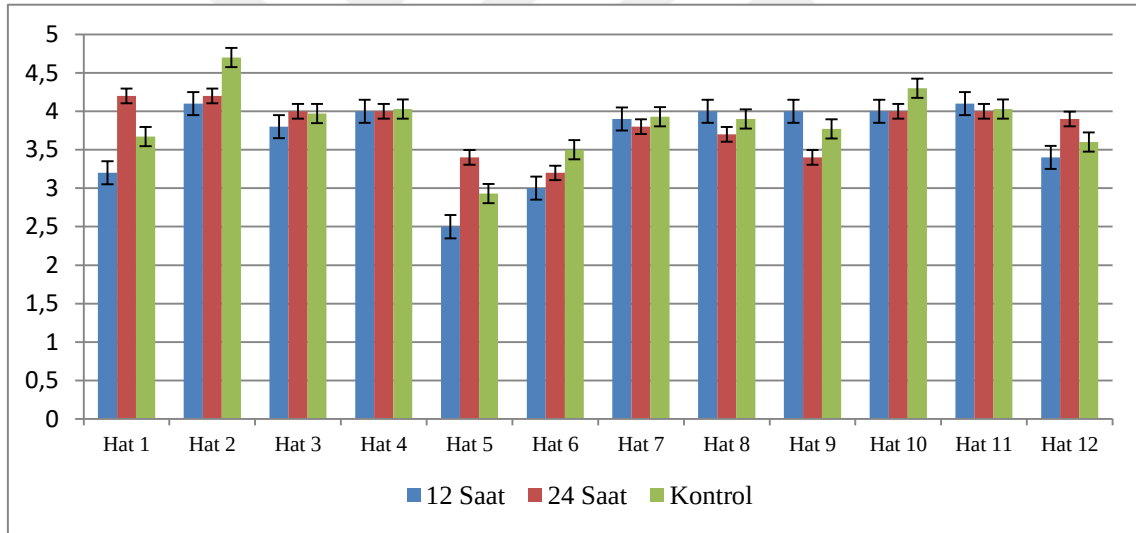
Bitkilerde ploidi seviyesinin artırılması amacıyla tohumlara kolhisin uygulandığı gibi koltuk tomurcuklarına da kolhisin çözeltisi uygulanmaktadır. PETEKTAR Tohumculuk AR-GE merkezine ait ticari olarak ümitvar görülen, tohum uygulamalarından farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması yapılacak 12 farklı hat aynı zamanda fide olarak yetiştirilerek koltuk tomurcuklarına 12 ve 24 saatlik süreler halinde %0.3 ve %0.5 kolhisin çözelti dozları uygulanmıştır. Fidelikte viyollere ekimi yapılarak çimlenmesi sağlanan fideler gerekli kültürel işlemler yapılarak kolhisin çözeltisi uygulanacak büyüklüğe geldiğinde 15 cm çapındaki saksılara alınmıştır. Uygulama yapılan bitkilerde uygulama yapılan göz sayısı, süren göz sayısı, sürmeyen göz sayısı, sera sürgün sayısı, meyve eni, meyve boyu, meyve sayısı incelenerek istatistiki analizler yapılmıştır.

4.2.1.1. Uygulama yapılan göz sayısı (adet/bitki)

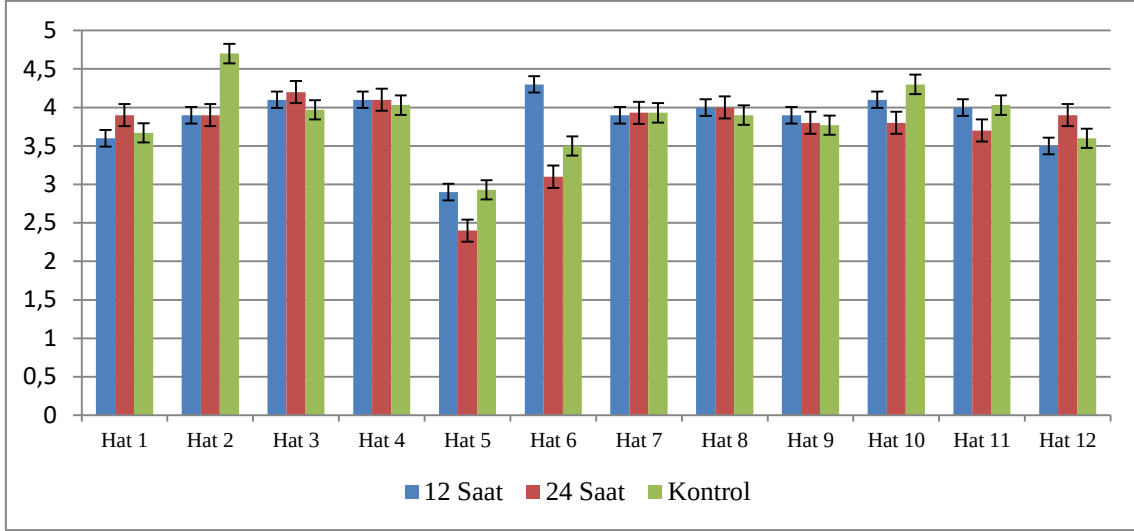
Kolhisin uygulaması için uygun büyüklüğe gelen fidelerin tepe kesimleri yapılmış olup koltuk tomurcuklarında bulunan gözlere 12 ve 24 saat süresince %0.3 ve %0.5 dozlarında kolhisin çözeltisi uygulanmıştır. İstatistiki olarak yapılan değerlendirme sonucunda 12 saat süreyle %0.5 kolhisin çözeltisi uygulanan 6 no'lu hatta bitki başına

düşen göz sayısı kontrol uygulamasından yüksek bulunurken diğer hatlardaki göz sayısının kontrol bitkisi ortalamasına yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21, Şekil 4.22).

Denemede kullanılan genotiplere ait bitki koltuk tomurcuklarına uygulanan 12 ve 24 saat süresince %0.3 ve %0.5 kolhisin dozlarına bitkilerin göstereceği tepkiyi istatistiksel olarak belirlemek için uygulama yapılmayan kontrol grubu ve uygulama grubu olarak ayrılmış ve mevcut bitki koltuk tomurcukları sayıları belirlenmiştir. Şekil 4.21 ve Şekil 4.22' nin grafiksel değerlendirilmesi sonucu uygulama ve kontrol oranları birbirine oldukça yakın görülmüştür. Çalışmanın bu bölümü ile mukayese edilecek önceki çalışma verileri tespit edilememiş olup uygulama yapılan bitki sayıları tohum çimlenmesi ile paralel olarak elde edilen bitki sayıları ile orantılı farklılıklar mevcuttur.



Şekil 4.21. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması yapılan ortalama koltuk tomurcuğu sayıları (adet/bitki).

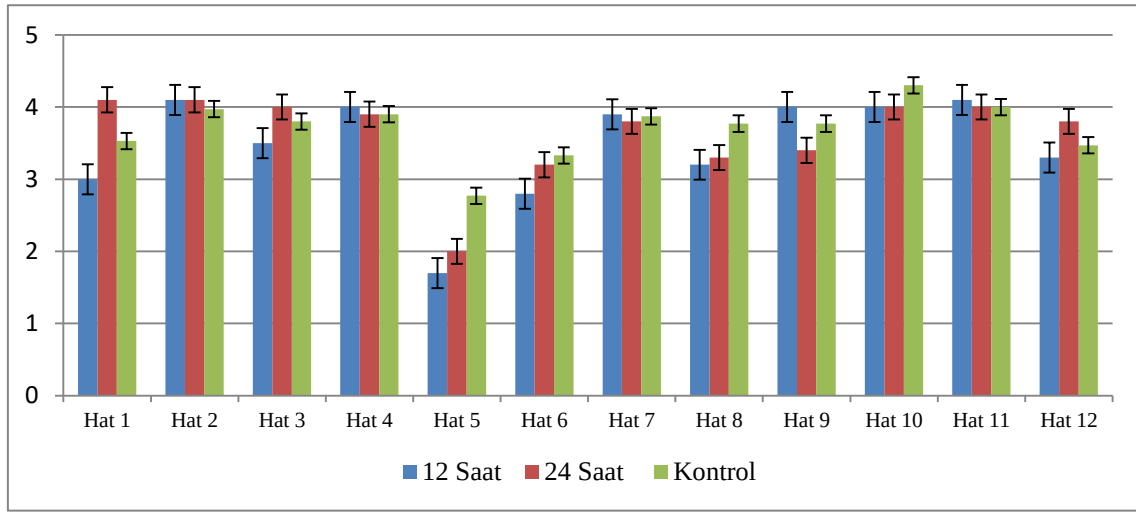


Şekil 4.22. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması yapılan ortalama koltuk tomurcuğu sayıları (adet/bitki)

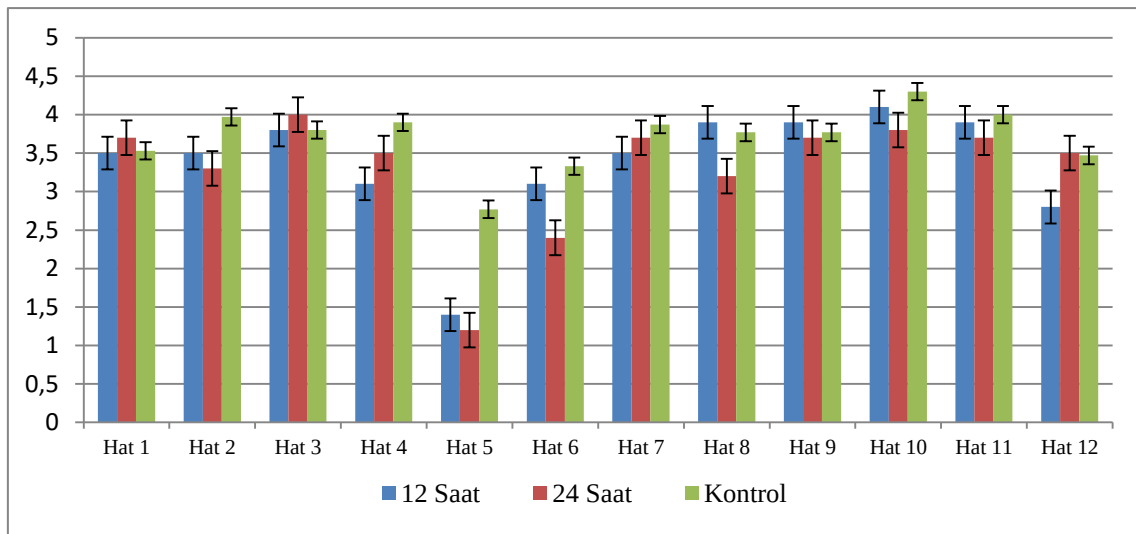
4.2.1.2. Süren göz sayısı (adet/bitki)

Seçilen hatlara 12 ve 24 saatlik süreyle %0.3 ve %0.5 kolhisin uygulanmıştır. Uygulama sonucu süren göz sayılarından elde edilen değerler ile yapılan istatistiki analiz sonucunda 2 ve 7 no'lu hatlar %5 seviyesinde önemli bulunmuştur. 2 no'lu hat 12 ve 24 saatlik %0.3 kolhisin uygulamasında kontrol ortalamasından daha yüksek değer elde edilirken, 12 ve 24 saatlik %0.5 kolhisin uygulamasından daha düşük değerler elde edilmiştir. Yine aynı şekilde 7 no'lu hat 12 ve 24 saatlik %0.3 kolhisin uygulamasında kontrol ortalamasından daha yüksek değer elde edilirken (Şekil 4.24), 12 ve 24 saatlik %0.5 kolhisin uygulamasından daha düşük değerler elde edilmiştir (Şekil 4.25). 4 no'lu hat %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. 4 no'lu hatta uygulanan doz ve süreler incelendiğinde 12 ve 24 saatlik %0.3 kolhisin uygulamasında kontrol ortalamasından daha yüksek değer elde edilirken (Şekil 4.23), 12 ve 24 saatlik %0.5 kolhisin uygulamasından daha düşük değerler elde edilmiştir. Diğer hatlar kontrol ortalamasına yakın değerde sonuç vermiş ve istatistiki olarak önemli değil sonucu elde edilmiştir (Şekil 4.24). Denemede kullanılan her iki kolhisin dozu ve uygulama sürelerinden elde edilen grafikler incelendiğinde kontrol ile uygulama yapılarak süren göz sayıları oranlarının birbirine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Özellikle %0.3 kolhisin dozu uygulama grafiğinde her iki uygulama süresinde elde edilen değerler kontrol ortalamasına yakındır. Bu genel durum içinde 1 ve 5 no'lu hat

ve %0.5 kolhisin dozu uygulamasının 12 ve 24 saat uygulamasında 5 no'lu genotip ile 24 saat uygulamasının 6 no'lu genotipi istisnaidir. Bu belirttiğimiz süren göz oranları değerleri ile ilgili önceki araştırmalarda “bazı gözlerde anormallikler, kör göz” şeklinde ifade edilmiş sayısal veya istatistiksel bir karşılaştırma bulgusuna rastlanılmamıştır. Uygulama yapılan gözlerdeki sürme oranlarının değişimine genotipin etki ettiği düşünülmektedir.



Şekil 4.23. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama süren göz sayısı (adet/bitki)

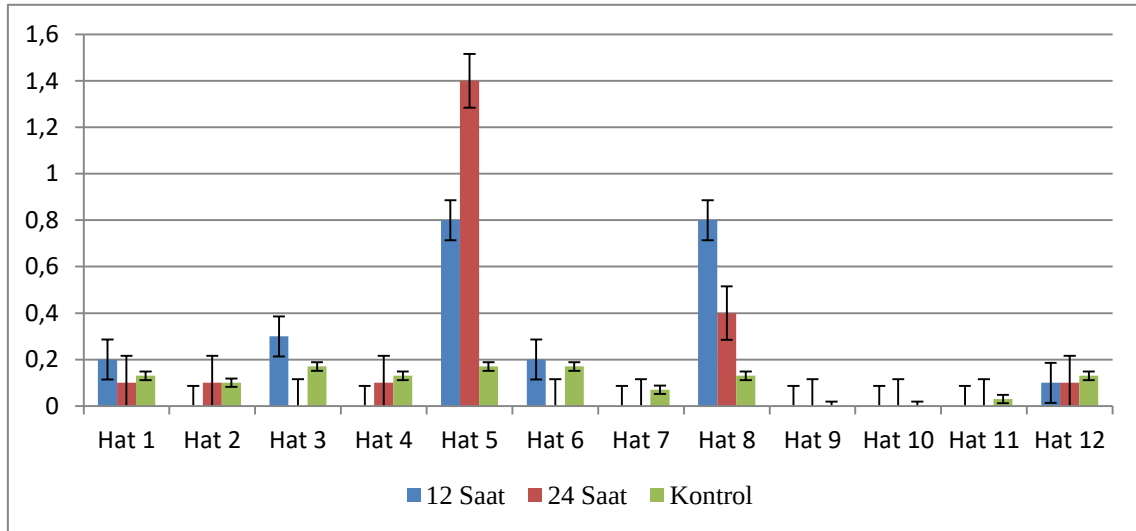


Şekil 4.24. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama süren göz sayısı (adet/bitki)

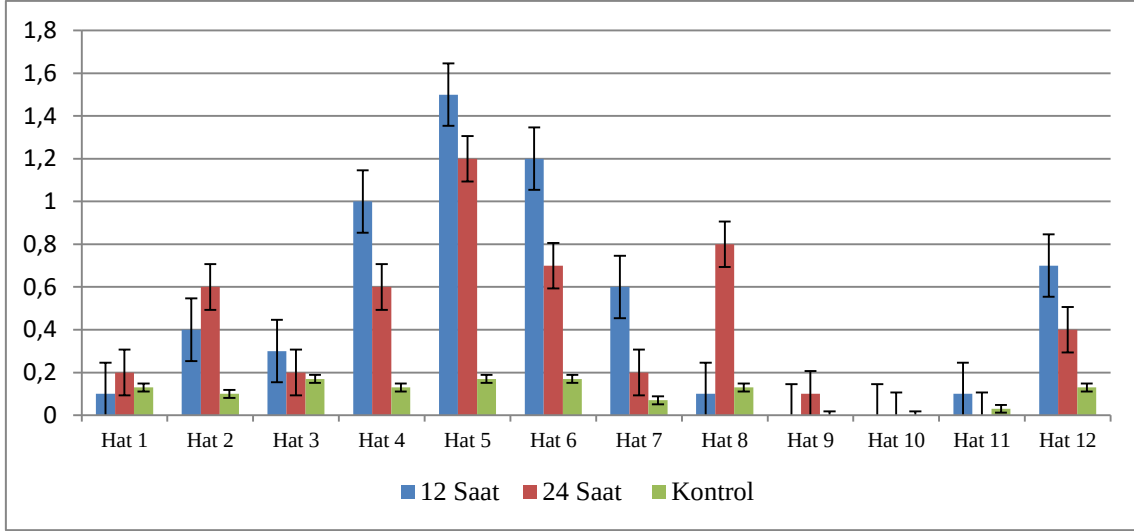
4.2.1.3. Sürmeyen göz sayısı (adet/bitki)

Sürmeyen göz sayısı istatistiki değerlerinin önemsiz çıkması diğer gözlem sonuçlarının önemli çıkması gibi olumludur. Sürmeyen göz hattın uygulama dozu ve süresi sonucu olduğunun bir sonucu olabilir. Elde edilen değerler incelendiğinde 6 ve 7 no'lu hatlarının 12 ve 24 saat süresince %0.5'lik kolhisin uygulama dozlarının %1 seviyesinde önemli olduğu (Şekil 4.26) ve hatlara ait %0.3'lük kolhisin uygulama dozlarından elde edilen değerlerin kontrol ortalaması altında olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.25).

Çalışma sonucu belirlenen sürmeyen göz sayısı değerleri bir üst başlıkta yapılan değerlendirmeye paralel olarak Şekil 4.25 ve Şekil 4.26' da görüleceği üzere en yüksek değerler 5 nolu hat ve Şekil 4.26'da görülen %0.5 kolhisin dozu 24 saat uygulaması yapılan 6 no'lu genotipten elde edilmiş, önceki çalışmalarda "bazı gözlerde anormallikler, yanmalar veya kör göz" şeklinde ifade edilmiş sayısal veya istatistiksel bir karşılaştırma yapılmamıştır. Bu farklılığa genotip etkisinin neden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.25. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sürmeyen göz sayısı (adet/bitki).



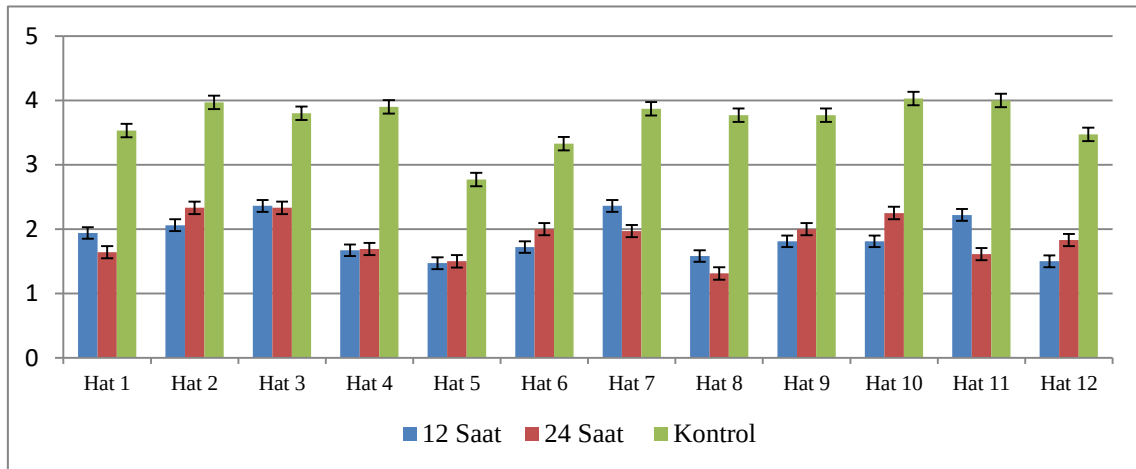
Şekil 4.26. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5’lik kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sürmeyen göz sayısı (adet/bitki).

Yüksek uygulama dozu ve süresine bağlı olarak bazı genotiplere ait gözlerin zararlanma oranının yüksek olduğu düşünülmektedir. Nitekim Şimşek (2011) tarafından yürütülen çalışmada kolhisinin 4 farklı dozunun, 4 farklı karpuz genotipine uygulanması sonucu, kotiledon aşamasındaki bazı fidelerde büyüme ucu kimyasaldan etkilenerek dumura uğramış ve “kör fide” diye nitelendirilen fideler oluşmuştur. Bu fideler, fidelikteki serada yaklaşık 2 ay bekletilmesine karşılık, bu süre içerisinde, sürgün gelişimi gerçekleşmemiştir. In vivo koşullarda, AB-54, AB-267 genotipleri ile Crimson Sweet ve Sugar Baby çeşitlerinde kolhisinin 4 farklı dozunda meydana gelen kör fide sayıları belirlenmiş ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İstatistik analiz sonucunda, kör fide sayıları, kolhisin dozlarına göre istatistiksel düzeyde önemli bulunmuştur. Kolhisin dozu x genotip interaksyonu ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

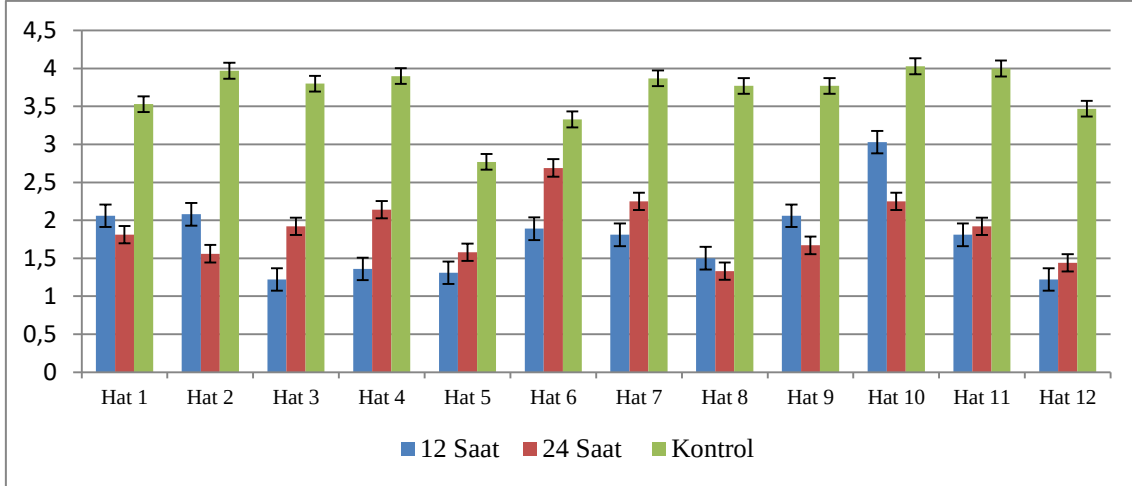
4.2.1.4. Sera sürgün sayısı (adet/bitki)

Seraya dikimi gerçekleştirilen bikiilerde kolhisin uygulaması yapılan gözler incelenmiş serada canlı kalan ve sürme gösteren sürgünler belirlenmiştir. Bitki başına sera sürgün sayıları istatistiki sonuçlarına göre 1 ve 5 no’lu hatlara ait değerler %5 seviyesinde önemli bulunurken her iki uygulama süresi (12 ve 24 saat) ve uygulama dozu (%0.3 ve

%0.5) değerleri kontrol ortalamasının altında bulunmuştur (Şekil 4.27, Şekil 4.28). Diğer hatlara ait değerler %1 seviyesinde önemli olarak belirlenirken 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 no'lu hatlara ait değerlerin kontrol ortalamasının altında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.27, Şekil 4.28). Nitekim Kara vd. (2018a), bağ koşullarındaki omcalarda 96 saat süreyle %0.9 kolhisin+gliserin uygulamasında sürgün ucu kuruma oranını %7.14 olarak belirlemişlerdir. Uygulama yapılan 49 kombinasyonun 22'sinde sürgün ucunda kuruma gerçekleşmediği kaydedilmiştir. Sera koşullarında yapılan uygulamalarda en fazla kurumanın (%50.0) %1.1 kolhisin konsantrasyonunun 96 saat süre ile uygulanması sonucunda gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Kolhisin uygulamalarının sera koşullarında tek göz çeliklerine yapılan uygulamaların sürgün ucu canlılık oranlarını daha yüksek oranda etkilediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise, asmada sürgün ucu bölgesine antimitotik kimyasalların uygulanması sonucunda, kullanılan kimyasalın toksik etki yapması nedeniyle sürgün ucunda kurumalar meydana geldiği bildirilmiştir (Ekbiç ve Tangolar, 2016; He vd. 2016; Kara vd. 2018a; Kara vd. 2018b). Çalışmamız sonucunda her iki uygulama dozu ve süresinde elde edilen değerlerin kontrol uygulamasının altında olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de görüldüğü gibi uygulamalar sürgün sayısında belirgin bir azalmaya sebep olmakla beraber uygulama süreleri o kadar etkin olmamıştır. Elde edilen veriler Kara vd. (2018a) ile karşılaştırıldığında sera koşullarında yapılan uygulamalarda %50 kuruma sonucuna ulaştığı için paralel olduğu düşünülmektedir. Kontrol ve uygulamalar arası farklılığın kolhisinden kaynaklandığı, uygulamalar arası oluşan farklılığa ise genotipin etki ettiği düşünülmektedir.



Şekil 4.27. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sera sürgün sayısı (adet/bitki)



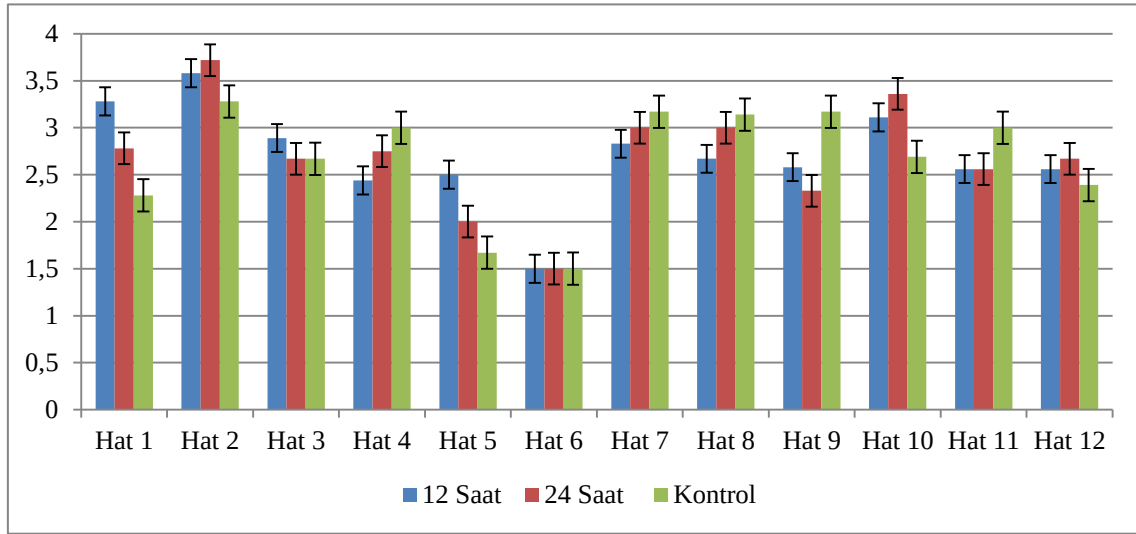
Şekil 4.28. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki başına ortalama sera sürgün sayısı (adet/bitki)

4.2.1.5. Meyve eni (cm)

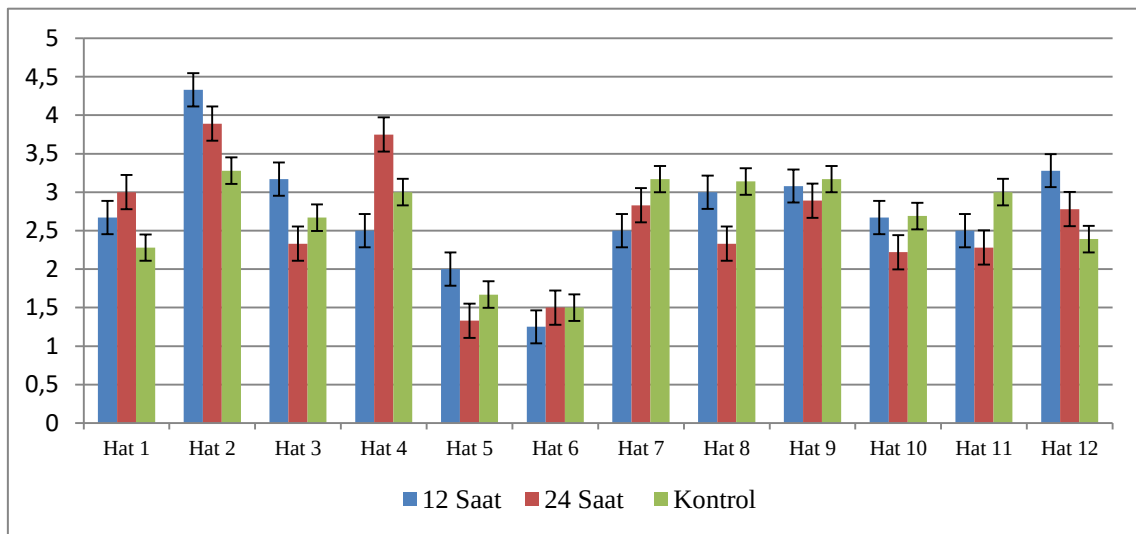
Meyve eni değerleri incelendiğinde 1 ve 4 no'lu hatlar hariç diğer hatların istatistiki açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.30, Şekil 4.31). 1 no'lu hat 12 saat %0.3 kolhisin dozu uygulaması en yüksek, %0.5 kolhisin dozu en düşük değeri vermesine rağmen kontrol ortalamasından yüksek olarak tespit edilirken 24 saat %0.5 kolhisin dozu 12 saatlik uygulamadan daha yüksek olarak belirlenmiş, her iki değer de kontrol ortalamasından daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.30, Şekil 4.31). 4 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozunda kontrol ortalama değerinden daha yüksek değer elde edilirken diğer doz ve sürelerde yapılan uygulamalardan kontrol ortalamasının altında değerler tespit edilmiştir (Şekil 4.29, Şekil 4.30).

Denemede koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması yapılan genotiplere ait meyve eni değerleri Mensah vd. (2007) benzer şekilde %0.3'lik kolhisin çözeltisi 12 ve 24 saat uygulamasında 1, 2, 5, 10 ve 11 no'lu genotipler ile %0.5'lik kolhisin çözeltisi 12 ve 24 saat uygulamasında 1, 2 ve 12 no'lu genotiplerde meyve eninde artış olduğu görülmüştür. %0.3'lük kolhisin çözeltisi 12 saat uygulamasında 4, 7, 8, 9 ve 11 no'lu genotipler, 24 saatlik uygulamada 4, 7, 8, 9 ve 11 no'lu genotipler ile %0.5'lik kolhisin çözeltisi 12 saat uygulamasında 4, 6, 8, 9 ve 11 no'lu genotipler, 24 saat uygulamasında 3, 5, 7, 8, 9, 10 ve 11 no'lu genotiplerde Mensah vd. (2007)'den farklı olarak azalma olduğu

tespit edilmiştir. Genotipler arasında en yüksek oransal artış %0.3'lük kolhisin çözeltisi 12 saat uygulamasında 5 no'lu hatta, 24 saatlik uygulamada ise 10 no'lu hatta elde edilirken 6 no'lu genotip her iki uygulama süresinde aynı oranda artış göstermiştir. Bu değişen oranlardaki artan meyve en oranları değerlerinin uygulama dozu, süresi ve genotipten kaynaklandığı düşünülmektedir.



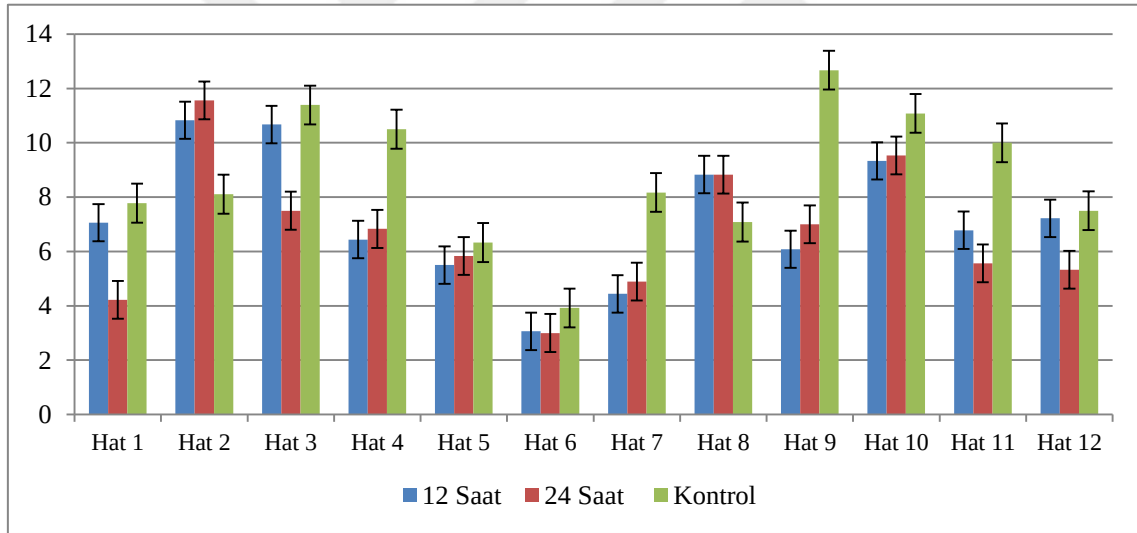
Şekil 4.29. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu meyve eni ortalama değerleri (cm)



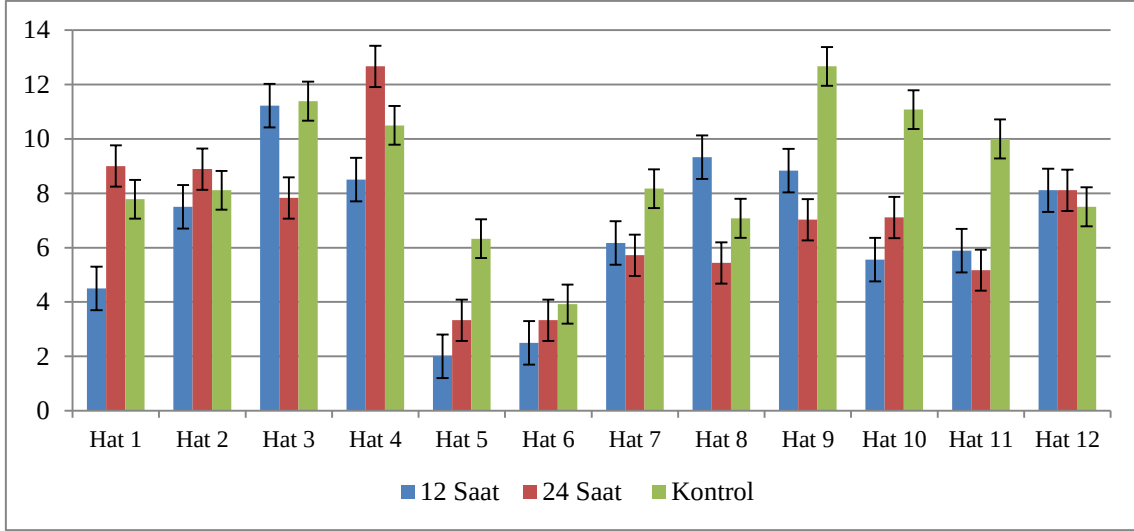
Şekil 4.30. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve eni ortalama değerleri (cm)

4.2.1.6. Meyve boyu (cm)

Meyve boyu değerleri incelendiğinde 4, 5 ve 9 no'lu hatlar istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunurken, diğer hatların istatistiki açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.32, Şekil 4.33). 4 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasında, kontrol uygulaması ortalamasından da yüksek değer elde edilirken diğer süre ve dozlarda meyve boyunun kontrol ortalamasından daha az olduğu belirlenmiştir. 5 ve 9 no'lu hat ortalama değerleri kontrol ortalama değerlerinden daha düşük olarak tespit edilmiştir. 5 no'lu hat 24 saat %0.3 kolhisin dozunda, 9 no'lu hat 12 saat %0.5 kolhisin dozunda diğer uygulama süre ve dozlarından daha yüksek değerler elde edilmiştir (Şekil 4.31, Şekil 4.32).



Şekil 4.31. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu meyve boyu ortalama değerleri (cm)



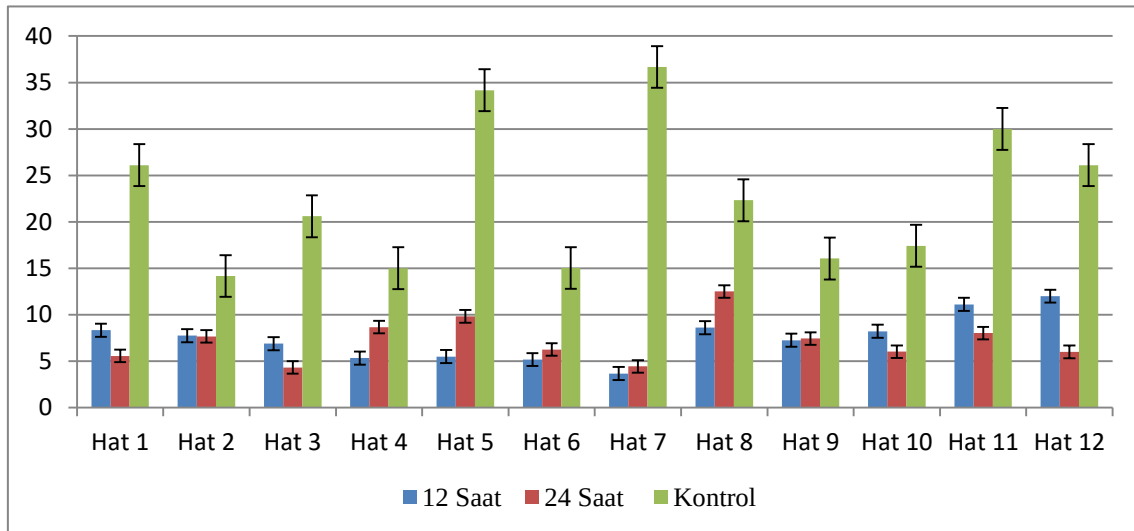
Şekil 4.32. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve boyu ortalama değerleri (cm)

Bu çalışmada 2 ve 8 no'lu hatlar hariç diğer hatlarda uygulamaların etlisi ile meyve boyunda azalma görülmüştür. Bu sonuçtan farklı olarak, Ceren (2012), 2011-2012 yılları arası yapmış olduğu çalışmada kolhisinin altın çilek bitkisinde farklı dozlarda (Kontrol, %0.2, 0.4, 0.8) ve uygulama sürelerinde (8, 16, 24 saat) etkilerini ele almış, yaptığı uygulamada kolhisin tohumlara ve fide dönemindeki bitkilerin büyüme uçlarına uygulanmıştır. Uygulamanın bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemek için bitkilerin bazı morfolojik özellikleri incelenip, ploidi seviyesini belirlemek amacıyla flow sitometri analizleri yapılmıştır. Araştırmanın sonucunda kolhisin dozu arttıkça; meyve boyunun arttığı, SÇKM miktarının ise azaldığı belirlenmiştir. Çalışmamızda koltuk tomurcuğuna farklı süre ve dozlarda kolhisin uygulaması sonucunda oluşan sürgünlerden elde edilen meyve boy değerleri %0.3'lük kolhisin çözeltisi uygulamasının her iki süresinde 2 ve 8 no'lu genotip değerlerinden elde edilen sonuçlar ile 12 saat %0.5'lik kolhisin çözeltisi uygulamasında 8 ve 12, 24 saat uygulamasından 1, 2, 4 ve 12 no'lu genotip değerlerinin Ceren (2012)'nin elde ettiği sonuçlara benzer şekilde arttığı tespit edilmiştir. Ancak, 12 ve 24 saat süresince %0.3 kolhisin uygulaması yapılan 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 ve 12 no'lu genotipler ile 12 saat süresince %0.5 kolhisin uygulaması yapılan 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 ve 11 no'lu genotipler ve 24 saat uygulama yapılan 3, 6, 7, 8, 9, 10 ve 11 no'lu genotiplerden elde edilen değerler kontrol uygulama değerlerinden daha az bulunmuş olup Ceren (2012) ile uyumsuz olduğu tespit edilmiştir. Uygulama doz ve sürelerine bağlı olarak görülen bu değişken sonuçlara genotip farklılığının neden olduğu düşünülmektedir.

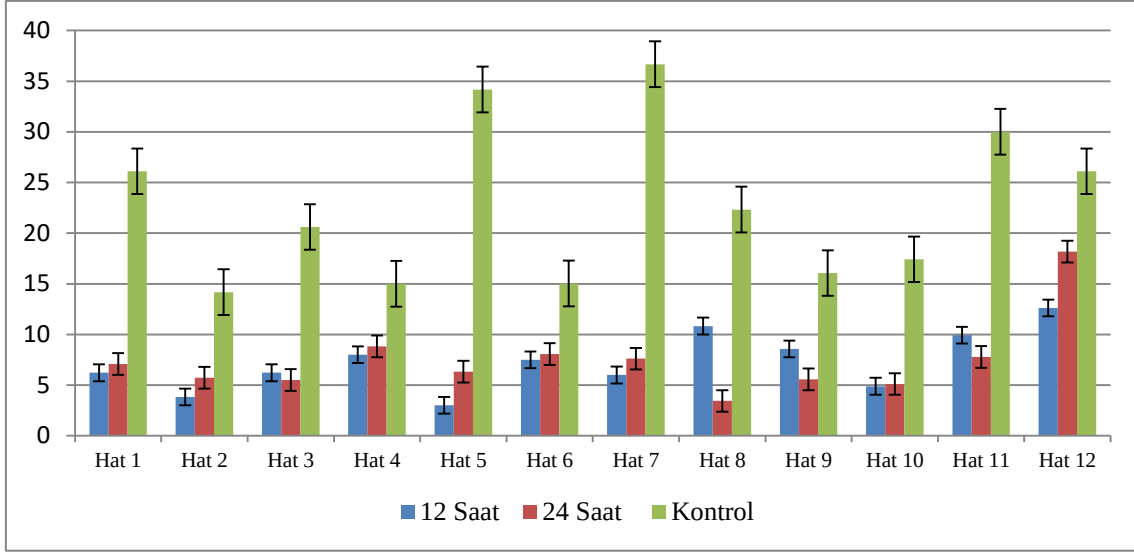
4.2.1.7. Meyve sayısı (adet/bitki)

Meyve sayıları ortalama değerleri 12 ve 24 saatlik %0.3 ve %0.5 kolhisin dozlarında 6 ve 8 no'lu hatlarda istatistiki olarak %5 seviyesinde, diğer hatlarda %1 seviyesinde önemli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.34, Şekil 4.35). Bütün hatlara uygulanan süre ve dozlardan elde edilen ortalama meyve sayılarının kontrol uygulamaları ortalamalarının altında olduğu tespit edilmiştir. Hatlar içinde en yüksek meyve sayısına 24 saat %0.5 kolhisin dozunda 12 no'lu hatta görülürken, en düşük meyve sayısı aynı süre ve dozda 8 no'lu hatta tespit edilmiştir (Şekil 4.33, Şekil 4.34).

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, tohum uygulaması yapılan tüm genotiplere ait meyve sayıları sonuçlarına benzer şekilde kontrol ile kıyaslandığında oldukça düşük değerler elde edilmiş, Tanaka (1950)'nin patlıcan ile yaptığı çalışma sonucu ile uyumsuz olduğu görülmüştür. Her iki uygulama dozunda oransal olarak en büyük düşüş 7 no'lu genotipte olurken, en az değer kaybı her iki uygulama dozu ve süresinde 4 no'lu genotipten elde edilmiştir. Kolhisinin doz oranlarına göre genotiplerin meyve sayılarındaki değişim ve genotiplerin kontrolleri arasındaki meyve sayılarının farklı olmasının genotip özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.33. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu meyve sayısı ortalama değerleri (adet/bitki).



Şekil 4.34. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu meyve sayısı ortalama değerleri (adet/bitki).

4.2.2. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamalarından gelen bitkilerde argonomik çalışmalar ve morfolojik gözlemler

PETEK TAR Tohumculuk AR-GE merkezine ait ümitvar olarak seçilen 12 farklı özellikteki hatlara ait tohumlar koltuk tomurcuklarına kolhisin çözeltisi uygulanmak için viyollara ekildi, çimlenen tohumlar fideliğe alınıp gerekli bakımları yapıldıktan sonra uygun büyüklüğe gelen fidelere %0.3 ve %0.5 dozlarında 12 ve 24 saat sürelerinde kolhisin çözeltisi uygulandı. Kolhisin çözeltisi uygulanan fideler seraya alındıktan sonra kolhisin uygulamasının bitki boyu, sürgün çiçek çapları ve yaprak alanı üzerine etkileri incelenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasının bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri.

Hat no	Doz	Süre	Bitki boyu (cm)	1. Sürgün Çiçek çapı (mm)	2. Sürgün Çiçek çapı (mm)	3. Sürgün Çiçek çapı (mm)	1. Sürgün Yaprak alanı (cm ²)	2. Sürgün Yaprak alanı (cm ²)	3. Sürgün Yaprak alanı (cm ²)
1	%0.3	12 sa	25.67	27.00 a	27.00 a	27.50a	39.17 a	40.50 ab	31.00 ab
1	%0.3	24 sa	26.22	-	-	-	18.75 b	37.00 ab	24.00 b
1	%0.5	12 sa	18.56	-	-	-	18.00 b	29.50 b	-
1	%0.5	24 sa	31.42	23.00 b	23.50 b	-	41.42 a	40.89 a	33.00 a
1	Kontrol		36.94	24.31 ab	24.31 b	24.31 b	24.44 b	24.44 c	24.44 b
Ortalama			27.76 öd	24.77**	24.93**	25.90**	28.35**	34.47**	28.11**
2	%0.3	12 sa	43.17	26.00	-	-	60.50 ab	47.72 ab	41.00
2	%0.3	24 sa	36.94	-	-	-	68.33 a	59.33 a	-
2	%0.5	12 sa	36.33	23.00	-	-	45.00 b	44.50 b	-
2	%0.5	24 sa	30.50	-	-	-	65.50 a	-	-
2	Kontrol		46.89	23.67	-	-	42.39 b	42.39 b	42.39
Ortalama			38.77 öd	24.22 öd	-	-	56.34*	48.49**	41.70 öd
3	%0.3	12 sa	31.78 b	-	24.00 b	-	43.33	27.00 d	-
3	%0.3	24 sa	27.83 b	22.00 b	22.00 b	21.00	56.17	33.00 c	-
3	%0.5	12 sa	34.06 b	21.83 b	-	-	47.61	44.00 b	-
3	%0.5	24 sa	33.83 b	23.33 b	-	24.00	51.83	84.00 a	-
3	Kontrol		50.22 a	27.64 a	27.64 a	27.64	40.67	40.67 bc	-
Ortalama			35.54**	23.7**	24.54*	24.21 öd	47.92 öd	45.73**	-
4	%0.3	12 sa	30.61	22.00 b	-	-	53.56 bc	60.50 b	40.00
4	%0.3	24 sa	29.25	20.00 b	-	-	76.00 a	106.33 a	-
4	%0.5	12 sa	22.50	-	-	-	51.00 bc	64.00 b	-
4	%0.5	24 sa	27.58	25.75 a	28.00	23.00	64.17 ab	75.33 b	38.00
4	Kontrol		35.42	25.17 a	25.17	25.17	45.94 c	45.94 c	45.94
Ortalama			29.07 öd	23.23**	26.59 öd	24.10 öd	58.13**	70.42**	41.31 öd
5	%0.3	12 sa	23.00	29.00	30.00 a	-	32.00	82.00	-
5	%0.3	24 sa	25.50	26.50	28.00 b	-	33.25	26.00	-
5	%0.5	12 sa	26.00	27.00	-	-	70.00	50.00	-
5	%0.5	24 sa	20.00	27.25	25.75 c	-	87.25	-	-
5	Kontrol		30.00	25.25	25.25 c	-	30.33	30.33	-
Ortalama			24.9 öd	27.0 öd	27.25**	-	50.57 öd	47.08 öd	-
6	%0.3	12 sa	17.67	-	-	-	33.67 b	24.00 c	-
6	%0.3	24 sa	21.42	-	19.00	17.00	28.00 c	-	-
6	%0.5	12 sa	23.75	19.00	-	-	-	73.00 a	20.00 b
6	%0.5	24 sa	21.44	-	-	-	44.00 a	39.00 b	35.00 a
6	Kontrol		17.78	-	-	-	19.11 d	19.11 d	19.11 c
Ortalama			20.41 öd	19.0	19.0	17.00	31.2**	38.78**	24.70**

öd: Önemli değil, * (p<0.05), ** (p<0.01)

- : Veri elde edilememiştir.

Çizelge 4.4. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasının bitki boyu, çiçek çapı ve yaprak alanı üzerine etkileri (devam).

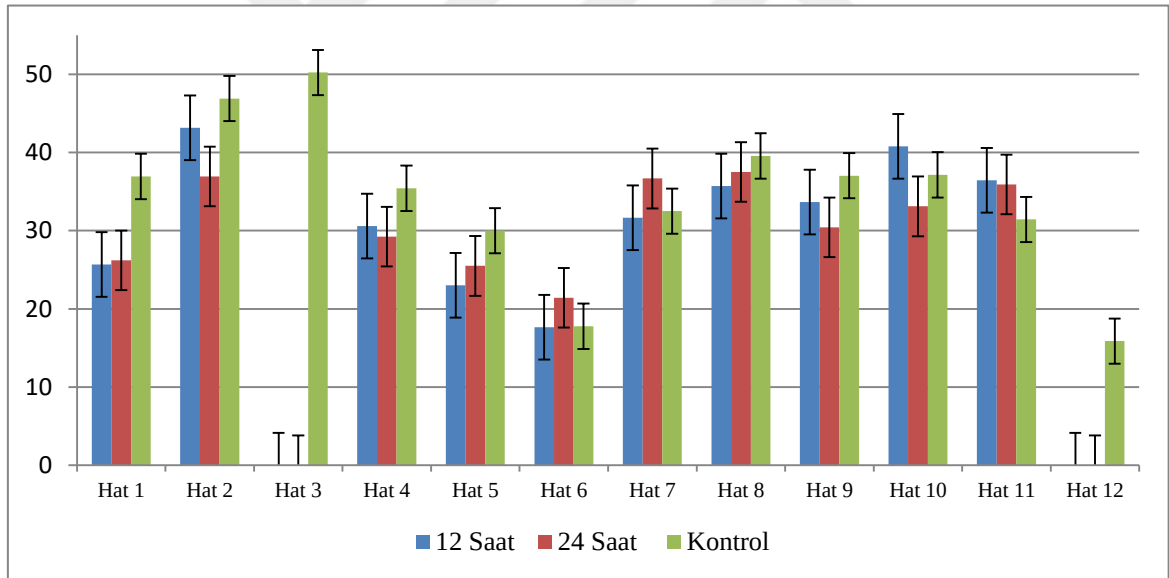
Hat no	Doz	Süre	Bitki boyu (cm)	1. Sürgün Çiçek çapı (mm)	2. Sürgün Çiçek çapı (mm)	3. Sürgün Çiçek çapı (mm)	1. Sürgün Yaprak alanı (cm ²)	2. Sürgün Yaprak alanı (cm ²)	3. Sürgün Yaprak alanı (cm ²)
7	%0.3	12 sa	31.64	23.67	31.00 a	-	27.00	-	-
7	%0.3	24 sa	36.67	26.00	28.00 b	22.00 b	27.50	-	-
7	%0.5	12 sa	36.83	21.00	27.00 c	-	40.50	38.58	-
7	%0.5	24 sa	28.78	28.00	24.50 d	26.00 a	41.50	42.50	-
7	Kontrol		32.50	22.08	22.08 d	22.08 b	29.11	29.11	-
Ortalama			33.28 öd	24.15 öd	26.52**	23.36**	33.12 öd	36.73 öd	-
8	%0.3	12 sa	35.72	24.50 b	28.00	-	55.61	57.00 a	-
8	%0.3	24 sa	37.50	28.25 a		-	59.17	-	-
8	%0.5	12 sa	35.50	25.00 b	-	-	63.42	42.00 b	-
8	%0.5	24 sa	30.00	24.00 b	-	-	62.00	-	-
8	Kontrol		39.56	24.00 b	24.00	-	35.78	35.78 c	-
Ortalama			35.66 öd	25.15**	26.0 öd	-	55.19 öd	44.92**	-
9	%0.3	12 sa	33.67	28.00	-	-	58.33	62.00 a	-
9	%0.3	24 sa	30.44	26.50	27.50 a	27.00	64.50	46.00 b	-
9	%0.5	12 sa	38.75	29.00	29.50 a	-	69.89	62.33 a	-
9	%0.5	24 sa	36.17	28.44	23.50 c	-	64.75	52.00 b	-
9	Kontrol		37.03	26.56	26.56 ab	26.56	40.92	40.92 c	-
Ortalama			35.21 öd	27.70 öd	26.76**	26.78 öd	59.68 öd	52.65**	-
10	%0.3	12 sa	40.78	28.00 b	29.00 a	-	52.00 b	-	-
10	%0.3	24 sa	33.11	29.00 a	-	28.00 a	76.83 a	58.25 a	71.00 a
10	%0.5	12 sa	32.67	-	29.00 a	-	27.00 c	-	-
10	%0.5	24 sa	33.89	24.50 d	21.50 b	26.00 b	52.75 b	-	-
10	Kontrol		37.14	26.33 c	26.33 ab	26.33 b	53.67 b	53.67 b	53.67 b
Ortalama			35.52 öd	26.95**	26.46**	26.78**	52.45**	55.96*	62.34 **
11	%0.3	12 sa	36.44	25.67	27.50	24.00	43.61	46.00 c	-
11	%0.3	24 sa	35.92	26.33	28.00	-	64.72	45.00 c	-
11	%0.5	12 sa	31.11	26.50	28.00	-	54.72	66.00 a	-
11	%0.5	24 sa	36.67	24.00	-	-	45.00	-	-
11	Kontrol		31.44	24.89	24.89	24.89	53.78	53.78 b	-
Ortalama			34.32 öd	25.48 öd	27.10 öd	24.45 öd	52.37 öd	52.70**	-
12	%0.3	12 sa	28.11 a	22.33	-	-	35.50	-	-
12	%0.3	24 sa	28.33 a	21.00	23.00 b	-	40.50	-	-
12	%0.5	12 sa	27.00 a	24.00	21.00 c	-	36.61	-	-
12	%0.5	24 sa	20.56 ab	21.33	25.00 a	-	36.00	-	-
12	Kontrol		15.89 b	22.16	22.16 c	-	26.67	-	--
Ortalama			23.98*	22.17 öd	22.79**	-	35.06 öd	-	-

öd: Önemli değil, * (p<0.05), ** (p<0.01)

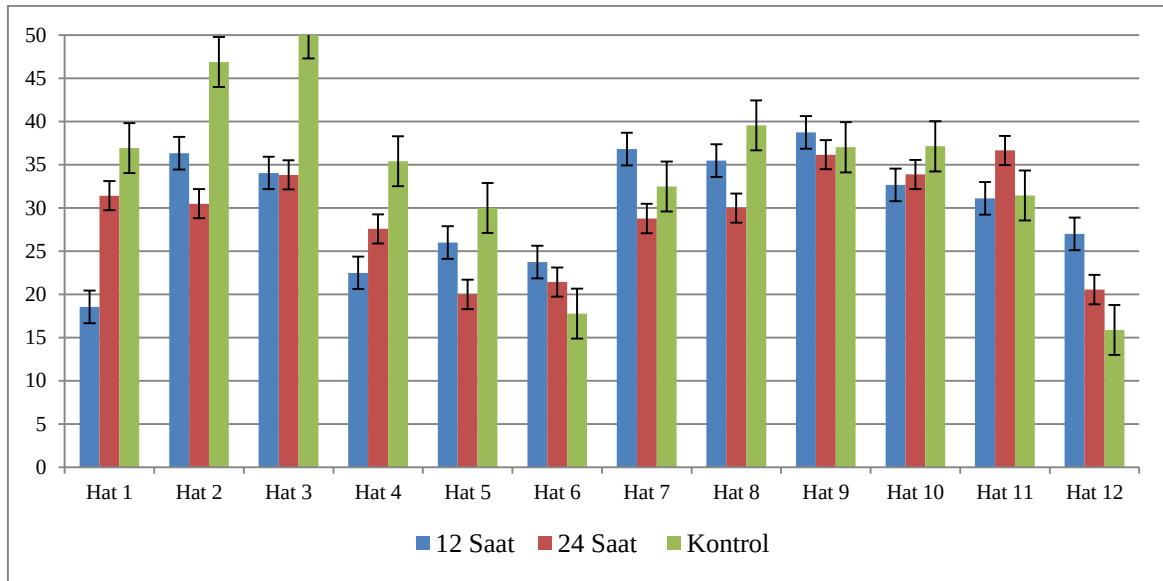
- : Veri elde edilememiştir.

4.2.2.1. Bitki boyu (cm)

Seçilen hatlara uygulanan farklı süre ve dozlardaki kolhisinin bitki boylarına etkisi istatistiki olarak 3 no'lu hatta %1 seviyesinde, 12 no'lu hatta %5 seviyesinde önemli olarak bulunurken diğler hattarın farklılığı önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.3). İstatistiki olarak önemli bulunan 3 no'lu hatta 12 ve 24 saatlik %0,5'lik kolhisin dozları %0.3'lük kolhisin dozu ve uygulama sürelerinden daha yüksek ancak kontrol uygulaması dozundan daha düşük değerler elde edilmiştir (Şekil 4.35, Şekil 4.36). 12 no'lu hatta ise 12 ve 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasında düşük, %0.5 kolhisin dozunun kontrol ortalama değerlerinden ve uygulama sürelerinde elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.35, Şekil 4.36).



Şekil 4. 35. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu bitki boyu ortalama değerleri (cm).

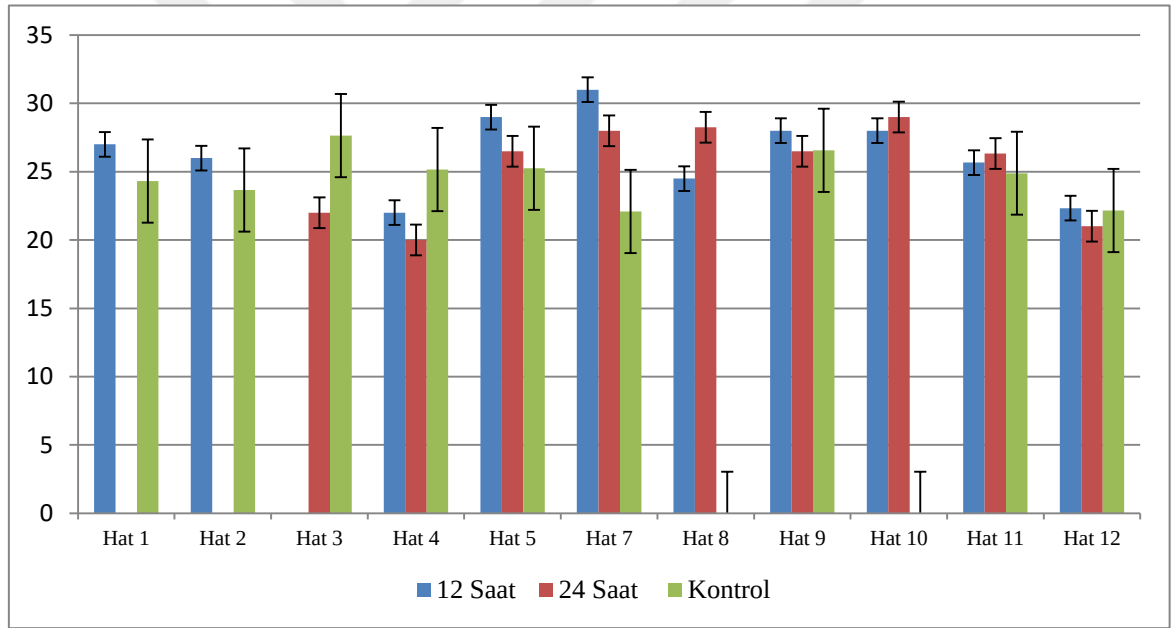


Şekil 4.36. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu bitki boyu ortalama değerleri (cm)

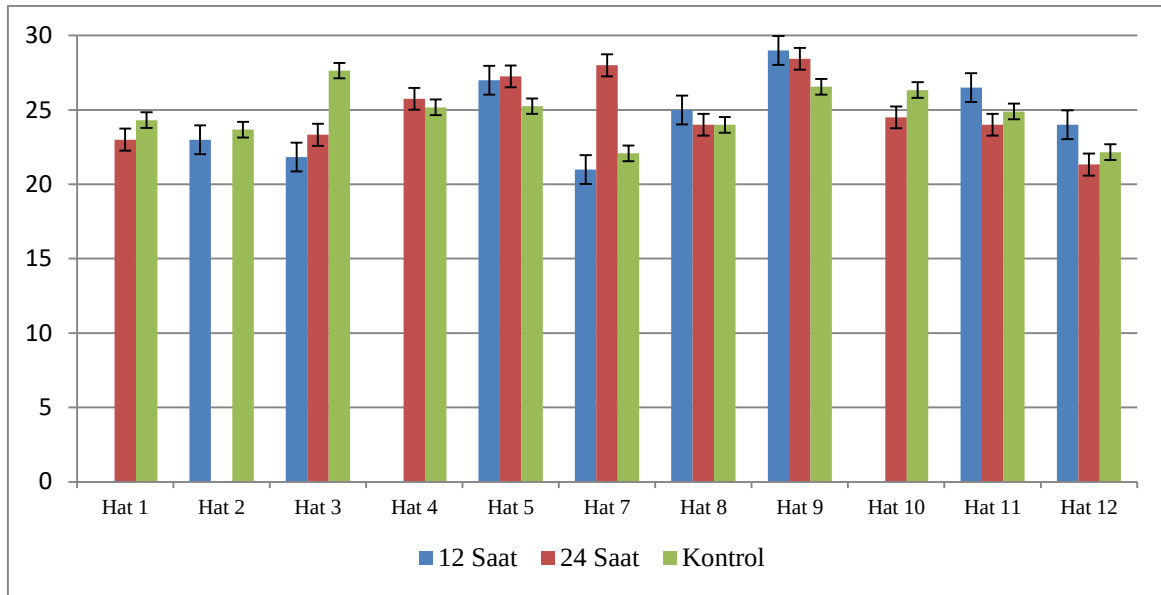
Çalışmada kolhisin çözeltisi uygulamaların farklı doz ve sürelerde bitki boyu üzerine etkileri 3 ve 12 no'lu hatlardaki etkisi istatistiki olarak önemli iken, diğer hatlarda önemsiz olarak belirlenmiş ve tüm uygulamalarda bitki boyu kontrole göre azalmıştır. Jaskani vd. (2004)'nin de yapmış oldukları çalışmada 10 karpuz genotipine kolhisin ve orizalin kimyasalının in vivo koşullarda büyüme ucuna uygulanmasında, fide boyunda kısılma ve boğum sayısında azalmanın olduğu bildirmişlerdir. Bu bulgu bizim sonuçlarımızla da paralellik göstermektedir. Çalışma sonucunda 6 no'lu genotipin 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulaması ile 24 ve 48 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamaları hariç tüm bitki boyları kolhisin uygulamasından Jaskani vd. (2004)'nin elde ettiği sonuçlarla benzerlik göstermiş ve olumsuz etkilenmiştir. En çok etkilenen 24 ve 48 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasından 3 no'lu genotip olurken en az 10 no'lu genotipin etkilendiği tespit edilmiştir. Koltuk tomurcuğuna uygulanan kolhisin dozuna bağlı olarak bitki boylarındaki azalış farklı olmuştur. Bu farklılığın genotip özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.2.2. I. Sürgün çiçek çapı (mm)

Hatlara ait bitki çiçek çap değerleri 12 ve 24 saat süresince %0.3 ve %0.5 kolhisin dozlarında 1, 3, 4, 8 ve 10 no'lu hatlar istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunurken diğer hatlar önemli bulunmamıştır. 1 no'lu hat 12 saat %0.3 kolhisin dozu, 4 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu, 8 no'lu hat 24 saat %0.3 kolhisin dozu, 10 no'lu hat 12 ve 24 saat %0.3 ve %0.5 kolhisin dozlarında kontrol ortalamasından daha yüksek değerler elde edilmiştir. 3 no'lu hattın %1 seviyesinde önemli olmasına rağmen elde edilen ortalama değerleri kontrol uygulamasının altında olduğu görülmüştür (Şekil 4.37, Şekil 4.38).



Şekil 4.37. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu sürgün çiçek çapı ortalama değerleri (mm).



Şekil 4.38. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu sürgün çiçek çapı ortalama değerleri (mm).

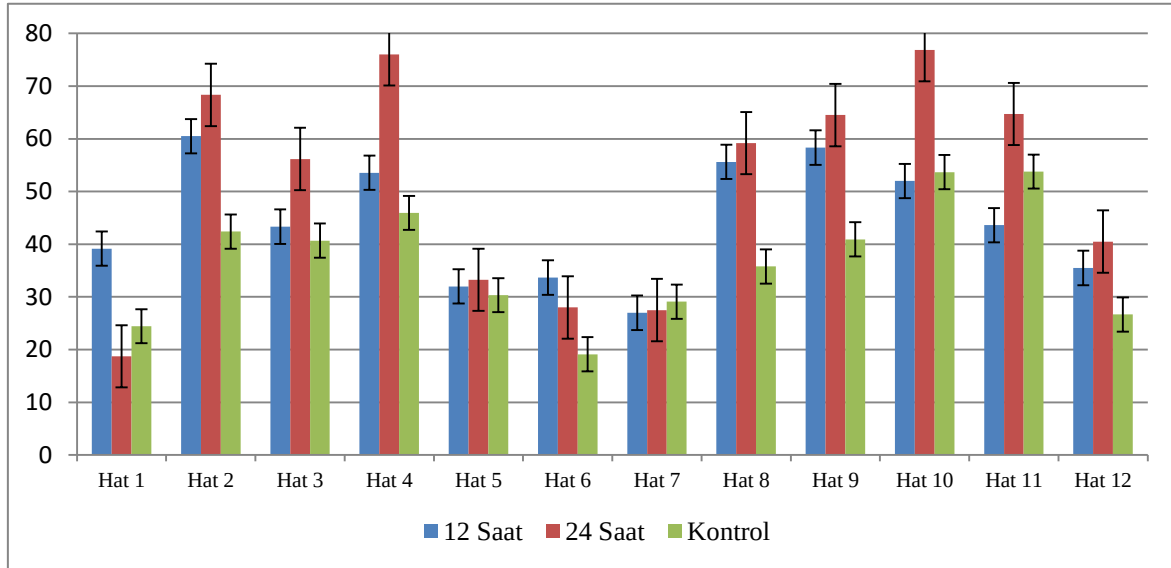
Çalışmamızda, kolhisin uygulamalarının süren sürgünlerde çiçek çapı üzerine etkilerine baktığımızda hatlara göre farklılıklar olduğu bazı hatlarda önemli etki belirlenirken, bazılarında ise önemsiz olduğu belirlenmiştir. Birinci sürgünlerde, 1, 3, 4 ve 10 no'lu hatlarda, ikinci sürgünlerde 1, 3, 5, 7, 9, 10 ve 12 no'lu hatlarda, üçüncü sürgünlerde ise 1, 7 ve 10 no'lu hatlarda önemli bir etki belirlenirken diğer hatlarda ise önemsiz bulunmuştur. Bazı uygulamalarda ise ya sürgün elde edilememiş ya da sürgün üzerinde çiçek olmadığı için veri elde edilememiştir. Genel olarak bir değerlendirme yaptığımızda 1, 5, 7, 8, 9, 10 ve 12 no'lu hatlarda bazı kolhisin uygulamalarının çiçek çapını kontrole göre arttırdığı, 3 ve 4 no'lu hatlarda ise çiçek çapının kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Khan vd. (2013), *Solanum macrocarpon* ve patlıcan melezleri arasındaki F1'lerde fertilitenin yeniden sağlanması amacıyla kolhisin uygulaması yapılarak kromozom katlamasıyla amphidiploidler (tetraploid) elde edilmiştir. F1 bitkilerin koltuk tomurcukları ve sürgün uçları %0.05 kolhisin içeren MS ortamında 2 veya 4 gün tutulmuştur. Kolhisin uygulamaları sonrasında tetraploidlerde çiçek çapı F1'lere göre daha büyük olarak belirlenmiştir. İnan (2007) da yaptığı çalışmada en düşük erkek çiçek çapını 25.80 mm ile %0.1 dozunda, en yüksek değeri ise 32.30 mm ile %0.6 kolhisin dozunda elde etmiştir. İnanın çalışmasında en düşük erkek çiçek çapı 31.15 mm ile %0.3 kolhisin dozunda, orizalin kimyasalında ise 34.12 mm ile 50 µm dozunda elde edilmiştir. Kontrol uygulamasında ise erkek çiçek çapı 28.67 mm olup, en yüksek değer ise 38.34 mm ile

%0.4 kolhisin dozunda elde edilmiş, orizalinde ise en yüksek değer 35 µm dozunda 35.50 mm, kontrol uygulamasında ise 35.32 mm'dir. Erkek çiçek çapı değerlerinin tetraploid bitkilerde, diploid bitkilere göre fazla olması beklenen bir durum olduğunu bildirmiştir. Şimşek (2011), karpuzda yaptığı çalışmada yumurtalık çapı ve uzunluğunun, taç yaprak eni ve uzunluğunun kolhisin ve orizalin kimyasallarından elde edilen tetraploid bitkilerde, kontrol uygulamalarına göre belli oranda arttığı, fakat aradaki farkın çok fazla olmadığı kaydetmiştir. Çalışmamız sonucunda çiçek çaplarındaki değişim; 12 saat %0.3 kolhisin dozunda 1, 2, 5, 7, 9 ve 12 no'lu genotipler, 24 saatlik uygulamada 5, 7 ve 11 no'lu genotipler ile 12 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasında 8, 9, 11 ve 12 no'lu genotipler ile birlikte 24 saatlik uygulamada 4, 5, 7, 9 ve 12 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlarda kontrol ortalamasından daha büyük çiçek çapı elde edilmiş ve İnan (2007), Şimşek (2011), Khan vd. (2013) ile benzerlik göstermiştir. Ancak yukarıda belirtilen araştırmacıların bulgularından ayrı, 12 saat %0.3 kolhisin dozunda 4 no'lu genotip ve 48 saatlik uygulamada 4 ve 12 no'lu genotipler ile 12 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasında 2, 3 ve 7 no'lu genotipler ile birlikte 24 saatlik uygulamada 1, 3, 10, 11 ve 12 no'lu genotiplere ait çiçek çaplarında azalma, 12 saat %0.3 kolhisin dozunda 12 no'lu genotip ile 24 saatlik %0.5 kolhisin dozunda uygulamada 8 no'lu genotip çiçek çaplarında değişim görülmemiştir. Önceki çalışmalar ile benzer ve farklı sonuçların elde edilmesinin nedeninin genotipler arası farklılıktan ileri geldiği düşünülmektedir.

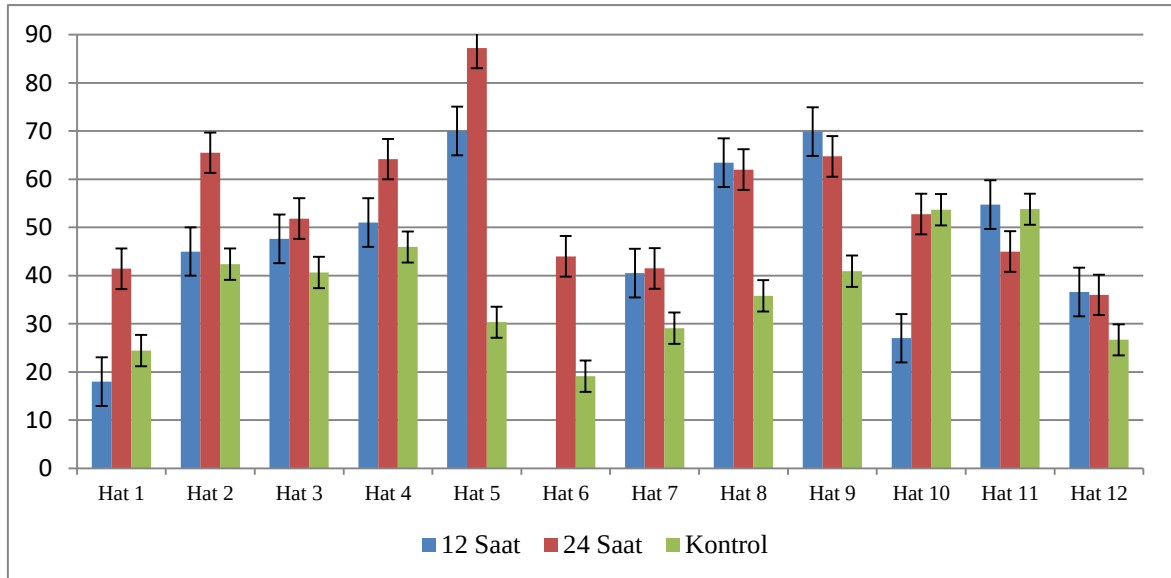
4.2.2.3. I. Sürgün yaprak alanı (cm²)

Hatlara ait bitki sürgün yaprak alanı değerleri 12 ve 24 saat süresince %0.3 ve %0.5 kolhisin dozlarında 1, 4, 6 ve 10 no'lu hatlarda istatistiki olarak %1 seviyesinde, 2 no'lu hatta %5 seviyesinde önemli olduğu belirlenmiştir. 1 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasında, 4 no'lu hat 24 saat %0.3 kolhisin dozu, 6 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu, 10 no'lu hat 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasında kontrol uygulaması ortalama değerlerinden daha yüksek değerler elde edilmiştir. 2 no'lu hat her iki uygulama süresi ve kolhisin dozunda kontrol uygulamasından daha yüksek değer verirken en yüksek değer 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasından elde edilmiştir. Bu hatların yaprak alanlarında,

uygulanan iki doz kolhisin çözeltisinde de 24 saat sürelerinde kontrole göre artış görülmüştür (Şekil 39, Şekil 40).



Şekil 4.39. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu yaprak alanı ortalama değerleri (cm²)



Şekil 4.40. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu yaprak alanı ortalama değerleri (cm²)

Genel olarak değerlendirildiğinde bazı kolhisin uygulama doz ve sürelerinin hatlar içinde yaprak alanını kontrole göre önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir. İnan (2007) tarafından karpuzda yapılan çalışmada kotiledon aşamasında kolhisin uygulanmış fidelerin seraya dikiminden sonra yapılan yaprak özellikleri ölçümünde, kolhisin dozununa bağlı olarak yaprak alanlarının değiştiğini bildirmiştir. Aynı yöndeki bulgular Liu vd. (2007) tarafından Londra çınarı bitkisinde tetraploid bitki elde etmek amacıyla yaptıkları çalışmada kromozom katlamak amacıyla kolhisini tohumlara ve bitki büyüme ucuna uygulamışlardır. Kolhisinin kotiledon aşamasında fidelerin büyüme ucuna doğrudan uygulandığında yaprak büyümesinin geçici olarak durduğunu daha sonra tekrar gelişmeye başladığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda kullanılan genotiplere ait kontrol uygulaması yaprak alanları arasında önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında en düşük yaprak alanı 6 no'lu genotipe aitken, en yüksek yaprak alanı 10 ve 11 no'lu genotiplere aittir. 12 ve 24 saat %0.3 oranındaki kolhisin uygulaması sonucunda 7 no'lu genotip, 12 saat %0.5 oranındaki kolhisin uygulamasında 1 ve 10 no'lu genotipler hariç diğer genotiplerden elde edilen ortalama yaprak alanı değerleri kontrol uygulamasından daha yüksek olup İnan (2007) ve Liu vd. (2007)'nin elde ettiği sonuçlar ile benzerdir. Yaprak alanındaki farklılığa kolhisin dozunun etkili olduğu, uygulama doz ve süreleri arasındaki farklılığın ise genotip özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Koltuk tomurcuklarına %0.3 ve %0.5 12 ve 24 saat sürelerinde kolhisin çözeltisi uygulamasının yapraktaki stoma sayısı, stoma eni ve stoma boyu üzerine etkileri incelenmiş olup Çizelge 4.5. verilmiştir.

Kolhisin uygulamalarının poliploid bitki oluşumuna etkisi belirgin olarak fark edilmiştir. Stoma boyutlarından hareket ederek teşhis yapmak yerine birim alandaki stoma sayısındaki azalma, muhtemel poliploid bitki ya da sürgün olasılığını daha net işaret etmektedir.

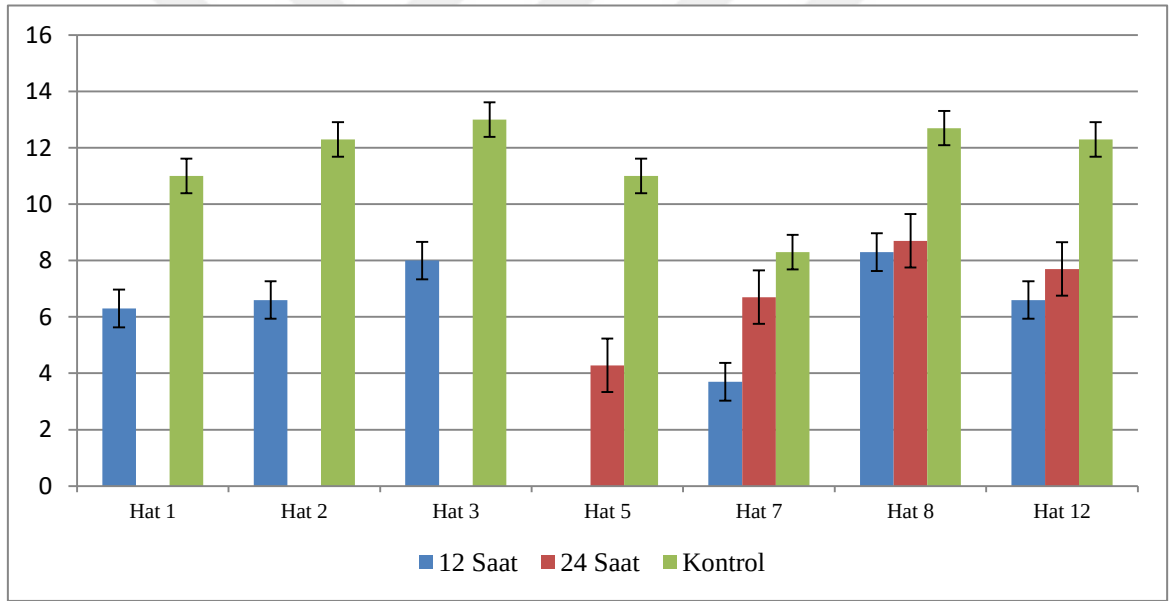
Çizelge 4.6. Koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamalarının yapraklardaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu üzerine etkileri.

Hat No	Doz	Süre	Stoma sayısı (adet)	Stoma eni(µm)	Stoma boyu(µm)
1	% 0.3	12 sa	6.3	23.4	34.7
	Kontrol		11	21.5	30.4
2	% 0.3	12 sa	6.6	28.4	33
	% 0.5	24 sa	7.7	24.4	41.25
	Kontrol		12.3	27.3	33
3	% 0.3	12 sa	8	22.1	32.3
	Kontrol		13	23.2	30.6
4	% 0.5	12 sa	6.7	35.5	44
	% 0.5	24 sa	7	26.35	36.2
	Kontrol		9	28.7	33.4
5	% 0.3	24 sa	4.28	25.36	37.92
	% 0.5	24 sa	6	23.1	35
	Kontrol		11	26.7	29.3
7	% 0.3	12 sa	3.7	27.5	44.1
	% 0.3	24 sa	6.7	23.9	31.3
	% 0.5	12 sa	6.7	23.7	39.9
	% 0.5	24 sa	2.7	23.2	33.2
	Kontrol		8.3	24	30.9
8	% 0.3	12 sa	8.3	22.8	29.4
	% 0.3	24 sa	8.7	24.4	34.8
	Kontrol		12.7	26.4	33.2
9	% 0.5	12 sa	4.43	26.86	38.16
	% 0.5	24 sa	5.3	25.95	38.9
	Kontrol		8.7	24.6	32.2
10	% 0.5	24 sa	8	24.2	37.9
	Kontrol		10.3	23.7	33.2
11	% 0.5	12 sa	7.3	31.8	46.9
	% 0.5	24 sa	6.7	20.5	34.6
	Kontrol		11	26.1	33
12	% 0.3	12 sa	6.6	27.3	39.3
	% 0.3	24 sa	7.7		
	% 0.5	24 sa	7.3	27.82	40.75
	Kontrol		12.3	30.2	36

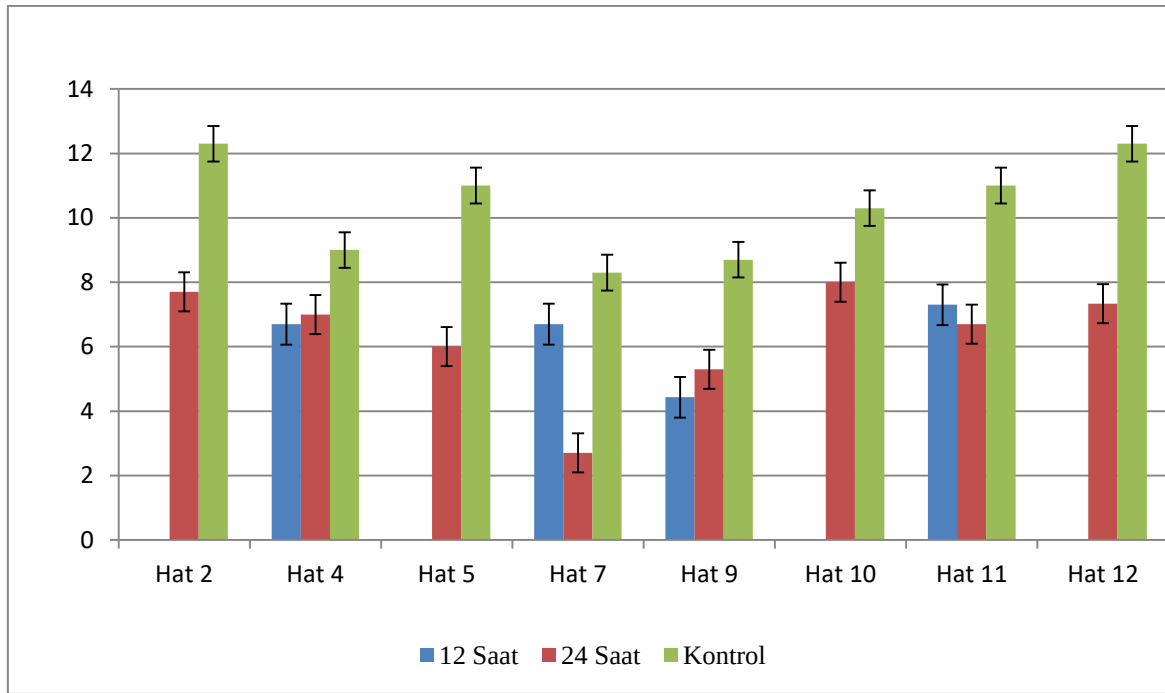
4.2.2.4. Koltuk tomurcuğu uygulamaları stoma sayısı (adet)

Hatlara ait bitkilere farklı süre ve dozlarda uygulanan kolhisin çözeltisi, tüm hatlara ait bitkilerdeki stoma sayıları ortalama değerlerinin kontrol ortalamasından daha düşük değerler elde edilmesine neden olmuştur (Şekil 4.41, Şekil 4.42). 1 no'lu hat stoma sayısı, 12 saat %0.3 kolhisin dozunda kontrol ortalamasından daha düşük, 2 no'lu hat ortalama stoma sayısı 24 saat %0.5 kolhisin uygulaması, 12 saat %0.3 kolhisin uygulamasından daha yüksek, 3 no'lu hat ortalama stoma sayısı, kontrol ortalamasından daha düşük, 4 no'lu

hat ortalama stoma sayısı, 24 saat %0.5 kolhisin dozunda 12 saatlik uygulamadan daha yüksek, 5 no'lu hat ortalama stoma sayısı 24 saat %0.3 kolhisin uygulaması, 24 saat %0.5 kolhisin uygulamasından daha düşük, 7 no'lu hat 24 saat %0.3 ve 12 saat %0.5 dozunda diğer uygulamalara göre ortalama stoma sayısından daha yüksek, 8 no'lu hat ortalama stoma sayısı, 24 saat %0.3 kolhisin dozunda 12 saatlik uygulamadan daha yüksek, 9 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozunda 12 saat %0.5 dozundan daha düşük, 10 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu kontrol ortalamasından daha düşük, 11 no'lu hat, 12 saat %0.5 kolhisin uygulaması 24 saatlik uygulamadan daha yüksek, 12 no'lu hat 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasından elde edilen değerlerin diğer uygulamalardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.41, Şekil 4.42).



Şekil 4.41. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma sayısı ortalama değerleri.



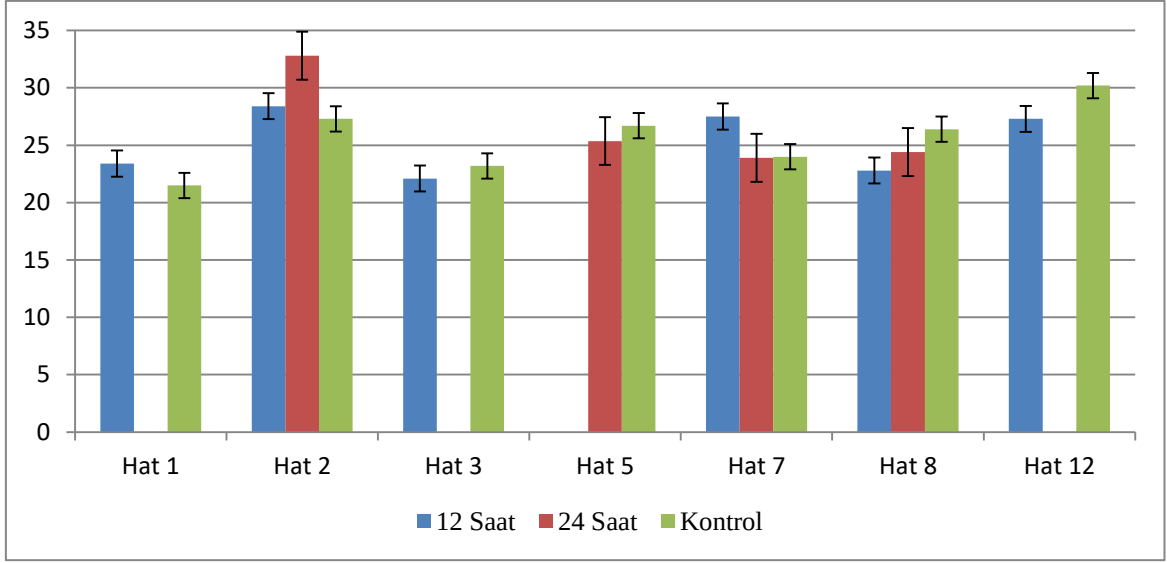
Şekil 4.42. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma sayısı ortalama değerleri

Bu çalışmada elde ettiğimiz stoma sayısı sonucunda koltuk tomurcuğuna kolhisin uygulamasından elde edilen tüm bitkilerde stoma sayısı ölçümlerine göre kontrol bitkisinden daha düşük stoma sayısına sahip oldukları görülmüştür. Stoma boyutlarının artması sonucu birim alana (mm^2) düşen stoma sayısını azalttığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Ma vd., 2014; Xie vd., 2015; Ekbiç ve Tangolar, 2016). Örneğin, Sinski vd. (2014), 'BRS Clara' ve 'Crimson Seedless' çeşitlerinin $2n$ ve $4n$ kromozom sayısına sahip örneklerinde yaptıkları stoma ölçüm sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Çalışmada elde edilen tetraploid bitkilerin stoma boyutlarında artışla birlikte birim alandaki stoma sayısında azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Şimşek (2011) tarafından karpuzda yapılan çalışmada kolhisin (%5) ve orizalin (35 m μ)'den kimyasalından elde edilen tetraploid bitkilerde en düşük stoma yoğunluğu 75.47 adet/ mm^2 olduğu tespit edilmiştir. Kontrol bitkisinde ise 245.28 (adet/ mm^2) stoma sayılmıştır. En yüksek stoma yoğunlukları ise kolhisin (%0.3) uygulamasından elde edilen tetraploid bitkilerde 125.78 adet/ mm^2 sayılırken, orizalinden (35 m μ) elde edilen tetraploid bitkilerde 88.05 adet/ mm^2 stoma sayılmıştır. Kontrol bitkisinde ise 264.15 adet/ mm^2 stoma sayılmıştır. Tetraploid bitkilerde stoma çapı ve uzunluğunun diploid bitkilere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. İnan (2007), bu sonuçlardan farklı olarak birim alana düşen stoma sayısında kolhisin

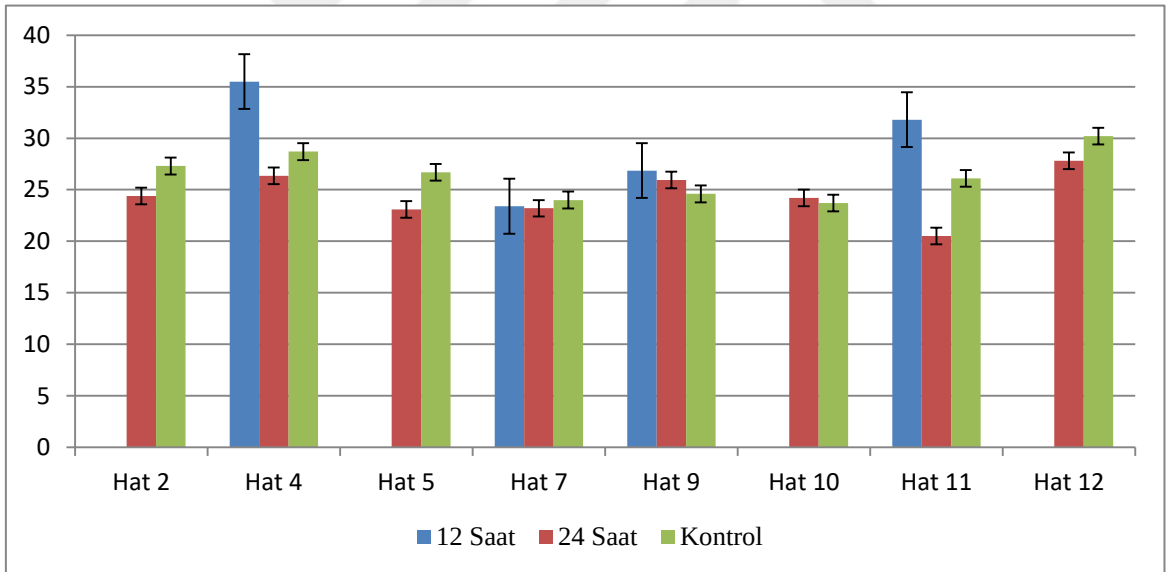
uygulamalarının bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerle oluşturulan Şekil 4.41 ve Şekil 4.42 incelendiğinde Ma vd., 2014, Sinski vd (2014), Xie vd., 2015, Ekbiç ve Tangolar, 2016). ile benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. Kontrol uygulamalarının birim alanda çıkan stoma sayıları kendi aralarında değişkenlik gösterirken uygulama dozu ve süreleri ile de değiştiği görülmektedir. En yüksek değişim 5 no'lu genotipin 24 saat süre ile %0.3 kolhisin dozunda görülürken en az değişim 4 no'lu genotipin %0.5 kolhisin dozunun her iki süresinde tespit edilmiştir. Tespit edilen bu farklıların genotipten kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.2.5. Koltuk tomurcuğu uygulamaları stoma eni (µm)

Hatlara ait bitkilere farklı süre ve dozlarda uygulanan kolhisin çözeltisin, stoma eni ortalama değerlerini farklı etkilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). 1 no'lu hat stoma eni, 12 saat %0.3 kolhisin dozunda kontrol ortalamasından daha yüksek, 2 no'lu hat ortalama stoma eni 24 saat %0.5 kolhisin uygulaması, 12 saat %0.3 kolhisin uygulamasından daha düşük, 3 no'lu hat ortalama stoma eni, kontrol ortalamasından daha düşük, 4 no'lu hat ortalama stoma eni, 24 saat %0.5 kolhisin dozunda 12 saatlik uygulamadan daha düşük, 5 no'lu hat ortalama stoma eni 24 saat %0.3 kolhisin uygulaması, 24 saat %0.5 kolhisin uygulamasından daha yüksek, 7 no'lu hat 12 saat %0.3 dozu diğer uygulama ortalama stoma eninden daha yüksek, 8 no'lu hat ortalama stoma eni, 24 saat %0.3 kolhisin dozu, 12 saatlik uygulamadan daha yüksek, 9 no'lu hat stoma eni 24 saat %0.5 kolhisin dozunda 12 saat %0.5 dozundan daha düşük, 10 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu kontrol ortalamasından daha yüksek, 11 no'lu hat ortalama stoma eni, 12 saat %0.5 kolhisin uygulaması 24 saatlik uygulamadan daha yüksek, 12 no'lu hat stoma eni 24 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasından elde edilen değer diğer uygulamalardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.43, Şekil 4.44).



Şekil 4.43. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma eni ortalama değerleri.



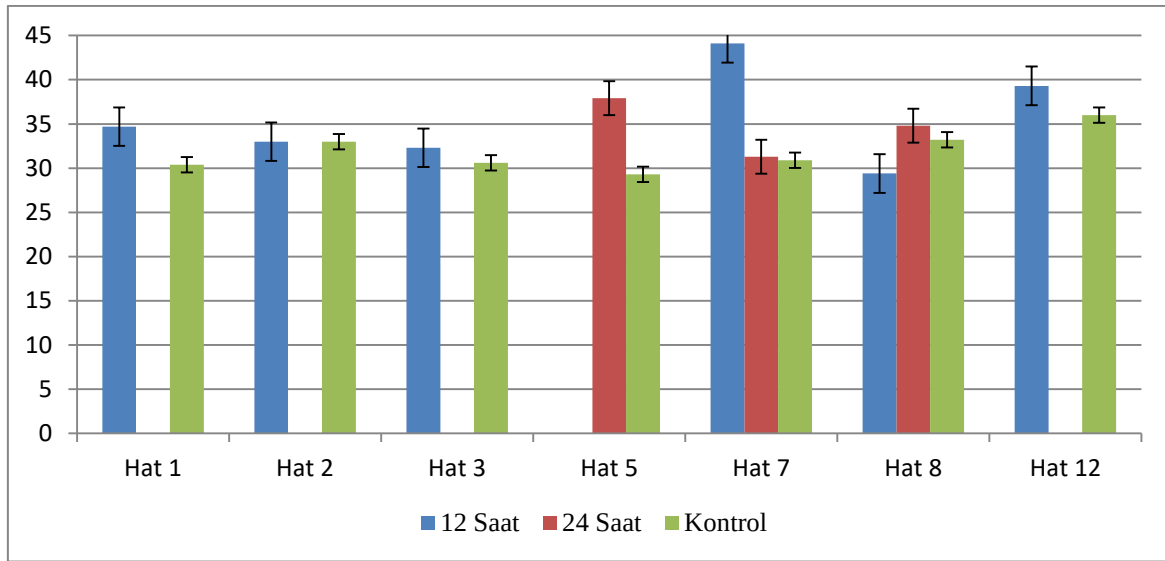
Şekil 4.44. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma eni ortalama değerleri.

Şimşek (2011), karpuzda yaptığı çalışmada morfolojik olarak tetraploid olarak kabul edilen C.Sweet genotipinde yapılan stoma incelemelerinde stoma çapını en az kontrol uygulamasında 22.01 µm olarak ölçmüş, tetraploid bitkilerde ise % 0.5 dozunda 28.53 µm ile 31.03 µm arasında değişmiş, %0.3 dozunda ise 26.35 µm olarak belirlemiştir. Orizalinden elde edilen tetraploid bitkilerde ise 35 mµ dozunda ortalama stoma çapı 25.17

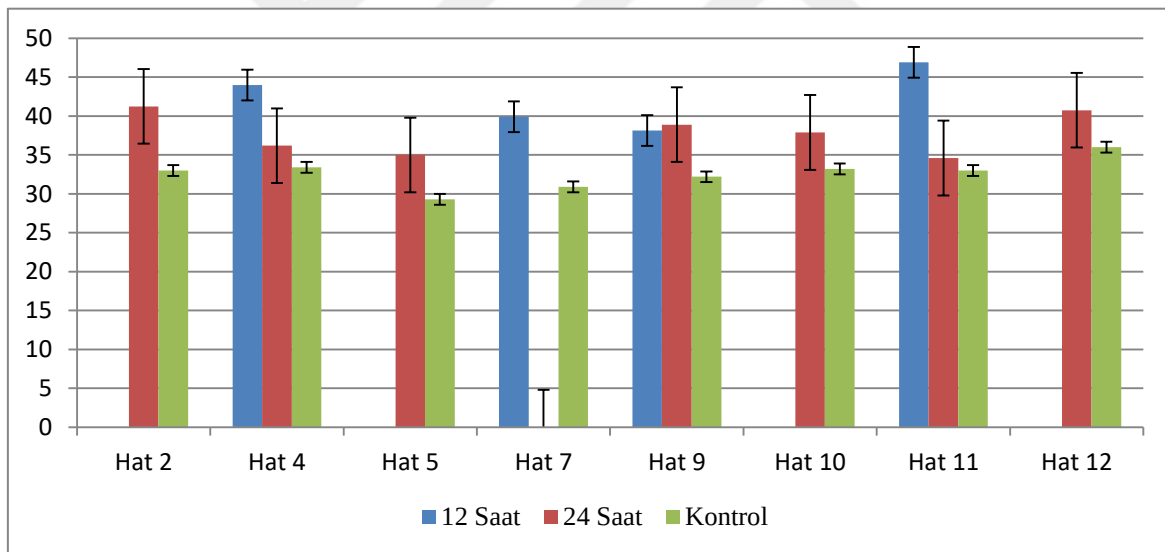
μm , 50 μm dozunda 23.68 μm olarak ölçmüştür. Çalışma sonucunda stoma en değerlerini incelediğimizde 12 saat süresince %0.3 kolhisin dozu oranı uygulamasından 1, 2 ve 7, 24 saat süresince uygulamadan 2 no'lu genotipler ile 12 saat süresince %0.5 kolhisin dozu uygulamasından 4, 9, ve 11 no'lu genotipler ile 24 saat uygulamasından 9 ve 10 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar kontrol ortalama değerlerinden daha yüksek değerler olmasından dolayı Şimşek (2011)in çalışma sonuçları ile uyumludur. Ancak 12 saat süresince %0.3 kolhisin dozu uygulamasından 3, 8 ve 12, 24 saat süresince uygulamadan 5, 6 ve 8 no'lu genotipler ile 12 saat süresince %0.5 kolhisin dozu oranı uygulamasından 7 no'lu genotip ile 24 saat uygulamasından 2, 4, 5, 7, 11 ve 12 no'lu genotiplerden elde edilen sonuçlar ortalamadan daha düşük çıkmış, önceki araştırma sonuçları ile uyumsuz olduğu görülmüştür. Stoma eni değerlerindeki bu farklı sonuçların genotip etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.2.6. Koltuk tomurcuğu uygulamaları stoma boyu (μm)

Hatlara ait bitkilere farklı süre ve dozlarda uygulanan kolhisin çözeltisin, stoma boyu stoma eninde olduğu gibi ortalama değerlerini farklı etkilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). 1 no'lu hat ortalama stoma boyu, 12 saat %0.3 kolhisin dozunda kontrol ortalamasından daha yüksek, 2 no'lu hat ortalama stoma boyu 24 saat %0.5 kolhisin uygulaması, 12 saat %0.3 kolhisin uygulamasından daha yüksek, 3 no'lu hat ortalama stoma boyu, kontrol ortalamasından daha yüksek, 4 no'lu hat ortalama stoma boyu, 24 saat %0.5 kolhisin dozu uygulaması 12 saatlik uygulamadan daha düşük, 5 no'lu hat ortalama stoma boyu 24 saat %0.3 kolhisin uygulaması, 24 saat %0.5 kolhisin uygulamasından daha yüksek, 7 no'lu hat 12 saat %0.3 dozu diğer uygulama ortalama stoma boyundan daha yüksek, 8 no'lu hat ortalama stoma boyu, 24 saat %0.3 kolhisin dozu, 12 saatlik uygulamadan daha yüksek, 9 no'lu hat stoma boyu 24 saat %0.5 kolhisin dozunda 12 saat %0.5 dozundan daha yüksek, 10 no'lu hat 24 saat %0.5 kolhisin dozu kontrol ortalamasından daha yüksek, 11 no'lu hat ortalama stoma boyu, 12 saat %0.5 kolhisin uygulaması 24 saatlik uygulamadan daha yüksek, 12 no'lu hat stoma boyu ortalaması 24 saat %0.5 kolhisin dozu uygulaması diğer uygulamalardan elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.45, Şekil 4.46).



Şekil 4.45. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.3'lük kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma boyu ortalama değerleri



Şekil 4.46. Hatlara ait bitkilere 12 ve 24 saatlik sürelerle %0.5'lik kolhisin uygulaması sonucu koltuk tomurcuğu stoma boyu ortalama değerleri.

Yaptığımız çalışmada tüm doz ve sürelerde uygulanan kolhisin stoma boylarında artış meydana getirmiştir. Kolhisinin stoma boyunu arttırdığına ilişkin çalışmalardan birisi Liu vd. (2007) tarafından Londra çınarı bitkisinde yapılmıştır. Tetraploid bitki elde etmek amacıyla yaptıkları çalışmada kolhisini tohumlara ve bitki büyüme ucuna uyguladığı 12 bitkiden tetraploid, mikroploid ve diploid bitkiler elde edilmiştir. Tetraploid bitkilerin

morfolojik gözlemlerinde stoma büyüklüğünün arttığını gözlemlemişlerdir. Khan vd. (2013) de *Solanum macrocarpon* ve patlıcan melezleri arasındaki F1'lerde fertilitenin yeniden sağlanması amacıyla kolhisin uygulaması ile kromozom katlama ile amphidiploidler (tetraploid) elde etmişlerdir. F1 bitkilerin koltuk tomurcukları ve sürgün uçları %0.05 kolhisin içeren MS ortamında 2 veya 4 gün tutulmuştur. Kolhisin uygulamaları sonrasında kök hücrelerinde kromozom sayısı, stoma bekçi hücre büyüklüğü ve polen karakterleri gözlenerek iki adet tetraploid belirlenmiştir. Tetraploidlerde stoma büyüklüğü, F1'lere göre daha büyük olarak belirlenmiştir. Şimşek (2011)'in yaptığı çalışmada, en düşük stoma uzunluğu tetraploid bitkilerde %0.4 dozunda 31.04 µm olurken, orizalin (50 µm) uygulaması sonrasında elde edilen tetraploid bitkilerde 34.37 µm olmuştur. Kontrol bitkisinde ise en düşük 26.75 µm ölçülmüştür. En yüksek stoma uzunlukları kolhisin uygulaması sonrasında elde edilen tetraploid bitkilerde 52.90 µm ölçülürken, orizalin uygulamasından elde edilen tetraploid bitkilerde 45.47 µm ölçülmüş olup, kontrol uygulamasında ise 28.41 µm ölçülmüştür. Sonuçta tetraploid bitkilerin stoma uzunluğu yönünden kontrol bitkilerinden çok yüksek değerlere sahip olduğunu bildirmiştir. Sarı vd. (1999)'nin yaptığı çalışmada ise, diploid karpuz bitkisinde stoma uzunluğunun 23-24 µm olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada kontrol bitkisinde stoma uzunluğunun benzer olduğu, tetraploid bitkilerde 2 katı kadar (46-48 µm) olduğu görülmüştür. İnan (2007), bu sonuçlardan farklı olarak stoma boyunun kolhisin uygulamaları ile ilgisinin olmadığını tespit etmiştir. Çalışma sonucunda stoma boyu değerlerini incelediğimizde 12 saat süresince %0.3 kolhisin dozu uygulaması 8 no'lu genotip hariç her iki kolhisin uygulama dozu ve süresinde genotiplerden elde edilen stoma boyu değerleri kontrol ortalaması değerlerinden yüksek olduğu tespit edilmiş elde edilen sonuçlar Sarı vd. (1999) ve Şimşek (2011) ile uyumlu olduğu görülmüştür. 12 saat süresince %0.3 kolhisin dozu uygulaması yapılan 8 no'lu genotipten elde edilen sonuçlar belirtilen önceki araştırma sonuçları ile uyumsuzdur. Uygulama dozları ve süreleri karşılaştırıldığında en az değişim %0.3 kolhisin dozunun 24 saat uygulamasında 7 no'lu genotipte görülürken en yüksek değişim 7 no'lu genotipin 12 saat uygulamasından elde edilmiştir. Stoma boyu değerlerindeki bu farklı sonuçların genotip etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2.2.7. Tohum ve koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulamasından elde edilen bitkilerde flow sitometri analizi

Ploidi düzeyinin belirlenmesinde kullanılan ve son dönemde hızlı ve güvenilir sonuçlar veren flow sitometri daha çok tercih edilir olmuştur. İlk kullanım yeri insan sağlığı amaçlı olsa da tarımda bitki çekirdek DNA'sının ölçümlerinde kullanılmaktadır. Çalışma prensibi yaydığı flouresan ışın hücre içinden geçerken DNA' nın emdiği ışın yoğunluğunu grafiksel olarak belirlemesine dayanmaktadır. Daha önceden diploid olarak bilinen bitkilerden elde edilen değerler ile karşılaştırılan bitkinin ploidi düzeyi hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Ancak ölçümden önce hücre içindeki DNA'nın serbest hale gelebilmesi, flouresan ışını emebilmesi için özel boyalar ile boyanması gibi bir takım ön hazırlıkların yapılması gerekmektedir. Cihaz pahalı, kullanımı uzmanlık istediği için merkezi laboratuvarlarda bulunmakta, örnek sayısı çok olduğu zaman maliyet yüksek olmaktadır. Çalışmamızda yaklaşık 4500 uygulama yapılmış bitki içinden morfolojik gözlemlere göre kontrolden farklı yapı sergileyen muhtemel tetraploid bitkiler ve tesadüfi olarak seçilerek stoma sayımları yapılan bitkilerin ploidi sonuçları araştırılmıştır. Uygulama sayısının çok olması bütün bitkilerin ploidi düzeylerinin belirlenmesinin maliyet açısından büyük olacağı düşünüldüğü için sadece muhtemel tetraploid bitki adaylarının bu örnekleme yöntemi ile ploidi seviyeleri ölçülmüştür. Miksoploid ve diploid olduğu varsayılan bitkiler flow sitometri yöntemine tabii tutulmamıştır.

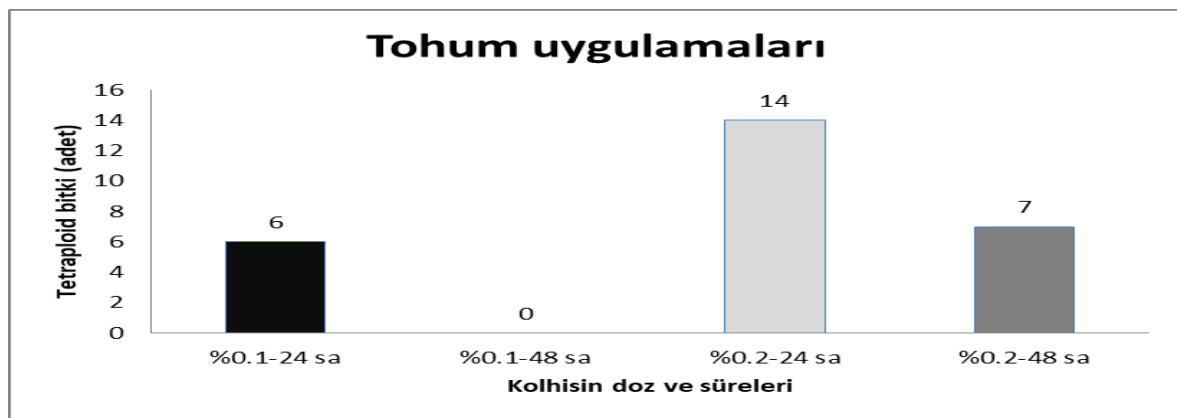
Tohumlara yapılan kolhisin uygulaması sonucu stoma sayımları yapılarak muhtemel tetraploid bitki adaylarının ploidi düzeylerini kesin belirlemek için flow sitometri ile analizleri yapılmıştır. Morfolojik gözlemlere göre yaklaşık tüm hatlardan 176 adet muhtemel tetraploid bitki adayı belirlenmiş ve bunlarında ploidi düzeylerini kesinleştirmek için flow sitometri ile analizleri yapılmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. 2019 yılı tohum uygulamalarında stoma sayısı, morfolojik gözlemler ve flow sitometri analizine göre tetraploid bitki sayıları.

Hat no	Stoma sayımı		Morfoloji gözlem		Flow sitometri toplam tetraploid bitki sayısı (adet)
	Stoma sayımına göre muhtemel tetraploid bitki sayısı (adet)	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet)	Morfolojik gözlemlere göre muhtemel tetraploid bitki sayısı (adet)*	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet)	
1	7	-	-	-	-
2	13	-	53	-	-
3	9	1	2	2	3
4	1	-	2	-	-
5	22	1	3	-	1
6	12	-	15	-	-
7	8	6	20	16	22
8	5	-	47	-	-
9	5	1	7	-	1
10	2	-	6	-	-
11	3	-	13	-	-
12	2	-	8	-	-
Toplam	89	9	176	18	27

* Kolhisin uygulamaları sonrası tohum elde edilen bitkilerin sayısı

Uygulama yapılmış 12 hattın toplam 89 bitkide stoma sayımları yapılmış ve muhtemel tetraploid olarak belirlenmiştir. Flow sitometri sonuçlarına göre ise, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 11 ve 12 no'lu hatlardan tetraploid bitki elde edilememiştir. 3, 5 ve 9 no'lu hatlardan 1'er adet ve 7 no'lu hattın 6 adet olmak üzere toplamda 9 adet tetraploid bitki elde edilmiştir. Analiz sonucunda 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11 ve 12 no'lu hatlardan tetraploid bitki elde edilemezken, 3 no'lu hattın 2 adet, 7 no'lu hattın 16 adet olmak üzere toplam 18 adet tetraploid bitki elde edilmiştir (Şekil 4.47).



Şekil 4.47. Tohumlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması sonucu flow sitometri analizlerinde elde edilen tetraploid bitki sayıları.

Koltuk tomurcuklarına yapılan uygulamadan elde edilen örneklerde tohum uygulamasında olduğu gibi belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

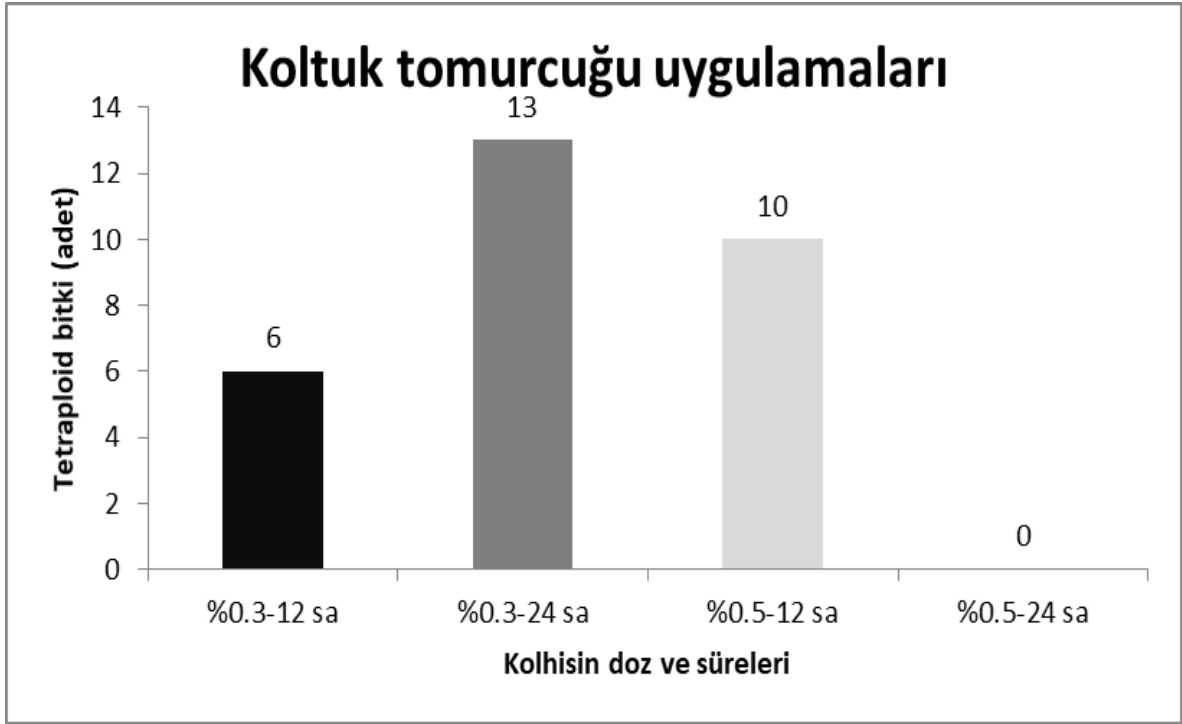
Çizelge 4.7. 2019 yılı koltuk tomurcuğu uygulamalarında stoma sayısı, morfolojik gözlemler ve flow sitometri analizine göre tetraploid bitki sayıları

Hat no	Stoma sayımı		Morfoloji gözlem		Flow sitometri toplam tetraploid bitki sayısı (adet)
	Stoma sayımına göre muhtemel tetraploid bitki sayısı (adet)	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet)	Morfolojik gözlemlere göre muhtemel tetraploid bitki sayısı (adet)*	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet)	
1	4	-	5	-	-
2	3	1	20	1	2
3	1	-	1	-	-
4	3	1	17	1	2
5	5	2	7	7	9
6	-	-	6	1	1
7	4	2	18	2	4
8	2	-	16	-	-
9	5	2	1	1	3
10	1	-	3	3	3
11	1	-	4	4	4
12	5	-	19	1	1
Toplam	34	8	117	21	29

* Kolhisin uygulamaları sonrası tohum elde edilen bitkilerin sayısı.

Stoma sayımı sonucu yaklaşık 34 örnek muhtemel tetraploid aday olarak belirlenmiştir. Bunların flow sitometri ile yapılan analizleri sonucunda, 1, 3, 6, 8, 10, 11 ve 12 no'lu örneklerden tetraploid bitki elde edilemezken, 2 ve 4 no'lu örneklerden 1'er adet, 5, 7 ve 9 no'lu örneklerden 2'şer adet olmak üzere toplam 8 adet tetraploid bitki elde edilmiştir (Şekil 4.48)

Morfolojik gözlem sonuçlarına göre yaklaşık tüm hatlardan belirlenen toplam 117 adet muhtemel tetraploid bitki adayının ploidi düzeylerini kesinleştirmek için flow sitometri analizleri sonucu, 1, 3 ve 8 no'lu hatlardan tetraploid bitki elde edilememiştir. 2, 4, 6, 9 ve 12 no'lu hatlardan 1'er adet, 7 no'lu hattın 2 adet, 10 no'lu hattın 3 adet, 11 no'lu hattın 4 adet ve 5 no'lu hattın 7 adet olmak üzere toplamda 21 adet tetraploid bitki elde edilmiştir (Şekil 4.48).



Şekil 4.48. Koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması sonucu flow sitometri analizlerinde elde edilen tetraploid bitki sayıları.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biber; insan beslenmesindeki önemi, üretim miktarı ve çok yönlü tüketim şekli sayesinde önde gelen sebze türlerinden biridir. En çok biber üreten ülkeler içinde Türkiye; Çin ve Meksika'dan sonra üçüncü sıradadır. Bu üretim hacmi ile dünya biber pazarından aldığımız maalesef aynı sırada değildir. Bunun en önemli sebebinin ürettiğimiz biber tür ve çeşitlerinin rekabet gücünün az olmasından kaynaklanmaktadır. İslah çalışmaları ile yüksek nitelikli F1 çeşitlerin ıslahında klasik ıslah metodlarının yanı sıra biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması da F1 hibrit niteliğini arttırıcı faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Günümüz ticaret koşullarında rekabetin en önemli unsuru maliyetin düşük olmasıdır. Tarımsal ürünlerin üretim maliyetlerinin artmasına ilaveten üretilen tarım ürünlerinin gıda sanayinde işlenmesi sürecinde de maliyet artışı gıda sanayini maliyeti azaltma yollarını aramaya itmektedir. Özellikle işlenmiş biber türleri içinde en çok tercih edilen kapyra biber türünün işleme sürecinde tohumlarının çıkarılması işçiliği artırdığı için istenmeyen bir durum olarak ifade edilmektedir.

Bu sorunu ortadan kaldırmak için ıslahçılar tetraploid bitkilerin diploid bitkiler ile melezlenmesi sonucu elde edilecek triploid F1 bitki ile çözmeye çalışmaktadır. Ancak doğada tetreploid bitki kolay görülebilen bir durum olmadığı için bir takım antimitotik kimyasallardan yararlanarak bu durumu oluşturmaya çalışmaktadır.

Çalışmamızda mevcut 12 ıslah hattın kolhisinin farklı doz, süre ve uygulama şekli ile kromozom sayılarının katlanarak tetraploid bitki oluşturma performansları incelenmiş ve aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

Tohum uygulamasında 24 ve 48 saat süreyle %0.1 ve %0.2 kolhisin doz uygulamasında, 3 no'lu hattan 3 adet, 5 ve 9 no'lu hattan 1'er adet, 7 no'lu hattan 22 adet tetraploid bitki elde edilmiştir. Tohumdan yapılan uygulamalarda 1, 2, 4, 6, 8, 10, 11, 12 no'lu hatlardan tetraploid bitki elde edilememiştir.

Genotiplere göre değişmekle beraber genel olarak tohum uygulamalarında uygulama süresi ve dozlarına bağlı olarak düşük doz ve sürelerin kontrol ile karşılaştırıldığında tohum çimlenmesine olumlu katkısının olduğu tespit edilmiştir.

Koltuk tomurcuklarına 12 ve 24 saat süreyle %0.3 ve %0.5 kolhisin dozu uygulamalarında, 6 ve 12 no'lu hattın 1'er adet, 2 ve 4 no'lu hattın 2'ser adet, 9 ve 10 no'lu hattın 3'er adet, 11 ve 7 no'lu hattın 4'er adet, 5 no'lu hattın 9 adet tetraploid bitki elde edilmiştir. Koltuk tomurcuğuna yapılan uygulamalarda 1, 3 ve 8 no'lu genotiplerden tetraploid bitki elde edilememiştir. Bazı genotiplerde koltuk sürgünlerine uygulanan yüksek kolhisin dozu ve süresinde gözlerde yanma olduğu tespit edilmiştir. 1 ve 8 no'lu genotiplerde her iki farklı uygulamada da tetraploid bitki elde edilememiştir. Uygulama yapılan ve elde edilen tetraploid bitki sayıları incelendiğinde, tohum uygulaması yapılan 24 saat süresince %0.1 oranında kolhisin uygulamasından yaklaşık %6.6 oranında, 24 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamasından %19.17 oranında, 48 saat %0.2 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %12.28 oranında, koltuk sürgünlerine yapılan, 12 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %12.24 oranında, 24 saat %0.3 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %46.6 oranında, 12 saat %0.5 kolhisin dozu uygulamasından yaklaşık %32 oranında tetraploid bitki elde edilmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamızda genotiplere uygulanan her iki doz ve sürelerden elde edilen farklı sonuçlardan, genotip farklılığının kolhisin uygulamalarından alınan sonuç üzerinde önemli etki yapmakla birlikte tohum uygulamalarının daha pratik ve etkili olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abak, K., Sarı, N., Paksoy, M., Yılmaz, H., Aktaş, H., Tunalı, C., 1996, Kavunda Işınlanmış Polen Tozlamaları ile Haploid Embriyo Uyartımında Genotip Etkisi, Dihaploid Hatların Oluşturulması, Haploid ve Diaploid Bitkilerin Değişik Yöntemlerle Ayrımı, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 20: 425-430.
- Abak, K., Çömlekçioğlu, N., Büyükalaca, S., Sarı, N., 1998, Use of Stomatal Characteristics to Estimate Ploidy Level of Haploid and Dihaploid Pepper Plants. Tenth EUCARPIA Meeting Capsicum and Eggplant, Avignon, France, p. 179-182.
- Alremi, F., Taşkın, H., Sönmez, K., Büyükalaca, S., Ellialtıoğlu, Ş., 2014, Biber (*Capsicum annuum* L.)’de Genotip ve Besin Ortamının Anter Kültürüne Etkileri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(2): 108-116.
- Amanah, H. A., Arumingtyas, E. L., Indriyani, S., 2016, Chromosome Analysis of Cayenne Pepper (*Capsicum frutescens* L.) in Colchicine Induced Mutation. *Journal of Applied Horticulture*, 18(3): 217-220.
- Anonymous. 2019, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, erişim tarihi:02.11.2021.
- Badu, M., Tripathy, B., Sahu, G. S., Kumar Jena, A.K., 2017, Role of Doubled Haploids in Vegetable Crop Improvement. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6): 384-389.
- Bosland, P. W., Votava, E. J., 2000, Flower, p.49. In. P.W. Bosland and E.J. Votova (Eds.). *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*. CABI Publ. London.
- Ceren, Ç., 2012, Altın Çilekte (*Physalis peruviana*) Kolhisin Uygulamalarının Etkileri. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 62s.
- Chu, Y. F., Sun, J., Wu, X., Liu, R. H., 2002, Antioxidant and Antiproliferative of Common Vegetables, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 50(23): 6910-6916.
- Çağlar, G., Abak, K., 1996, Hıyarda Ploidi Düzeyinin Belirlenmesinde Bazı Morfolojik Özelliklerin Sitolojik Yöntemlere Alternatif Olarak Kullanabilirliği Üzerinde Bir Araştırma, GAP 1, Sebze Tarımı Simp., Şanlıurfa, s. 357-366.
- Çeçil, İ., Çürük, S., 2019, The Effect of Different Oryzalin and Colchicine Concentrations Supplemented to In vitro Regeneration Medium on Tetraploid Plant Production in Eggplant. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(4): 606-616.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Davies, B. H., Matthews, S., Kirk, J. T. O., 1970, The Nature and Biosynthesis of the Carotenoids of Different Colour Varieties of *Capsicum annuum*. *Phytochemistry*, 9: 797-805.
- Demirel, F., Eren, B., Demirel, S., Erol, A., 2020, Flow Sitometri ve Bitki Islahı. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 34(1): 213-223
- Doctrinal, M., Sangwan, R. S., Sangwan-Norreel, B. S., 1989, *In Vitro* Gynogenesis in *Beta vulgaris* L.; Effects of Plant Regulators, Temperature, Genotypes and Season, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 17: 1-12.
- Ekbiç, H., Tangolar, S., 2016, Trakya İlkeren ve Flame Seedless Üzüm Çeşitlerinde Farklı Kolhisin Dozları Kullanılarak Poliploidi Oluşturma Olanakları, Akademik Ziraat Dergisi, 5(2): 69-76.
- Ellialtıoğlu, Ş., Sarı, N., Abak, K., 2001, Haploid Bitki Üretimi (Bitki Biyoteknolojisi. Doku Kültürleri ve Uygulamaları Cilt I Ed: Babaoğlu, M. Gürel, E. ve Özcan, S.) s. 40.
- Ellialtıoğlu, Ş., Abak, K., Kuşvuran, Ş., 2006, Tuz Stresi Altında Yetiştirilen Kavun Çeşitlerinde *In Vivo* ve *In Vitro* Koşullarda Bazı Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Projeleri, No:2002-58, Kesin Sonuç Raporu, 113s.
- FAO, 2019., Dünya biber üretim miktarı: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> erişim tarihi:30.10.2021
- Greenleaf, W.H., 1986, Pepper Breeding. *Breeding Vegetable Crops*, A.V.I., p. 67-127.
- Guil Guerreo, J. L., Guirado M. C., Fuentes, M., Perez, A.C., 2006, Nutrient Composition and Antioxidant Activity of 10 Pepper (*Capsicum annuum*) varieties, *European Food Research and Teknology*, 224: 1-9.
- He, M., Gao, W., Gao, Y., Liu, Y., Yang, X., Jiao, H., Zhou, Y., 2016, Polyploidy Induced By Colchicine in *Dendranthema indicum* var. *aromaticum*, a scented Chrysanthemum, *European Journal of Horticulture Science*, 81(4): 219-226.
- Heuvelink, E., Körner, O., 2001, Parthenocarpic Fruit Growth Reduces Yield Fluctuation and Blossom-End Rot in Sweet Pepper, *Annals of Botany*, 88(1): 69-74.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H., Villalon, B., 2000, Changes in Phytochemical and Antioxidant Activity of Selected Pepper Cultivars (*Capsicum Species*) As Influenced by Maturity. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 48: 1713–1720.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ishikawa, K., Mishiba, K., Yoshida, H., Nunomura, O., 1997., Establishment of Tetraploid Plants of *Capsicum annuum* L. by Colchicines Treatment with the Analysis of Flow Cytometry, *Capsicum and Eggplant Nwsltr*, 16: 44-47.
- Ishikawa, K., Kuboki, H., Mishiba, K., 2001, Tetraploid Bell Pepper Shows High *In Vitro* Pollen Germination at 15 °C. *HortScience*, 36(7):1336.
- İnan, S., 2007, Karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum ve Nakai)'da *In Vivo* ve *In Vitro* Yöntemlerle Tetraploid Bitki Elde Edilmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, 80s.
- Jaskani, M. J., Kwon, S. W., Kim, E. J., Ko, B. R., 2004c, Polyploidy Affects Fruit Characteristics, Seed Morphology and Germination in Watermelon (*Citrullus lanatus*). *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 45(5): 233-237.
- Jaskani, M. J., Kwon, S. W., Dae, H. K., 2005a, Flow Cytometry of DNA Contents of Colchicine Treated Watermelon as a Ploidy Screening Method at M1 Stage. *Pakistan Journal of Botany*, 37(3): 685-696.
- Kara, Z., Doğan, O., Yazar, K., Sabır, A., 2018a, 41 B Asma Anacına *In Vivo* Kolhisin Uygulamalarının Morfolojik ve Sitolojik Etkileri, Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 32(1): 8-13.
- Kara, Z., Sabır, A., Yazar, K., Doğan, O. ve Albanaa, A., 2018b, 'Narince'(*Vitis vinifera* L.) Üzüm Çeşidinde Kolhisin Uygulamalarının Morfolojik ve Sitolojik Etkileri, Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 32(1): 14-19.
- Karakullukçu, Ş., 1991, Değişik Patlıcan Genotiplerinde *in vitro* Androgenesis ve Haploid Bitki Oluşumunu Uyarıcı Bazı Etmenler Üzerinde Araştırmalar, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara, 131s.
- Khan, M. R., Hasnunnahar, M., Isshiki, S., 2013, Production of Amphidiploids of the Hybrids between *Solanum macrocarpon* and Eggplant. *HortScience*, 48(4): 422-424.
- Kim, S., Okubo, H., Fujieda, K., 1992, Endogenous levels of IAA in Relation to Parthenocarpy in Cucumber (*Cucumis sativus* L.), *Scientia Horticulturae*, 52(1-2) 1-8.
- Köksal, N., 1999, Haploid Kavun Bitkilerinde *In Vivo* ve *In Vitro* Yöntemlerle Dihaploidizasyon, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, 116s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kulkarni, M., Borse, T., 2010, Induced Polyploidy with Gigas Expression for Root Trait in *Capsicum annuum* (L.). *Plant Breeding*, 129(4): 461-464.
- Kurtar, E. S., 1999, Kabakta (*Cucurbita pepo* L.) Haploid Embriyo Uyarımı ve Bitki Oluşturma Üzerinde Araştırmalar, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Adana, 203s.
- Lehrer, M. J., Brand, H. M., Lubell, D. J., 2008, Induction of Tetraploidy in Meristematically Active Seeds of Japanese burberry (*Berberis thunbergii* var. *atropurpurea*) Through Exposure to Colchicine and Oryzoline. *Scientia Horticulturae, Department of Plant Science*, U-4067, University of Connecticut, Unitade States, 119(1): 67-71.
- Liu, G., Li, Z., Bao M., 2007, Colchicine Induced Chromosome Doubling in *Platanus acerifolia* and Its Effect of Plant Morphology. *Euphytica*, 157: 145-154.
- Mensah J.K., Obadoni B.O., Akomeah P.A., Ikhajiagbe B., Ajibolu J., 2007, The effects of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed (*Sesame indicum* L.), 6(5), pp. 534-538.
- Mitykó, J., Fári, M., 1997, Problems and Results of Doubled Haploid Plant Production in Pepper (*Capsicum annuum* L.) via Anther and Microspore Culture. *ISHS Acta Horticulturae*, p. 447: 281-288. III International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding.
- Minguez-Mosquera, M. I., Hornero-Mendez, D., 1994, Changes in Carotenoid Esterification during the Fruit Ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 42(3): 640-644.
- Mohr, H.C. 1986, Watermelon Breeding. 37-36. In: Basset M.J. (ed), *Breeding Vegetable Crops*. AVI Publishing Company, 584s
- Mosquera, M. I. M ve Mendez, D. H., 1994, Comparative Study of the Effect of Paprika Processing on the Carotenoids in Peppers (*Capsicum annuum*) of the Bola and Agridulce Varieties, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 42(7): 1555-1560.
- Omran, S. A., Guerr-Sanz, J. M., Garrido Cardenas., J. A., 2008, Methodology of Tetraploid Induction Plants and Expression of Microsatellite Alleles in Triploid Watermelon. *Proceedings of the IXth EUCARPIA Meeting on Genetic and Breeding of Cucurbitaceae*, Avignon-France, p. 381-384.
- Özalp, Z., Ergönül, O., Uysal, T., Özer, C., Tuna, M. ve Yücel, G., 2018, Kotiledon aşamasındaki M. palieri üzüm çeşidinde kolhisin uygulamalarının morfoloji ve ploidü üzerine etkileri, *Bahçe (Özel sayı)*, 45(1): 709-715.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Panda, R. C., Kumar, O. A., Rao, K. G., 1984, Cytomorphology of induced octoploid Chili pepper (*Capsicum annum* L.) *Theor Appl. Genetics*, 68(6): 567-570.
- Praça, M. M., Carvalho, C. R., Clarindo, W. R., 2009, A Practical and Reliable Procedure for In Vitro Induction of Tetraploid Tomato. *Scientia Horticulturae*, 122(3): 501-505.
- Rauf S., Khan I. A., Khan F. A., 2006, Colchicine-Induced Tetraploidy and Changes in Allele Frequencies in Colchicine-Treated Populations of Diploids Assessed with RAPD Markers in *Gossypium arboreum* L. Department of Plant Breeding & Genetics, University of Agriculture, Pakistan, *Turkish Journal of Biology*, 30: 93-100.
- Quarto, R., Natı, D., Paoloni, F.M., 1991, Strawberry Anther Culture, *Acta Horticulturae*, p. 300-337.
- Sarı, N., Abak, K., 1996, Haploid Karpuzda *In Vitro* Kromozom Katlanması Amacıyla Değişik Doz ve Sürelerde Uygulanan Kolhisinin Etkisi. *Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 20: 555-559.
- Sarı, N., Abak, K., Pıtrat, M., 1999b, Comparison of Ploidy Level Screening Methods in Watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai. *Scientia Horticulturae*, 82: 265-277.
- Sarı, N., Ekiz, H., Yücel, S., Yetişir, H., Ekbiç, E., Abak, K., 1999a., Investigation of New Protected Cultivation Melon Lines Resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Using Dihaploidization, In: Proceedings of the Third *Turkish National Horticultural Congress*, Ankara, s. 498-503.
- Sattler, M. C., Carvalho, C. R., Clarindo, W. R., 2016, The Polyploidy and its Key Role in *Plant Breeding*, *Planta*, 243(2): pp. 281–296.
- Shi, X., Peng, J., Wang, L., 2009, Identifying Chromosome Ploidy by the Number of Stomatal Guard Cell Chloroplast in Watermelon. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 35(6): 640-642.
- Simonne, A. H., Eitenmiller, R. R., Mills, H. A., Green, N. R., 1997, Ascorbic Acid and Provitamin A Contents in Unusually Colored Bell Peppers (*Capsicum annum* L.), *Journal of Food Composition and Analysis*, 10(4): 299-311.
- Shi, X., Peng, J., Wang, H., Li, Y., Zeng, H., Zhang, A., Yang, H., 2010, Study on Colchicines Induced Polyploid Plants and Identification of *Citrullus lanatus*. *Journal of Changjiang Vegetables*, Category, p. 651.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sliwinska, E., 2018, Flow Cytometry – A Modern Method for Exploring Genome Size and Nuclear DNA Synthesis in Horticultural and Medicinal Plant Species, *Folia Horticulturae*, 30(1): 103-128.
- Şalk, A., 1979, Kerevizlerde Tetraploidinin Kök ve Yaprak Sapı İriliği İle Meiotic Bölünmeye Etkisi ve Kerevizlerin Karyotipi Üzerinde Araştırmalar, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:344, İzmir, 159s.
- Şimşek, İ., 2011, Çekirdeksiz Karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum ve Nakai) Çeşitlerinin Geliştirmeye Yönelik Tetraploid Hatların Elde Edilmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, 91s.
- Tanaka, M., 1950, Studies on artificial polyploid Eggplants. I. The production of Tetraploid Eggplants by Means of Colchicine. *Rep, Kihara Inst. biol. Res.* No:4 pp. 59-65.
- Takizawa, K., Ishikawa, K., Nunomura, O., Ito, T., 2008, Ploidy Level Effect on Physiology of Pepper Plant as Affected by Fruit Loading, *ISHS Acta Horticulturae* p. 779, 89.
- Tepe, Ş., 2001, Nanede (*Mentha longifolia* L.) in vitro kolhisin uygulaması ile poliploid bitki elde edilmesi, Ankara Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 69, (yayımlanmamış).
- TÜİK, 2020., <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1>, erişim tarihi: 23.10.2021.
- TÜİK, 2017., Biber tohumu ihracat ve ithalatı, <https://iz.tuik.gov.tr>, erişim tarihi: 30.10.2021.
- TÜİK, 2018., Biber tohumu ihracat ve ithalatı, <https://iz.tuik.gov.tr>, erişim tarihi: 30.10.2021.
- TÜİK, 2018., Türkiye biber üretim miktarları, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>, erişim tarihi: 30.10.2021.
- TÜİK, 2019., Biber tohumu ihracat ve ithalatı, <https://iz.tuik.gov.tr>, erişim tarihi: 30.10.2021.
- TÜİK, 2020., Biber tohumu ihracat ve ithalatı, <https://iz.tuik.gov.tr>, erişim tarihi: 30.10.2021.
- TÜİK, 2020., Türkiye biber üretim miktarları, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>, erişim tarihi: 30.10.2021.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vimala, S., Mohd I. A., 1999, "Malaysian Tropical Forest Medicinal Plants: A Source of Natural Antioxidants." *Journal of Tropical Forest Products*, 5: 32-38.
- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000, Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, s, 293-305.
- Yetişir, H., Sarı, N., 2003, A New Method for Haploid Muskmelon (*Cucumis melo* L.) Dihaploidization, *Scientia Horticulturae*, 98(3): 277-283.
- Xie, X., Agüero, C., Wang, Y., Walker, M., 2015, *In Vitro* Induction of Tetraploids in *vitis x muscadinia* hybrids, *Bitki Hücresi Doku ve Organ Kültürü*, 122(3): 675-683.
- Xing, H. S., Guo, B. X., Wang, Q., Pan, F. Q., Tian, S. Y., Liu, P., Zhao, Y. J., Wang, F. G., Sun, F. X., Tang, X. K., 2011, Induction and Flow Cytometry Identification of Tetraploids From Seed-Derived Explants Through Colchicine Treatments in *Cathranthus roseus* (L.), *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 10.