



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



SODYUM AZİT VE ETİL
METANSÜLFONATIN ASMA
GENOTİPLERİNDE SİTOLOJİK ETKİLERİ

Ahmet BEYATLI

DOKTORA TEZİ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Temmuz-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ahmet BEYATLI tarafından hazırlanan ‘**Sodyum Azit ve Etil Metansülfonatın Asma Genotiplerinde Sitolojik Etkileri**’ adlı tez çalışması 20/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Zeki KARA

.....

Danışman

Prof. Dr. Zeki KARA

.....

Üye

Prof. Dr. Ali SABİR

.....

Üye

Prof. Dr. Birhan MARASALI KUNTER

.....

Üye

Prof. Dr. Rüstem CANGİ

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Kevser YAZAR

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Ahmet BEYATLI

Tarih: 20/07/2023

ÖZET

DOKTORA TEZİ

Sodyum Azit ve Etil Metansülfonatın Asma Genotiplerinde Sitolojik Etkileri

Ahmet BEYATLI

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zeki KARA
2022, 140 Sayfa

Jüri

Danışman Prof. Dr. Zeki KARA
Prof. Dr. Ali SABİR
Prof. Dr. Birhan KUNTER
Prof. Dr. Rüstem CANGİ
Dr. Öğr. Üyesi Kevser YAZAR

Bağcılık, ürünleri şarap, sofralık, kuru üzüm, meyve suyu, reçel ve diğer şekillerde kullanılan, sosyo-ekonomik açıdan en önemli üretim alanlarından biridir. Pazar taleplerindeki dinamik değişimler ve küresel iklim değişikliği karşısında bağcılığın uzun vadeli sürdürülebilirliği, yetiştirme tekniklerinin geliştirilmesine ek olarak, özellikle asma anacı ve üzüm çeşitlerinin günümüz ihtiyaçlarına yönelik geliştirilmesini gerektirmektedir. Bu bağlamda üzüm ıslahı ve özellikle poliploid üzüm genotiplerinin geliştirilmesi önemli ipuçları vermektedir. Bu çalışmada kimyasal mutagenler olarak Sodyum Azit (SA %0, %0.01, %0.05, %0.1, %0.2 dozları 2 ve 4 saat) ve Etil Metansülfonat (EMS %0, %0.01, %0.02, %0.5, 6 ve 10 saat) kullanılmıştır. Ekşi Kara ve Gök Üzüm sofralık üzüm çeşitleri ile 41B ve Fercal asma anaçlarının çimlenmiş tohumlarında uyarıcı poliploidinin etkileri makroskobik, mikroskobik ve sitogenetik açıdan incelenmiştir. Denemede her doz için 20 adet katlanmış tohum olmak üzere her genotip için 300 adet ve toplamda 1200 adet tohum mutagen uygulanmıştır. Üzüm çeşitlerine ve asma anaçlarına uygulanan mutagenlerin LD50 değerleri genotipler için ayrı ayrı hesaplanmıştır. LD50 değerleri arasında mutagenlere, uygulanan dozlara, uygulama sürelerine ve asma genotiplerine göre farklılıklar belirlenmiştir. Hayatta kalan asma fidelerinin erken gelişme döneminde ortalama yaprak kalınlığı, sürgün uzunluğu, yaprak boyutu, yaprak sayısı, klorofil içeriği, sürgün çapı, stoma yoğunluğu ve boyutları, kloroplast sayıları mutagenlere, doz ve uygulama sürelerine ve genotiplere göre farklılıklar göstermiştir. Poliploidinin ön tespiti için kullanılan en elverişli mikroskobik gözlem olan kloroplast sayısının en yüksek değerleri Gök Üzüm EMS %0.02 6-s uygulamasında 28.67 ± 2.08 adet ile Gök Üzüm SA %0.2 2-s uygulamasında 29.67 ± 2.08 adet olarak belirlenirken en düşük değerler Ekşi Kara kontrol (19.97 ± 0.23 adet) ve Gök Üzüm (SA %0.1 2-s 19.83 ± 1.76 adet) uygulamalarında belirlenmiştir. Her iki mutagenin uygulamaları sonucunda Ekşi Kara'da 39, Gök Üzüm'de 48, 41B'de 78 ve Fercal'de 103 toplam 268 adet fide hayatta kalmıştır. Bu fidelede sürgün, yaprak, klorofil, stoma ve kloroplast gözlemleriyle yapılan ön eleme sonucunda 'Ekşi Kara'da 8, 'Gök Üzüm'de 17, 41B'de 9 ve Fercal'de 16 olmak üzere toplam 50 fide seçilerek, flow sitometresi (FC) analiziyle poliploidi doğrulaması yapılmıştır. Seçilmiş triploit Gök üzüm fidesinin yaprak klorofil içeriği, ebeveyn Gök Üzüm ve tetraploit Kyoho ile karşılaştırıldığında her ikisinden daha düşük bulunmuştur. Seçilmiş triploit Gök Üzüm fidesinin kloroplast miktarı, ebeveyn Gök Üzüm'den daha yüksek fakat Kyoho'dan daha düşüktür. FC analizi sonucunda, sadece Gök Üzüm çekirdeklerine yapılan SA %0.05 2-s uygulamasından seçilen bir fidenin triploit/yakın triploit olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca, FC analiziyle seçilmiş fidenin kök ucu örneğinde yapılan kromozom sayımında 57 kromozom sayılmış ve ploidi doğrulaması tekrarlanmıştır. Bu çalışmamızdan elde edilen triploit *Vitis vinifera* L. cv. Gök Üzüm fidesi, Sodyum Azit'in asma genotiplerinde mutant olarak kullanılarak poliploidinin uyarıldığı ilk verimli sonuçtur. Daha sonraki aşamada mutasyon çalışmaları için, bu çalışmada triploidi/ yakın triploidi uyarımı sağlayan SA %0.05 2-s uygulaması öncelikle önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Asma, poliploidi, uyarma, triploit/yakın triploit, sodyum azit, etil methanesulfonat



ABSTRACT

Ph.D THESIS

**Mutagenic Effects of Sodium Azide and Ethyl Methanesulfonate on Grape
Genotypes**

Ahmet BEYATLI

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN HORTICULTURE**

Advisor: Prof. Dr. Zeki KARA

2022, 140 Pages

Jury

Advisor Prof. Dr. Zeki KARA

Prof. Dr. Ali SABIR

Prof. Dr. Birhan KUNTER

Prof. Dr. Rüstem CANGİ

Dr. Öğr. Üyesi Kevser YAZAR

1

Keywords: Grapevine, polyploidy, induction, triploid/near triploid, sodium azide, ethyl methanesulfonate

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını eksik etmeyen akademik kariyerimin oluşmasında bana derin bilgisiyle yardımcı ve destek olan Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Zeki KARA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bağcılık konusundaki çalışmalarım sırasında çok değerli katkılarını gördüğüm Bahçe Bitkileri Bölümü Bağcılık Bilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ali SABİR'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın tüm aşamasında bana yardımcı olan Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Kevser YAZAR'a ve Dr. Öğr. Üyesi Osman DOĞAN'a, Araş. Gör. Heydem EKİNCİ'ye ve Malatya Turgut Özal Üniversitesi Battalgazi Meslek Yüksekokulu Sayın Dr. Öğr. Gör. Ayşe ÖZER'e Doktora öğrencileri Mehmet KÜZECİ, Sarmed ABDULLAH, Mostafa AKKOYUNLU ve Alper ve Hatice KÜÇÜKBASMACI'ya ve Yüksek Lisans öğrencisi Sabit YAZICI'ya şükranlarımı sunarım.

Uzun ve yorucu laboratuvar çalışmalarında yardım eden, destek veren ve isimlerini burada saymadığım Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencilerine ve Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Lisans Öğrencileri ile Laboratuvarı çalışanlarına şükranlarımı sunarım.

Ayrıca Çalışmamızın arazi boyutunda yardım ve desteklerini gördüğüm üreticilerimiz, değerli bağcılarımıza yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Benim bu günlere ulaşmamda her türlü maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan aileme ve eşim Zeynep'e şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim ve çocuklarıma Seden ve Mohammed Aslan BEYATLI'ya hayatıma neşe kattıkları için teşekkür ederim.

Ahmet BEYATLI
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	7
2.1. Asma Islahı Çalışmaları.....	7
2.2. Poliploidi Çalışmaları	15
2.3. Mutasyon ve Mutagenite	20
2.4. Sodyum Azide (SA) Çalışmaları	28
2.5. Etil Metansülfonat (EMS) Çalışmaları	41
2.6. Triploit Asma Islahı Çalışmaları.....	54
2.7. Flow Sitometri (FC).....	67
2.8. Kromozom Sayımı.....	68
3.1. Bitkisel Materyal.....	69
3.1.1. 41B.....	69
3.1.2. Fercal	70
3.1.3. Ekşi Kara.....	71
3.2. Kimyasal Mutagenler.....	72
3.3. Yöntem	74
3.3.1. Tohum elde edilmesi ve depolanması.....	74
3.3.2. Tohumlara kimyasal uygulamaları	74
3.3.3. Hayatta kalma oranlarına etkiler ve mutagenlerin LD50 değerlerinin hesaplanması.....	75
3.3.5. Stoma özelliklerine etkiler [yoğunluk (adet mm ⁻²) ve stoma boyutlarına (µm)]	77
3.3.7. Kloroplast sayılarına etkiler (adet/stoma).....	77
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	80
4.1. EMS ve SA'nın Uygulama Sürelerine Göre LD%50 Değerlerine Etkileri.....	80
4.2. EMS ve SA'nın Uygulama Dozlarına Göre LD%50 Değerlerine Etkileri.....	80
4.3. EMS Uygulamalarının Etkileri	82
4.3.1. EMS uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri	82
4.3.2. EMS uygulamalarının yaprak enine etkileri	83
4.3.3. EMS uygulamalarının yaprak boyuna etkileri	84
4.3.4. EMS uygulamalarının yaprak sayısına etkileri	85
4.3.5. EMS uygulamalarının sürgün çapına (mm) etkileri	86

4.3.6. EMS uygulamalarının yaprak kalınlığına etkileri.....	87
4.3.7. EMS uygulamalarının stoma sayılarına (adet mm ⁻²) etkileri.....	88
4.3.8. EMS uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri	89
4.3.9. EMS uygulamalarının stoma genişliğine etkileri.....	90
4.3.10. EMS uygulamalarının yaprak klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkileri....	91
4.3.11. EMS uygulamalarının kloroplast sayılarına (adet) etkileri.....	92
4.4. SA Uygulamalarının Etkileri	94
4.4.1. SA uygulamalarının sürgün uzunluğuna (cm) etkileri.....	94
4.4.2. SA uygulamalarının yaprak enine (mm) etkileri	95
4.4.3. SA uygulamalarının yaprak boyuna (mm) etkileri	96
4.4.4. SA uygulamalarının yaprak sayılarına (adet) etkileri	97
4.4.5. SA uygulamalarının sürgün çapına (mm) etkileri.....	99
4.4.6. SA uygulamalarının yaprak kalınlığına (µm) etkileri.....	100
4.4.7. SA uygulamalarının stoma sayılarına (adet mm ⁻²) etkileri.....	101
4.4.8. SA uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri.....	103
4.4.9. SA uygulamalarının stoma genişliğine etkileri.....	104
4.4.10. SA uygulamalarının klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkileri.....	105
4.4.11. SA uygulamalarının kloroplast sayılarına (adet) etkileri.....	106
4.4.12. FC analiz sonuçları	108
4.4.13. Kromozom sayımı sonuçları.....	109
4.5. Seçilmiş Triploit/Yakın Triploit Gök Üzüm Fidesinin Özellikleri.....	110
4.6. Tartışma	111
4.6.1. Sürgün büyümesi	111
4.6.2. Yaprak özellikleri	113
4.6.3. Stoma özellikleri	116
4.6.4. Yaprak klorofil içeriği	117
4.6.5. Kloroplast sayıları.....	118
5.1. Sonuçlar	121
5.2. Öneriler	122
KAYNAKLAR	124

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde
2x : Diploit kromozom sayısı
Al : Alüminyum
C : Karbon
dES : Dietil sülfat
Fe : Demir
g : Gram
kg : Kilogram
mg : Miligram
Mn : Mangan
N : Azot
°C : Derece Santigrat
P : Potasyum
pH : Power of hydrogen, Hidrojen iyonu konsantrasyonunun negatif logaritması
PS : Photosystem
SO₄ : Sülfat
x : Temel kromozom sayısı
X- ışınları : Röntgen ışınları
Zn : Çinko
γ-ışınması, Gama Radiation : Gama ışıması
µm : Mikrometre
mM : Milimolar

Kısaltmalar

ABA : Abscisic acid - Absizik asit
ABD : Amerika Birleşik Devletleri
AFLP : Amplified fragment length polymorphism - Amplifiye fragman uzunluğu polimorfizmi
dES : diethyl sulfate - dietil sülfat
DHm : Doubled haploidy mutation - çift haploid mutant
EI : ethylene imine - etilen imin
EI : Etilen imin
EMS : Etil metansülfonat
ER : Endoplazmik retikulum
FC : Flow cytometry - Flow sitometri
g L⁻¹ : Litrede gram
GS : Genomik Seleksiyon - Genomik seçim
GWA : Genome-wide association - Genom çapında ilişkilendirme
h : hour - saat
h/h : hacim / hacim
HA : Hidroksilaminin
HA : Hydroxylamine - hidroksilaminin
HRM : High Resolution Melting- Yüksek çözünürlüklü erime analizi.
HZ : Hidrazin hidrazat

ISSR : Inter Simple Sequence Repeats Basit-arası dizi tekrarı
ISSRPCR : Inter Simple Sequence Repeat - Polimeraz Zincir Reaksiyonuna
kg ha⁻¹ : Kilogram / hektar
LD50 : Median lethal dose - Ortalama %50 öldürücü doz
M1 : Mutan1 birinci nesil
M2 : Mutant ikinci nesil
M3 : Mutant üçüncü nesil
M4 : Mutant dördüncü nesil
mg L⁻¹ : Litrede miligram
MH : Maleik hidrazid
MMS : Methyl methanesulfonate - Metil metansülfonat
NAGRAB : National Centre for Genetic Resources and Biotechnology - Nijerya Ulusal Genetik Kaynaklar ve Biyoteknoloji Merkezi
NEU : N-nitroso-N -etilüre
NEU : N-nitroso-N-ethylurea - N-nitroso-N -etilüre
NMU : N-nitroso-N-methylurea - N-nitroso-N-metilüre
NMU : N-nitroso-N-metilüre
NPBT : New Plant Breeding Techniques - Yeni bitki ıslahı teknikleri
PCR : Polymerase chain reaction - Polimeraz zincirleme tepkimesi
PIC : The Polymorphism Information Content - Kullanılan markörlere ait ortalama polimorfizm bilgi içeriği
PMC : Pollen mother cells - polen ana hücresinden

1. GİRİŞ

Asma (*Vitis vinifera* L.), insanlık tarihinin en eski ve sosyokültürel olarak en önemli bahçe bitkilerinden biridir (Diaz-Lara ve ark., 2018; Lin ve ark., 2019). Global ölçekte 8 milyon hektar üzüm bağı ve yaklaşık 90 milyon tonluk küresel yıllık üretimi ile asma, en önemli bahçe bitkilerinden biridir (<https://www.fao.org>, 2021).

Asma (*Vitis vinifera* L.), öncelikle Batı Asya'dan Avrupa'ya yayılan kültür ve yabani formlardan oluşur. Yaklaşık 8000 yıl önce, insan popülasyonlarının toplanmaya başladığı Neolitik Çağ'da kültüre alınan asma yabani progenitor türler *V. sylvestris* arasından seçilerek vegetatif çoğaltılan hermafroditik ve/veya partenokarpik formlardan oluşur. İlk kültüre alınma alanından, büyük olasılıkla Kara Deniz ve Hazar Denizi'nin güney kıyıları ve yakınlarda, kültür formları batıya doğru yayılmış ve büyük uygarlık ve kolonizasyon olaylarını takiben Akdeniz havzasına ulaşmıştır. Bağcılık kültürü daha sonra iç bölgelere, Avrupa ve Asya'nın ılıman-soğuk ekolojilerine yayılmıştır (Cipriani ve ark., 2010).

Günümüzde üretilen üzümlerin çoğu *V. vinifera*'nın kültür çeşitleridir. Üzüm kültüre alınmasından itibaren şaraplık ve sofralık ve kuru üzüm olarak tüketilir. *V. vinifera*, hermafroditizm, şeker içeriği, meyve rengi ve meyve boyutları (Aradhya ve ark., 2003; Myles ve ark., 2011; Zhou ve ark., 2017) gibi istenen özellikler için seçilmiştir.

V. vinifera üzüm çeşitleri, çeşitli iklim koşullarında yetiştirilebilmeleri ve yüksek meyve kalitesi nedeniyle yaygın olarak yetiştirilmektedir. Ancak, özellikle serin ve nemli iklimlerde yetiştirildiklerinde mantar hastalıkları ve böcek zararlılarına karşı hassastırlar. Dünya çapında bir dizi asma ıslah programında, Avrupa ve Amerika *Vitis* türleri arasında melezlemelerle hastalıklara dayanıklı yeni çeşitler geliştirmeye çalışılmıştır. Bu ıslah programlarında heterozigotluğun korunması esas olup arzu edilen özellikler bakımından seçilen melezler vegetatif çoğaltılırlar (Alleweldt ve Possingham, 1988).

Üzüm ve üzüm ürünleri, şarap olarak dünya çapında geniş ve büyüyen bir pazara sahiptir, sofralık üzüm, kuru üzüm ve insan sağlığı ve kozmetik amaçlı kullanılan ürünlerdir (Cardone ve ark., 2016). Çin ve diğer bazı Asya ülkelerinde ana ticari üzüm üretimi sofralık üzümdür (Kong 2004). Sofralık üzüm aroması, tüketicinin tercihini belirleyen önemli bir kalite karakteridir (Ji ve ark., 2019).

Kültüre alınan ve yabani asma türlerinde büyük bir genetik çeşitlilik ve bu çeşitlilikten yararlanarak yeni lezzet kombinasyonları oluşturma potansiyeli vardır (Wang ve Luca, 2005; Di Gaspero ve Cattonaro, 2010; Myles, 2013). Asma ıslahında *V. vinifera* ve diğer asma türleri arasındaki melezleme girişimleri, çevresel ve biyotik sınırlamaların üstesinden gelmek, şaraplık, sofralık ve kurutmalık çeşitlerde kimyasal bitki koruma ilaçları kullanımını azaltmak ve olumsuz algılanan lezzetleri gidermek için kullanılmıştır (Sun ve ark., 2011b; Liu ve ark., 2015; Yang ve ark., 2016).

Asma, 7000 yılı aşkın süredir birçok ortamda ve birçok farklı bağcılık uygulamalarına göre yetiştirilen çok yıllık bir bitkidir. Sofralık tüketiminin yanı sıra şarap dahil çeşitli ürünlere işlenen dünya çapında önemli bir üründür. Diğer kültür bitkileri gibi, iklim değişikliği veya egzotik zararlıların ortaya çıkmasıyla bağlantılı değişen biyotik ve abiyotik streslerle karşı karşıyadır. Üzüm ve şarap endüstrileri ayrıca, çevresel etkileri azaltmak (örneğin fitokimyasal işlemleri azaltarak) ve ürün güvenliğini iyileştirmek (örneğin, ürünlerdeki kimyasal kalıntıları azaltmak) için toplumsal taleplerle başa çıkmak ve aynı zamanda uygun maliyetli ve sürdürülebilir üretimi sürdürmek zorundadır. Bu nedenle, bağcılık ve önoloji için en büyük zorluklar, değişken ortamlarda hasattaki son tane kompozisyonunu kontrol etmek ve pestisit, su ve diğer girdilerin kullanımını sınırlarken verim ve kaliteyi sürdürmektir (Adam-Blondon ve ark., 2016).

Kültüre alınmasından itibaren asma ıslahı melezleme ve somatik mutasyonların seçimiyle ilerlemiş ve bu sayede *Vitis vinifera* L.'nin 5000-10000 adet kültür çeşidi varlığına ulaşılmıştır. Antik üzüm çeşitlerinin açık tozlaşmalarla oluştuğu kanıtlanmıştır. *Vitis* türlerinde ilk yapay melezlemeler, doğu ABD'de on dokuzuncu yüzyılın başlarında gerçekleştirilmiş, çoğu zaman seçilen tek ebeveyn ana bitkidir. On dokuzuncu yüzyılın sonlarından itibaren, Avrupa'ya yayılan filoksera ve patojenlere dirençli anaçlar dahil olmak üzere çeşitler oluşturmak için *Vitis* türleri arasında binlerce melezlemeler yapılmıştır. *V. vinifera*'da, belgelenen ilk melezler (hem baba hem de ana ebeveyn bitkileri seçerek), kırmızı şarapların rengini güçlendirmek amacıyla 1828'de Güney Fransa'da L. Bouschet de Bernard tarafından melezlenenler olduğu kabul edilmektedir. Bundan sonra, birkaç özel üzüm ıslahçısı, erken olgunlaşma, tane boyutu, verim, misket aroması veya dayanıklılık gibi tarımsal ilginin farklı özelliklerini geliştirmek için melezleme çalışmaları yapmıştır. Bu melezlemelerden elde edilen çeşitler modern çeşitler olarak adlandırılmıştır. İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra, ıslah programlarının çoğu, daha derin bir genetik bilgiye dayalı melezleme tasarımları

kullanılarak, kamu tarımsal enstitüleri tarafından yürütülmüştür. Hermafroditizm, kendi kendine verimli ve kolay melezlenebilme, yüksek heterozigotluğa bağlı olarak, kendine tozlandığında genellikle kendileme depresyonundan etkilenme *V. vinifera* kültür formlarında baskın görünmüştür (Lacombe ve ark., 2013).

Farklı *Vitis* L. türlerinin melezlerinden elde edilen asma anaçlarının kök sistemleri, toplam kök biyokütlesi ve kök boyutu bakımından farklı toprak profillerinde değişkendir. Kök sistemi gelişimi sadece genotipe değil, aynı zamanda iklimsel ve biyotik faktörler gibi çevresel faktörlere de bağlıdır. Toprak işleme yöntemleri, sulama, malçlama gibi bağda yapılan kültürel uygulamalar kök penetrasyonu ve dağılımını etkiler. Yüksek dikim yoğunluğu asma başına kök kütlesini azaltır, ancak kök yoğunluğunu artırır. Anaç ve anaç-kalem genetik potansiyelleri, kök sisteminin yayılmasını belirler. *Vitis* türlerinin köklerinin toprağa nüfuz etme açısı ve derinliği de farklıdır, *Vitis rupestris* kökleri *Vitis riparia*'dan daha dik bir açıyla toprağa girdiği ve daha derinlere nüfuz ettiği kabul edilmektedir. 200'den fazla toprak profili incelenmesinde, toprak geçirgenliği, yapısı ve tekstürünün, kök sisteminin genişlemesi üzerinde genotipten daha büyük bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Asma kök gelişimi, özellikle aşırı toprak koşullarında ve ekonomik olarak başarılı uygulanabilir bağ yönetimi için önemli bir faktördür (Kocsis ve ark., 2014).

Kuzey Amerika *Vitis* türlerinden elde edilen asma anaçları, biyotik ve abiyotik stresi kontrol etmek için dünya çapında kullanılmaktadır. Yaklaşık 160 yıl öncesine kadar bağıcılık kendi kökleri üzerinde dikimlerle sürdürülmüştür. Tarihsel kayıtlar, bağıcılık kültürünün ticaret yollarını takip ettiğini ve on altıncı yüzyılda Amerika'ya ulaştığını göstermektedir. Kuzey Amerika asma türlerinin zararlılara ve hastalıklara direnme yeteneği, getirdikleri *V. vinifera* L. çeşitlerinin gelişemediği, ABD'nin doğu kıyısındaki ilk gelenler tarafından getirilmiştir. Erken ıslah çabalarında, Amerikan haşerelerine ve hastalıklarına dirençli melezler geliştirmek için yerele uyum sağlamış asma türleri kullanılmıştır. Ortaya çıkan melezler daha sonra Fransa ve diğer Avrupa ülkelerine taşınmıştır. Bitki materyalinin kıtalar arasındaki hareketi, külleme ve mildiyönün ve asma kök biti filokseranın (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) Avrupa'ya girmesine neden olmuştur. Filokseraya duyarlı *V. vinifera* çeşitlerinin köklerinden beslenerek zarar vererek ikincil enfeksiyonlara yol açması sonucu Avrupa bağlarının yaygın şekilde tahrip olmasına neden olmuştur. 1800'lerin sonlarında filoksere salgınının şiddeti, şarap üreten birçok Avrupa ülkesinde hükümet destekli araştırma programlarının geliştirilmesine yol açmıştır. Önde gelen bir Missouri eyaleti

entomoloğu Charles V. Riley tarafından yapılan araştırma, filokseranın temel biyolojisini oluşturmuş ve Fransa'nın güneyindeki Laliman ve Bazille filoksera salgınına durdurmak için dayanıklı bitkilerin anaç olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Daha sonra Fransız bilim adamı Viala ABD'ye gitmiş ve iki Amerikalı bağcıya [Munson (Texas) ve Jaeger (Missouri)] anaç geliştirmek için uygun, filokseraya dirençli bitki materyali kaynaklarını bulmak için danışmıştır. Bu bitki materyalleriyle, birçok Kuzey Amerika *Vitis* türünün anaç olarak kullanımlarına dayanan ve hibrit serilerin türetildiği birçok kamu ve özel anaç ıslah programını başlatmıştır. Halihazırda üzüm üretiminde kullanılan anaçların tamamına yakını filoksera istilasına karşı geliştirilmiştir ve çoğu 100 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır. Ancak ilk anaçlar *V. riparia* Michx ve *V. vinifera* L. ile iyi aşı kabul eden ve odunsu çeliklerden kolayca köklenen iki Kuzey Amerika türü olan *V. rupestris* Scheele'in saf formlarıdır. En eski saf tür seçimlerinden ikisi *V. riparia* cv. Gloire de Montpellier (sinonimi Portalis) ve *V. rupestris* cv. du Lot (syn. Saint George) doğrudan anaç olarak ve daha sonra Fransız ıslahçılar tarafından hibrit anaç geliştirmek için kullanılmıştır. Üçüncü bir tür, *V. berlandieri* Planchon (syn. *V. cinerea* var. Helleri (Bailey) M.O. Moore), kalkerli Avrupa topraklarına uygun, kirece dayanıklı anaçların ıslahında kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu tür köklenmesi ve aşı başarısı zayıftır, bu da etkili anaçlar üretmek için *V. riparia*, *V. rupestris* veya *V. vinifera* ile melezlenmesini gerektirmiştir (Riaz ve ark., 2019).

Bağcılıkta hedeflenen ıslah faaliyetleri, ağırlıklı olarak Kuzey Amerika'da, on dokuzuncu yüzyılın başlarında başlamıştır. Sömürgeciler, alıştıkları tatlı *V. vinifera* asmalarını yetiştirememişler, şiddetli don hasarının yanı sıra filoksera gibi zararlılar veya külleme gibi mantar hastalıkları bağları yok etmiştir. Öte yandan, kolayca yetiştirilebilen sağlam yerli Amerikan üzümleri, sevmedikleri güçlü aromalı şaraplar üretmiştir. 1822'de Harvard Üniversitesi'nden araştırmacılar, Avrupa asmaları arasında melezleme yapmayı önermişler ve yerli Amerikan üzümlerinin dayanım ve direncini *V. vinifera* üzümlerinin hoş aromasıyla birleştirmek istemişlerdir. Sonraki on yıllar boyunca, William W. Valk, Nicholas Herbemont, Hermann Jaeger veya Thomas Munson, Ada, Herbemont, Brighton veya Diamond gibi yeni ıslah edilen başarılı çeşitler geliştirilmiştir. Bu dönemde geliştirilen çeşitler Amerikan melezleri olarak özetlenir. Avrupa'da, 19. yüzyılın ikinci yarısında filoksera ve Kuzey Amerika'dan gelen küflerin ortaya çıkmasından sonra dayanıklılık ıslahı başlatılmıştır. Ağırlıklı olarak Fransa'da, filoksera yüzbinlerce hektarlık bağ alanını yok etmiş ve birçok özel Fransız üreticiyi kendi ıslah programlarını başlatmaya teşvik etmiştir. Gaillard, Bertille

Seyve, Seibel, Couderc, Kuhlmann, Baco, Seyve Villard, Landot gibi ıslahçılar ve diğerleri, filoksera ve küflere karşı direnci birleştirmek ve aynı zamanda yüksek kalite üretmek amacıyla binlerce yeni çeşit üretmiştir. Bunlar ve diğer ıslahçılar, doğrudan üreticileri hedef almışlar, ancak bu çeşitlerin çoğu başarısız olmuştur. Geriye dönüp bakıldığında, dayanıklılık özellikleri dışındaki diğer bağcılık özellikleri için yetersiz uygunluk testlerinin yeni çeşitlerin genel performansında başarısızlığa neden olduğu özetlenebilir. Seçilmiş asmaların şarap kalitesi için tam olarak kontrol edilmemiş olması başarısızlığın başlıca nedenlerinden biri olmuştur. Kamu algısında direnç, düşük şarap kalitesiyle ilişkilendirilmiştir. Bugün bile bu pozisyon bazı zihinlerde hala yaşamaktadır. Bu çeşitlerin sınırlı itibarı ve 1885'te bakır ve kükürdün mantar öldürücü özelliklerinin keşfi, sonunda Fransa'daki özel ıslah faaliyetlerinden tamamen vazgeçilmesine yol açmıştır. Bununla birlikte, bu ıslahçıların tarihsel değeri, bir dereceye kadar, direnç ve kalitenin bir kombinasyonu oldukça değerli bir genetik kaynak yaratmıştır. Bu çeşitler sözde Fransız melezleri olarak özetlenmiş ve o zamandan beri yirminci yüzyılın ikinci yarısında daha ileri ıslah faaliyetleri için yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Eibach ve Töpfer, 2015).

Islahçılar bitki performansını veya eşeysel verimliliği iyileştirmek için poliploidizasyonu artırmakla ilgilenmişlerdir (Dewitte ve ark., 2010; Parisi, 2013). Poliploidler, otopoliploidler ve allopoliploidler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Otopoliploid, tek türden türetilen homolog kromozom setlerine sahip bir poliploid olarak tanımlanabilirken, allopoliploid, genetik olarak çeşitlilik gösteren iki veya daha fazla kromozom setine sahip, genellikle farklı türlerden elde edilen kromozomlarla yakından ilişkilidir (Burešová, 2017).

Genel olarak, poliploidler ya birden fazla kromozom setine sahip olan ve nadir mayotik bozukluklar sırasında oluşan indirgenmemiş gametlerin (eşeysel poliploidizasyon) birleşmesiyle ya da zigotik, embriyotik veya meristematik dokuda ortaya çıkabilen somatik genom katlanmasıyla (somatik poliploidizasyon) olmak üzere iki ana yolla kendiliğinden ortaya çıkabilir. Bitkilerde, indirgenmemiş gametlerin birleşmesi yoluyla oluşum, somatik duplikasyondan daha sık gözlenmiştir. Poliploid genotipler ayrıca doğal veya sentetik bileşikler (kolhisin, orizalin, trifluralin, azot protoksit, SA, EMS) kullanılarak yapay olarak indüklenebilir. Etkileri büyük oranda mutagene, uygulanan doza, muamele süresine ve bitki materyalinin tipine göre değişebilir (Burešová, 2017; Kara ve ark., 2021; Kara ve Yazar, 2022).

Bu çalışmada Ekşi Kara ve Gök Üzüm yöresel üzüm çeşitleri ile 41B ve Fercal asma anaçlarının çimlendirilmiş tohumlarına Sodyum Azid (SA %0, %0.01, %0.05, %0.1, %0.2 dozları 2 ve 4 saat) ve Etil Metansülfonat (EMS %0, %0.01, %0.02, %0.5, 6 ve 10 saat) kimyasal mutagen uygulamalarının sitogenetik etkileri makroskobik (Sunar ve Özüdoğru, 2009), mikroskobik (Yuan ve ark., 2009) ve FC (Kanev ve Muranlı, 2016) ve analog kromozom sayımı (Dolezel ve ark., 2007; Dhooghe ve ark., 2011b) yöntemleri ile incelenmiştir. Mutagen uygulamaları sonrasında sağ kalan genotiplerin farklılıkları erken gelişme dönemlerindeki anatomik farklılıkları makroskobik yöntemlerle tespit edilmiş ve mutant olma ihtimali üzerinde durulan materyalde ploidinin doğrulanması için FC analizi yapılmış ve vegetatif çoğaltımla üretilen kök ucundan kromozom sayımı yapılarak ploidi doğrulanmıştır. Poliploid olarak seçilen genotip 5BB asma anacı üzerine aşılanarak gen havuzu oluşturulması ve devamındaki genetik materyal olarak değerlendirme süreci planlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Asma Islahı Çalışmaları

Asma, dünyanın en değerli bahçe bitkisidir. Dünyanın ~8 milyon hektarlık bağından elde edilen ürün çoğunlukla işlenerek şaraba dönüştürülür, ancak bazıları sofralık üzüm olarak taze tüketilir, kuru üzüm için kurutulur, alkolsüz meyve suyuna dönüştürülür ve damıtılarak alkollü içeceklere dönüştürülür. Arkeolojik kayıtlara göre üzümün kültüre alınması, *Vitis vinifera* subsp. *vinifera*, 6000-8000 yıl önce Yakın Doğu'da yabani atası *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*'ten başlamıştır. Bugün kullanılan binlerce üzüm çeşidi, o zamandan beri vejetatif çoğaltma ve melezlemelerle üretilmiştir. Şaraplık ve sofralık üzüm üretiminde, şiddetli patojen baskılarıyla mücadele etmek için günümüzde yoğun kimyasal uygulamalar yapılmaktadır. Bununla birlikte, hastalığa karşı bu yatkınlık, genetik çeşitlilik eksikliğine bağlanamaz. *Vinifera*, insanlardan daha büyük bir genetik çeşitlilik düzeyi barındırır ve on milyonlarca yıl öncesine dayanan polimorfizmiyle çeşitlilik açısından mısırla karşılaştırılabilir (Myles ve ark., 2011)

Üzüm çeşitlerinde olgunlaşma sürecinin doğru zamanlaması hem sofralık hem de şaraplık üzümün ticari değerini etkileyen kritik bir faktördür. Meyve olgunlaşmasının düzenlenmesi, meyvecilik araştırmalarında her zaman temel konulardan biri olmuştur. Çok yıllık büyüme alışkanlıkları nedeniyle meyve türlerinde mutantların üretimi model bitki türlerinde olduğu kadar kolay değildir. Meyvelerin erken olgunlaşması ile ilgili bilgilerimiz daha çok domatesten gelmektedir. Kyoho'nun tomurcuk mutanı Fengzao, Kyoho'dan yaklaşık bir ay önce olgunlaşırken, Zana'nın tomurcuk mutanı olan 90-1, ana çeşidinden yaklaşık 15 gün önce olgunlaşır. Daha önceki çalışmalarda Kyoho ve Fengzao arasındaki fizyolojik ve moleküler farklılıklar araştırılmıştır. Erken olgunlaşan üzüm mutantları üzerinde genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik seviyelerde çalışmalar yapılmıştır. Bununla birlikte, meyve olgunlaşması, birçok fonksiyonel genin seçici ifadesi ile düzenlenen karmaşık ve hassas bir süreçtir ve olgunlaşmanın moleküler mekanizmasını anlamak için daha fazla araştırma gerekmektedir (Pei ve ark., 2021).

Diğer birçok meyve türünde olduğu gibi asma da aşılama, daldırma ve sürgün çeliklerinin dikilmesi gibi vejetatif çoğaltma teknikleriyle seçilmiş çeşitlerin genetik klonları oluşturularak korunur. Vejetatif çoğaltma sayesinde üreticiler, istenen lezzet profiline sahip üzümü tutarlı bir şekilde üretebilir ve nispeten sınırlı bir çabayla, çeşitleri yeni üzüm bağlarına ve uzak bölgelere yayabilir. Tohumla çoğaltma alternatif

yaklaşımı güvenilirmezdir çünkü asma genomları oldukça heterozigottur ve tohumdan yetiştirilen bireyler kalite, verim, fenotip ve fenoloji açısından oldukça çeşitlidir. Ayrıca, meyve kalitesi ve verimini değerlendirmek için üreticilerin asmaların verim çağına erişmesi için 3 ila 5 yıl arasında beklemeleri gerekir. Böylece yüksek kaliteli asmaların klonal soyları modern bağcılıkta vazgeçilmez hale gelmiştir (Ramos-Madriral ve ark., 2019).

Bouquet (2011)'nın bildirdiğine göre, asma, başta şarap ve alkollü içki üretimi olmak üzere taze meyve, kuru üzüm, meyve suları, reçeller vb için ılıman iklimlerden tropik iklimlere kadar tüm dünyada yetiştirilmektedir. Geçtiğimiz on yıllarda, yenilikçi bağcılık yönetimi teknolojileri geliştirilirken, yetiştirilen çeşitlerin sayısı büyük ölçüde azalmıştır. Bağcılık geçen yüzyılda yetersiz bir şekilde teşvik edilmiştir. Bu, fitokimyasalların kullanımını azaltma ve çevresel değişikliklere uyum sağlama ihtiyacıyla başa çıkmak ve ayrıca yeni geliştirilen genomik araçlar sayesinde şu anda değişen bir yönelimdir. Bağcılığın kökeni ve Akdeniz havzasına yayılması, şarap yapımının gelişmesiyle ilişkilendirilir ve mitler ve din ile bağlantılıdır. Asma, Eurosids I'nin temel bir dalı olan Vitaceae ailesinin bir parçasıdır. Genomlarının, yakın zamanda *Vitis vinifera* genom dizilimi yapıldıktan sonra doğrulanan bir poliploid kökenli olduğundan şüpheleniliyordu. *V. vinifera*'nın kültüre alınmasını yerel çevrelere uyum sağlamış genetik olarak ilişkili çeşit gruplarının gelişimi takip etmiş ve yüzyıllar boyunca somatik varyasyonlar da seçilip korunmuştur. Filoksera ve çeşitli mantar hastalıklarının Avrupa'da yayılmasından bu yana, bu zararlılara ve patojenlere karşı dirençli olan *Vitis* cinsinin diğer türleri, genetik iyileştirme için kullanılmaktadır. Asma ıslahı önemli zorluklar içermektedir. Biyolojik döngü, diğer birçok odunsu çok yıllık meyve türlerinde olduğu gibi uzundur. Yetiştirilen üzümler kendi kendine verimli çiçekler verse de tohumdan doğrudan çoğaltılmazlar. Yabani hallerinde, yüksek düzeyde heterozigotluğu koruyan katı bir allogamiyle sonuçlanan iki evcikli yabancı tozlanıcılardır. Kültüre alma iki evcikten hermafroditizme geçen asmaların çiçek biyolojisinde radikal bir değişiklik ile sonuçlanmıştır. Mükemmel çiçeklerin morfolojisi tercihi kendi kendine tozlanmaya yol açtığından, açık tozlanan döllerdeki bitkilerin seçimine muhtemelen iyi gelişmeyle uyumlu bir heterozigotluk düzeyini koruyan bilinçsiz bir seçim eşlik etmiştir. Asmalarda, kültürel öneme sahip çok az özellik basitçe kalıtsaldır. Çoğu, küçük etkiye sahip çok sayıda gen tarafından kontrol edilir. Yüzyıllar boyunca en etkili genetik yapıların devam ettirilmesi vejetatif çoğaltma ile yapılmıştır. Asma çeşitleri bu nedenle son derece karmaşık gen kombinasyonlarını

temsil eder ve şarapları, yüksek düzeyde tüketici kabulüne sahip olan ve Avrupa ülkelerinde gelenek veya yasalarla sağlam bir şekilde yerleşik hale gelen benzersiz özelliklere sahiptir.

Eibach ve Töpfer (2015)'e göre, bitki ıslah faaliyetleri temel olarak üç aşamaya ayrılabilir: (1) genetik varyasyonun oluşturulması, (2) seçim ve (3) seçimler için test aşaması. Tüm bu aşamalar, asma ıslahındaki önemli darboğazları giderir. Yeterli genetik varyasyon, başarılı ıslah perspektifi için bir ön koşuldur. Asma için bu talebin karşılanması, yeterli popülasyon büyüklüğü gerektirir. Ancak başarılı fideler veren çok sayıda tohumla başarılı melezlemeler oluşturmak genellikle sınırlıdır. Bu birkaç nedenden kaynaklanmaktadır. En önemli sebeplerden biri, küçük ve minik çiçekleri nedeniyle çok yavaş olan kastrasyon sürecinin kendisidir. Başarılı kastre etmenin mümkün olduğu sınırlı zaman çerçevesinde yalnızca sınırlı miktarda kastrasyon gerçekleştirilebilir. Dişi ebeveynlerin kullanımı bu sorun azaltılabilir. Ancak çok sık olarak dişi ebeveynler ıslah hedeflerine uymaz ve bu nedenle ebeveyn olarak kullanılmazlar. Sonuçta, geçiş popülasyonlarındaki genetik değişkenlik, sınırlı sayıda birey nedeniyle genellikle sınırlıdır. Diğer önemli tarımsal ürünlerle yapılan bitki yetiştirme programları tipik olarak önemli ölçüde daha büyük popülasyon boyutlarına ulaşır. Asmanın çok yıllık bir ürün olması gerçeği, asma ıslahındaki ilerlemeyi de engellemektedir. Bu özellikle seçim aşaması ve test aşaması sırasında ifade edilir. Birçok önemli özelliğin değerlendirilmesi, tipik olarak dikimden sonraki üçüncü yıla kadar elde edilemeyen asma verim dönemine girmesini gerektirir. Bu çok zaman alıcıdır, çünkü bu zaman kaybı her ıslah adımını ve her yeni test denemesinin kurulmasını takip eder. Bu, yeni bir çeşidin piyasaya sürülme süresinin diğer önemli tarımsal ürünlere kıyasla iki katına çıkmasının ana nedenlerinden biridir. Ayrıca, bireysel asmalar büyümek için çok fazla alana ihtiyaç duyar ve bunların yetiştirilmesi son derece emek yoğunudur. Bu, önemli miktarda kaynak gerektirir ve mevcut kaynaklar genellikle ıslah faaliyetleri için net sınırlar gösterir.

Poni ve ark. (2018)'na göre sofralık üzümün kalitesi, içsel (yani görsel, mekanik, kimyasal vb) ve dışsal (yani fiyat, menşe ülke, çeşit, üretim yöntemi vb) özellikleri içerir. Tüketicinin içsel niteliklere ilişkin algısı 'kabul edilebilirlik' olarak tanımlanabilir. Farklı ülkelerdeki pazarlama zinciri ve tüketicileri arasında kalite algısı değişeceğinden duyusal değerlendirme seçilmiş çeşitlerde, tüketici tercihini ve memnuniyetini ölçmek için geçerlidir.

Fontaine ve ark. (2016)'na göre asma gövde hastalıkları, son otuz yıldır asmanın en yıkıcı hastalıkları olarak kabul edilmekte olup tüm şarap üreten ülkelerde hızla artan bir endişe kaynağıdır. Ölen asmaların değiştirilmesinin dünya çapındaki ekonomik maliyetinin kabaca yılda 1.5 milyar doları aştığı tahmin edilmektedir. Asma gövde hastalıkları, şarapçılık mirasının sürdürülebilirliği için çok zararlıdır, çünkü bu hastalıklara neden olan patojenler, çok yıllık organlara saldırarak asmaların kısa veya uzun vadede ölümüne neden olmaktadır. Esca, Eutypa ve Botryosphaeria dieback bu hastalıklarının önde gelenleridir. Verim çağındaki bağlar etkilendiği gibi, yeni dikilenler de etkilenebilir. Petri hastalığı veya Kara ayak hastalığı gibi diğerleri (*Campylocarpon*, *Cylindrocladiella*, *Dactylonectria*, *Ilyonectria* ve *Neonectria* spp.) genç bağları etkileyen başlıca hastalıklardır, verimlerini ve ömürlerini azaltarak endüstride önemli ekonomik kayıplara neden olur.

Küresel ısınmanın doğal ekosistemlerin çevresel koşulları ve insan faaliyetleri üzerindeki etkileri, tarım da dahil olmak üzere kapsamlı bir şekilde tanımlanmıştır. Birkaç bağ bölgesi için asma fenolojisinde son on yılda bir değişiklik rapor edilmiştir. Sıcaklıklardaki artışın devam etmesi muhtemeldir ve şu anda asma dikmek için çok soğuk olan bölgelerde gelecekte bağcılık mümkün olabilecektir, mevcut bağ bölgeleri ise bu değişikliklere uyum sağlamak zorunda kalacaktır. İklim değişikliğinin şarap üretimi üzerindeki etkisi, muhtemelen üretilen şarabın türüne ve coğrafi konuma göre değişecek ve kıyı bölgelerinde daha hafif etkiler beklenmektedir (Duchêne ve ark., 2010)

Bağcılık yüksek ekonomik değere sahiptir. Geleneksel asma çeşitleri (*V. vinifera* L.), Kuzey Avrupa'daki yetiştirme alanlarından Güney Avrupa'ya kadar olan iklim koşullarına adaptasyonda kullanılmaktadır. Ancak, küresel ısınmanın son eğilimi, bitki gelişiminin yılın erken zamanlarına kayması nedeniyle kalite sorunlarına neden olmaktadır. Olgunlaşmanın yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmesi şeker, asit, aroma profilleri ve meyve renk bileşenlerine müdahale eder. Modern asma ıslahı, sürdürülebilir bağcılık için çok uygun yeni çeşitlerin geliştirilmesine önemli bir özellik olarak (patojen direnci ve diğer özelliklerin yanı sıra) olgunlaşma sürecine de müdahale etmeye zorlamaktadır (Zyprian ve ark., 2018).

(Xie ve ark., 2015b)'na göre Muscadin (*Muscadinia rotundifolia*) üzümü, Avrupa'da yetiştirilen üzüm *Vitis vinifera*'ya saldıran en zararlı hastalık ve zararlıların çoğuna karşı oldukça dirençlidir. Muscadin üzümü, külleme ve mildiyö, bağ filokserası ve kök ur ve hançer nematodlarına dayanıklıdır. Bu dikkate değer dayanıklılık grubu,

M. rotundifolia'nın direncini *V. vinifera*'nın mükemmel meyve kalitesiyle birleştirmeye çalışan asma ıslahçıları için büyük ilgi görmüştür (Patel ve Olmo, 1955; Xu ve ark., 2010). Ancak *M. rotundifolia* ($2n = 2 \times = 40$) ve *Vitis* türleri ($2n = 2 \times = 38$) arasındaki kromozom sayısı farkı, ıslah programlarında kullanılmak üzere verimli melezlerin üretilmesinin önünde büyük bir engel oluşturmaktadır (Patel ve Olmo, 1957). Bildiğimiz kadarıyla *V. vinifera* $\times$ *M. rotundifolia* arasında sadece bir düzine verimli melez üretilmiş, *M. rotundifolia* ile asma anacı türleri arasında ise hiç verimli melez üretilmemiştir. Bu doğurganlık sorununun üstesinden gelmenin olası bir yolu, Tetraploit bitkiler üretmek için etkili bir yöntemle hızlandırılabilen mevcut kısır F1 hibritlerinin kromozom sayısını çoğaltmak olabilir. *M. rotundifolia* $\times$ asma anaç türünden fertil bireyler, daha sonra, arzu edilen özellikleri birleştirmek için genellikle birden fazla melezleme gerektiren anaç ıslah programlarında kullanılabilir. Tetraploit bitkiler, 1930'lardan beri *in vivo* koşullarda antimitotik ajanlar kullanılarak üretilmektedir (Stebbins, 1971; Zlesak ve ark., 2005). Bununla birlikte, poliploid bitkilerin düşük üretim verimliliği ve yüksek kimera sıklığı genellikle bu yöntemlerle ilişkilendirilir. 1966'da (Murashige ve Nakano, 1966), tütünde ilk *in vitro* poliploidizasyon deneyini rapor etmişler ve *in vitro* kültürlerin, *in vivo* koşullardan daha kontrollü ve standartlaştırılmış bir ortam sunduğunu belirlemişlerdir.

Genetik transformasyon yoluyla ıslah, arzu edilen özellikleri değiştirmeden çeşitlerdeki tek özellikleri ekleme veya değiştirme imkânı sunar. Asmada bu teknoloji, bu türün ekonomik önemi dikkate alındığında nadiren kullanılmaktadır. Şimdiye kadar, genetik transformasyon yoluyla asmanın ıslahı, esas olarak mantarlara ve virüslere karşı biyotik stres direncine odaklanmıştır. Sınırlı başarı raporlarını açıklayabilen faktörler arasında, transgenik bitkilerin yenilenmesindeki zorluk, yalnızca birkaç karakterize edilmiş genin mevcudiyeti ve/veya özelliğin niceliksel karakteri yer alır. Asma genlerinin ve promotorlarının işlevi ve düzenlenmesi ve gen düzenleme teknolojilerine ilişkin artan bilginin bir sonucu olarak, bitki ıslahı için güçlü bir araç olan transformasyonun kullanımının önümüzdeki yıllarda asmada artması beklenmektedir (Saporta ve ark., 2016).

Liang ve ark. (2011) tarafından bir tetraploit $\times$ diploit sofralık üzümün melez popülasyonunda olgun tanelerin şeker ve organik asit içeriklerinin kalıtsal modeli art arda iki yılda incelenmiştir. Popülasyon diploitler, triploitler ve tetraploitler olmak üzere üç farklı ploidi seviyesi için ayrıştırılmıştır. Tetraploit soydaki şeker içeriği, diploit soydakine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Elde edilen bitki

popülasyonunda üç ploidi seviyesinin tamamında şeker içeriği için transgresif (sınırı aşmış, istenilenin dışında) ayrışma gözlenmiştir. Glikoz, fruktoz ve toplam şeker içeriğindeki geniş anlamda kalıtımsallıkları (H₂) 0.68 ile 0.79 arasında değişmiştir. Tetraploit soyu en yüksek H₂'ye sahipken, bunu diploit ve triploit soy takip etmiştir. Ploidi seviyesi arttıkça şeker içerikleri artmıştır. Bütün şeker içerikleri birbirleriyle oldukça yüksek ve pozitif olarak ilişkili bulunmuştur. Diploit bitki popülasyonundaki malik asit, poliploid bitki popülasyonlarındakinden anlamlı derecede daha yüksek ve triploit bitkilerde tartarik asit, diploit ve Tetraploit bitkilerinkinden anlamlı derecede yüksek belirlenmiştir. Organik asitlerin H₂'si 0.71 ile 0.91 arasında değişmiştir, Tetraploitler en yüksek ortalama H₂'ye sahip bulunmuştur. Şeker içeriğinin aksine, ploidi seviyesi arttıkça toplam asit içeriği azalmıştır. Çeşitli asitlerin içerikleri arasında da pozitif korelasyonlar gözlenmiş, ancak korelasyon katsayısı tartarik asit ve malik asit arasında düşük ve tartarik asit ile toplam asitler arasında orta düzeyde bulunmuştur. Triploit ve tetraploit nesillerde hem şekerler hem de asitler için diploit soydan daha büyük bir çeşitlilik gözlenmiştir.

(Xie ve ark., 2015b) tarafından asma anaçlarında tetraploitlerinin *in vitro* teşviki için bir protokol 101-14 Millardet et de Grasset (*Vitis riparia* × *V. rupestris*) (101-14 Mgt) (2n = 2x = 38) × *Muscadinia rotundifolia* cv. Trayshed (2n = 2x = 40) melezlerinde oluşturulmuştur. Farklı eksplant materyalleri üç konsantrasyonda antimitotik kimyasal ajanlar olan kolhisin ve orizaline 24, 48 ve 72 saat boyunca maruz bırakılmıştır. Muamele edilen *in vitro* sürgün uçları, anterler ve ön embriyojenik kültürler yeniden rejenere edilmiş ve ploidi seviyeleri kromozom sayımı ve FC analiziyle doğrulanmıştır. Kromozom sayımları ve FC iş gücü yoğun ve zordur, oysa stoma hücrelerinin boyutları ve kloroplastların sayısı kolayca ölçülebildiğinden stabil ve güvenilir işaretler olabilir. Stomanın analizi, yenilenmiş diploit ve tetraploit bitkiler arasında belirgin farklar ortaya koymuş ve bu ölçümler ön çalışma olarak kullanılmış, bunu takiben kromozom sayıları ve doğrulama için FC kullanılmıştır. Sonuçta, anaç ıslah programlarında kullanılması için tetraploit, potansiyel olarak verimli *Vitis* × *Muscadinia* hibritlerinin elde edilmesi için kolay ve etkili bir yöntem sunduğu bildirilmiştir.

Azuma ve ark. (2011)'nin bildirdiğine göre, tane kabuk rengi, üzümdeki en önemli meyve özelliklerinden biridir ve melezleme ve insan seçiminden dolayı oldukça çeşitlenmiştir. Avrupa türlerinde üzüm renginin genetik kontrolü (*Vitis vinifera* L.), özellikle MYB ile ilişkili genlerin rolü hakkında birçok çalışma bildirilmiştir. Diğer

yandan, *V. labrusca*'nın *V. vinifera* ile melezlemesinden kaynaklanan bir üzüm grubu olan *V. × labruscana* L.H. Bailey'ye ait üzümlerde MYB ile ilişkili genlerin az sayıda çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada, diploit *V. × labruscana*'da HapE2 (VlMYBA2 ve VlMYBA1–3 genlerinden oluşan) yeni bir fonksiyonel haplotip elde etmişlerdir. Ayrıca, tetraploit üzümlerinin haplotip kompozisyonlarını kantitatif gerçek-zaman PCR ile belirlemek için bir yöntem geliştirilmiş ve haplotip kompozisyon ile kabuk rengi arasındaki ilişki incelenmiştir. *V. × labruscana* üzümlerindeki renk lokusu genellikle fonksiyonel haploitlerden (HapE1 ve / veya HapE2) ve fonksiyonel olmayan haploit HapA'dan oluşur. Genomdaki fonksiyonel haplotip sayısının, kabuktaki o antosiyanin seviyesi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. HapE2 içeren üzümlerin antosiyanin içerikleri HapE1 içerenlere göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, renk lokusundaki fonksiyonel haplotiplerin sayısının ve türünün, kabuk rengi varyasyonunu belirleyen ana genetik faktörler olduğunu göstermektedir. Bu bulgular *V. × labruscana* üzümlerinde rengin eşsiz genetik kontrolü hakkında yeni bilgiler sağlar ve istenen renk ve antosiyanin içeriğine sahip yeni çeşitlerin gelişimine katkıda bulunacağı bildirilmiştir.

Dünya çapındaki üzüm endüstrisinde, Avrupa türü *Vitis vinifera* L. şarap, kuru üzüm ve taze sofralık üzüm üretiminde kullanılan baskın üzümdür. Bununla birlikte, bugün biliyoruz ki, Amerika Birleşik Devletleri'nde *V. vinifera* üretiminde erken kolonistlerin başarısızlıkları, en kuzeydeki bölgelerde yerel hastalıklara, toprak zararlılarına ve düşük kış sıcaklıklarına karşı direnç eksikliğinden kaynaklanmıştır (Janick ve Moore, 1975). Bu zorlukların üstesinden gelmek için, on dokuzuncu yüzyılın ilk yarısında yabani Amerikan yerli asma türlerinden melezler veya seçimler yapılmıştır. Bundan sonra birçok ıslahçı, *V. vinifera* ile Amerikan yerli türleri arasında hibridizasyon yoluyla türü iyileştirmeye çalışmıştır (Snyder, 1937). En çok kullanılan yerli tür tilki üzümüdür (*V. labrusca* L.). *V. × labruscana* L.H. Bailey, *V. labrusca*'nın diğer türlerle, en yaygın olarak *V. vinifera* ile melezlenmesinden kaynaklanan bir üzüm alt grubudur. Bu çabaların sonucunda 1.500'den fazla *V. × labruscana* melezi geliştirilmiştir (Hedrick, 1925; Snyder, 1937; Hedrick, 2021). Ayrıca, 'Kyoho' ve 'Pione' gibi birçok *V. × labruscana* ile ilgili tetraploit asma, iri tane üretmek için geliştirilmiş ve şu anda Japonya'da ve diğer Asya bölgelerinde popüler üzümlerdir. Böylece dünya üzüm pazarında *V. vinifera* kadar *V. × labruscana* üzümleri de önemli bir rol oynamaktadır (Azuma ve ark., 2011).

Hancock (2008)'a göre, birçok üretim bölgesinde bağlar çoğunlukla aşılı olarak tesis edildiğinden son 125 yılda hem asma kalemleri hem de asma anaçlarında önemli ıslah çalışmaları yapılmıştır. Asma anacı ıslahının dünya bağıcılığının büyümesindeki önemi azımsanamaz. Asma anaçlarının ıslahında, öncelikle kök bölgesi zararlısı olan filokseraya karşı direnç için birçok *Vitis* türü kullanılmıştır. Tarihsel olarak, üzüm anacı ıslahı ayrıca toprak kaynaklı ek patojenlere ve toprak ve iklim koşullarına daha geniş uyum sağlayan bir dizi anaç geliştirmeye odaklanılmıştır.

Creasy ve Creasy (2018)'ye göre, asmalar vegetatif olarak çoğaltılır ve bu nedenle ıslahta kullanılan yaklaşım, her iki ebeveyninden arzu edilen özellik kümelerini birleştiren tek elit genotipleri seçmeyi amaçlar. Potansiyeli olan bir fide seçildikten sonra, tekrarlanan testler için diğer üzüm bağlarına ve diğer yerlere çoğaltılır. Islahçılar genellikle, her nesilde tamamlayıcı özelliklere sahip seçkin ebeveynlerin yeni nesil fideler üretmek için melezlendiği değiştirilmiş bir soyağacı ıslah şeması kullanır. Tekrarlayan seleksiyon ve değiştirilmiş geriye melezleme de kullanılmaktadır. Üzümler oldukça heterozigot olduğundan ve yeni çeşitler arasında heterozigotluğun korunması arzu edildiğinden, ikinci teknik kullanıldığında, tekrarlayan ebeveyn her nesilde değişir. Örneğin, *V. rotundifolia*'dan külleme direnci için Run1 alelinin introgresyonu için, ilk olarak *V. rotundifolia* ve bir *V. vinifera* şaraplık üzüm ebeveyni arasında bir melezleme yapılmıştır. Bu melezden dirençli bir fide daha sonra farklı bir *V. vinifera* şaraplık üzüme geri melezlenmiş ve aynısı gelecek nesilde üçüncü bir *V. vinifera* şaraplık üzüm çeşidiyle yapılmış ve her seferinde geriye melezleme için dayanıklı bir fide seçilmiştir.

Bessho ve ark. (1999)'na göre, triploit çeşitlerin çekirdeksizlik ve erken olgunlaşma gibi çeşitli avantajları vardır. Tetraploit ve diploit çeşitler arasındaki melezlemelerden elde edilirler. Bu tür melezlemelerden elde edilen düşük triploit tohum verimine rağmen, birkaç triploit çeşit geliştirilmiştir. 'Summer Black' çekirdeksiz, çekici, koyu mor siyah bir üzüm çeşididir. 'Kyoho' × 'Thompson Seedless' melezlenmesinden türetilen bir triploittir. 'Summer Black', 'Kyoho'dan 7 ila 12 gün önce, ağustos başında olgunlaşır. GA3 uygulamaları ile tane ağırlığı 5.1 ila 7.6 g'a ulaşır. Şırasındaki kuru madde %18.2 ila %23.5 °Brix arasında değişir ve 100 ml meyve suyu başına 0.39 ila 0.76 g titre edilebilir asitlik içerir. Tadı hoştur ve saptan ayrılması kolaydır. 'Kai Mirei' çekirdeksiz, çekici, sarı yeşil bir üzüm çeşididir (Ando, 1998). Bu, 'Red Globe' × 'Koshu Sanjyaku' melezlenmesinden türetilen bir triploittir. 'Kai Mirei', 'Neo Muscat'tan 2 hafta önce Yamanashi'de ağustos ortasında olgunlaşır. GA3 uygulamaları ile tane ağırlığı 3.9 ila 5.4 g'a ulaşır. Şırasındaki kuru madde %18.0 ila

%21.3 °Brix arasında değişir ve titre edilebilir asitlik 100 g meyve başına 0.36 ila 0.98 g'dır. Lezzet hafif gevrekli. Meyvelerin çatlaması az olup asma üzerinde bekleyebilir.

Kuliev (2011)'e göre, asmalarda deneysel poliploidi, olumsuz çevresel faktörlere karşı büyüme gücü ve toleransta bir artışı teşvik eden ve aynı zamanda bazı önemli özelliklerde iyileşmeyle sonuçlanan fonksiyonel değişikliklere yol açar.

Poliploid ıslahı, uzun bir büyüme döngüsü, çok sayıda kromozom, yumurta ve polenlerin kısmi kısırılığı ve düşük tohum çimlenme oranları nedeniyle özelliklerin ve bunların genetik davranışlarının değerlendirilmesinde benzersiz zorluklar sunar (Johnson ve Carroll, 1973). Poliploid asmalarda şekerlerin ve organik asitlerin kalıtımı hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Yapılan çalışmada, bir tetraploid 9 diploid segregasyon popülasyonunda şeker ve organik asit içeriklerinin varyasyon modelleri ve kalıtları incelenmiştir (Liang ve ark., 2011).

2.2. Poliploidi Çalışmaları

Bir hücrede ikiden fazla eksiksiz genoma sahip olma koşulu, neredeyse bir asırdır biyologların ilgisini çekmiştir. Birçok bitki türü poliploittir ve bunun evrim ve türün iyileştirilmesinde önemli bir rolü vardır. Birçok ökaryot grubunda iyi tolere edilir. Poliploid atalar, bir dizi çiçekli bitkiye yol açmıştır. Yaygın olarak görülmesine rağmen, poliploidinin bir türün evrimsel başarısı üzerindeki doğrudan etkisi hala büyük ölçüde bilinmemektedir. Kopyalanmış bir genomun artan içeriğine işlevsellik atamak için birçok çekici hipotez önerilmiştir. Bu hipotezler arasında, genom ikiye katlamanın, poliploidlere, diploid progenitörlerine meydan okuyan ortamlarda iyi gelişmelerine izin veren çeşitli avantajlar sağladığı önerileri yer alır. Poliploidiye genellikle gelişmiş çeşitlerin oluşumu, steril hatların geliştirilmesi, hibritlerde doğurganlığın geri kazanılması, genişleme ve canlılığın artması, allelik çeşitliliğin ve heterozigotluğun artmasıdır (Dar ve ark., 2017).

Poliploidinin hem yabani hem de kültür bitkilerinin evriminde önemli bir güçtür. Poliploid organizmalar genellikle artan büyüme gücü sergilerler ve bazı durumlarda diploid akrabalarından çeşitli yönlerden daha iyi performans gösterirler. Poliploidlerin bu dikkate değer üstünlüğü, son yüzyılda poliploidiyi indükleyen ve/veya doğal poliploidleri giderek daha iyi bitki çeşitleri elde etmek için birçok şekilde kullanan birçok bitki ıslahçısının hedefi olmuştur. Bitki ıslahı için poliploidinin en önemli sonuçlarından bazıları, bitki organlarındaki artış ('gigas' etkisi), zararlı mutasyonların

tamponlanması, artan heterozigotluk ve heterozdur (melez azmanlığı). Poliploit çeşitler daha yüksek verim düzeyleri ve daha üstün ürün kalitesi sağlamış hem biyotik hem de abiyotik streslere karşı tolerans artmıştır. Bazı durumlarda, iki tür arasında melezleme mümkün olmadığında, poliploitler gen aktarımı için bir köprü olarak kullanılabilir. Ek olarak, poliploidi, çekirdeksiz çeşitlerin üretimine izin vererek, genellikle mayotik hatalar nedeniyle doğurganlığın azalmasına neden olur. Öte yandan, yeni oluşturulmuş kısır bir melezde ikiye katlanan genom, doğurganlığının geri kazanılmasına izin verir (Sattler ve ark., 2016).

Poliploitler, kökenlerine göre otopoliploitler ve allopoliploitler olarak sınıflandırılabilir (Stebbins, 1950). Otopoliploitler, iki (veya daha fazla) homolog kromozom çifti ile sonuçlanan bir diploit türün kromozom sayısının ikiye katlanmasından kaynaklanır. Allopoliploidi, farklılaşan türler arasındaki hibridizasyon ve müteakip poliploidizasyondan sonra elde edilir. Böylece iki farklı genomu birleştirir (Thomas, 1993).

Sentetik poliploitler, son on yılda ıslah için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bununla birlikte, bu tür genotiplerin tarımsal düzeyde kullanımı hala sınırlıdır. Poliploidizasyonun belli bitki fenotiplerini değiştirdiği ve temel özelliklerin çoğuna görünüşte dokunulmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, poliploidi ıslahı, ürün çeşitlerinin kalite, verim veya çevreye uyum gibi belirli özelliklerini geliştirmek için çok yararlı olabilir. Bununla birlikte, poliploidi kaynaklı yeniliğin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Ploidiye bağlı fenotipler, dikkate alınması gereken bazı istenmeyen etkileri de içerebilir. Aşılı veya karma ürünler söz konusu olduğunda, hem anacın toprak koşullarına uyum sağlaması hem de kalemin mükemmel verim ve kalitesi ile fayda sağlanabilir. Bu nedenle, aşılı türler yapay poliploididen yararlanmak için olağanüstü bir fırsat sağlar, çünkü etkiler bağımsız olarak uygulanabilir ve kök ve/veya kalem seviyesinde oluşabilir, bu da başarılı kombinasyonlar bulma şansını artırır (Ruiz ve ark., 2020).

Triploit bitkiler daha büyük organlara, daha büyük biyokütle ve nispeten daha büyük miktarlarda fotosentetik enerjiyi koruyarak güçlü stres direncine sahiptirler. Yerli olmayan istilacı türlerin bahçe bitkilerinin doğal alanlarına istenmeyen yayılımı da triploitlerin kullanımıyla azaltılabilir veya ortadan kaldırılabilir, çünkü bunlar steril ve tohumuz olma eğilimindedir. Triploit bitkiler büyük ekonomik değere sahiptir ve yeni tarımsal, bahçecilik ve ormancılık alanlarında bitki türlerinin geliştirilmesinde faydalı olmuştur. Genomik araştırmalardaki yeni trendlerden biri, triploit oluşumundan hemen

sonra ortaya çıkan ilk genomik tepkilerin incelenmesi için materyal olarak sentetik triploit bitkiler geliştirmektedir (Wang ve ark., 2016).

Poliploidizasyon, birçok bitki türünün evriminde önemli bir süreçtir. Ek bir kromozom seti, intraspesifik genom duplikasyonundan (otopoliploidi) veya ıraksak genomları ve kromozom ikiye katlamasından (allopoliploidi) melezlenerek elde edilebilir. Özel poliploidi biçimleri, otoallopoliploidi ve segmental allopoliploididir. Poliploidi iki temel süreçten kaynaklanır: kendiliğinden meydana gelen mayotik bölünme bozuklukları ve antimitotik ajanların mitozun bozulmasıyla indüklenenler. Birincisi, indirgenmemiş gametlerin indüksiyonunu ve füzyonunu içerir, bu da triploitlerin ve tetraploitlerin oluşumuyla sonuçlanır. İkinci işlem, hücresel mikrotübülleri bozan ve anafaz sırasında kromozomun kardeş kromatitlerinin hareketini engelleyen antimitotikleri kullanır. Kolhisin, orizalin ve trifluralin, bitkilerde poliploidiyi uyarmak için en yaygın kullanılan antimitotiklerdir. Antimitotiklerin maruz kalma süresi ve konsantrasyonuyla tür, çeşit, genotip ve doku tipine bağlı genom katlanma etkinliğini etkiler. Poliploitler, artan hücre boyutu ve bitkilerin vejetatif kısımları ve ikincil metabolitlerin artan içeriğiyle diploitlerden ayrılır. Genom duplikasyonu, epigenetik seviyede çeşitli değişiklikler meydana getirir ve bu da değiştirilmiş gen ifadesine neden olur. Poliploidizasyon, bitki ıslahında türler arası hibritlerin yaşayamama ve kısırlığının üstesinden gelme, çekirdeksiz poliploid çeşitler elde etme ve biyotik ve abiyotik faktörlere karşı direnci/toleransı artırma için kullanılır (Trojak-Goluch ve ark., 2021).

Poliploidi, bitkilerin çeşitlendirmesi ve türleşmede önemli bir rol oynar. Bitkilerin ploidi seviyesi, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerle ilişkilidir ve modifikasyonu, farklı tıbbi bitkilerde ikincil metabolit üretiminin nicel ve nitel modellerini değiştirmek için bir strateji olarak kullanılmıştır. Poliploidizasyon, aralarında kolhisin, orizalin ve trifluralinin en yaygın olduğu birçok anti-mitotik ajan tarafından indüklenebilir. İndüksiyon sürecine dahil olan diğer değişkenler arasında kültür ortamı, eksplant tipleri ve maruz kalma süreleri yer alır. Poliploidizasyonun bitki büyümesi ve gelişmesi üzerindeki etkilerinden dolayı, bitki ıslahında hedef bileşiklerin üretimlerini artırmak ve morfolojik özellikleri iyileştirmek için kromozom ikiye katlama uygulanmıştır (Madani ve ark., 2021).

Asma, dünya çapında popüler bir kültür bitkisidir ve sıcak stresi, bağcılık için en ciddi tehditlerden biridir. Bununla birlikte, fotosentez ve absisik asit (ABA) biyosentezinin moleküler özellikleri, asmanın ısı stresine metabolizması ve sinyal iletim

yolu gibi transkripsiyonel tepkiler hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bir çalışmada, termostabilize asma 'Kyoho' yaprakları için RNA-seq gerçekleştirilmiştir. 685 ve 469 genlerinin genellikle aşağı regüle edildiğini ve üç örnekleme zamanında yukarı regüle edildiğini gösterilmiştir. Fotosentezin ışığa bağımlı reaksiyonları, 1 hpt'de yukarı regüle edilmiş DEG'lerde ve R24 hpt'de aşağı regüle edilmiş DEG'lerde önemli ölçüde zenginleşme belirlenmiştir. Isı stresi, asma yapraklarının fotosentetik kapasitesini bozmuştur. Isı stresi ile stoma iletkenliği arasında önemli bir pozitif ilişki belirlenmiş ancak, H₂S'nin Pn üzerinde inhibisyonu, daha uzun bir süre için stoma dışı sınırlama olarak tanımlanmıştır. Photosystem (PS)II, ısı stresine PSI'dan daha duyarlı bulunmuş ve PsbP'nin yanı sıra Psb28, ısı stresine tepkide önemli roller oynamıştır. Isı stresi uygulanan Kyoho asmalarındaki ABA içeriği, 1 hpt'de kontroldekinden daha yüksek ancak, 4 ve R24 hpt'de ısı stresi uygulanmış bitkilerde daha düşük bulunmuş ve bu durum, ABA biyosentezinde yer alan çok sayıda gen ve katabolizma yolları tarafından düzenlenmiştir. Veriler ısı stresinin fotosentez ve ABA biyosentezi, metabolizma ve sinyal iletim yolu üzerindeki etkisini anlamaya katkı sağlayacağı bildirilmiştir (Guo ve ark., 2022).

Poliploidi, biyotik ve abiyotik streslere karşı bitki adaptasyonunda önemli bir rol oynar. Somatik embriyogenez (SE) yoluyla rejenere edilen asma bitkilerinde ploidi değişiklikleri, mahsullerin agronomik özelliklerinin iyileştirilmesi için faydalı bir genetik değişkenlik kaynağı sağlayabilir. Asmada SE indüksiyon işlemi, DNA profilinde değişiklik olmaksızın ploidi değişikliklerine neden olabilir. Bir çalışmada, büyüme düzenleyicileri β -naftoksiasetik asit (10 μ M) ve N6-benzilaminopurin (4.4 μ M) ile takviye edilmiş ortamda rejenere edilen 'Frappato' üzüm çeşidi somatik embriyolarının %9.3'ünden tetraploit bitkiler üretilmiştir. DNA profillerinde saptanabilir değişiklikler olmadan SE yoluyla rejenere edilen ototetraploit bitkiler, poliploidizasyonun etkisini analiz etmek için tarla koşullarında transfer edilmiştir. Farklı ploidi seviyeleri, sürgünlerde ve olgun yapraklarda çeşitli anatomik ve morfolojik değişikliklere neden olmuş, stomalarda da değişiklikler gözlenmiştir. Tetraploit yaprakların stomalarının uzunluğu ve genişliği diploitlerden sırasıyla %39.9 ve %18.6 daha yüksek bulunmuştur. Stoma bekçi hücre çifti başına kloroplast sayısı tetraploit yapraklardan daha yüksek (%5.2) bulunmuştur. Tetraploit yapraklarda stoma yoğunluğu önemli ölçüde (%12) azalmıştır. Morfolojik değişikliklerin, değişen çevre koşulları için asma çeşitlerinin ıslahında yararlı olabileceği bildirilmiştir (Catalano ve ark., 2021).

Asma tapetumuna ilişkin bilgi, anatomi/morfolojisine odaklanmış ve mikrosporogenez boyunca mitotik aktivitesi hakkında neredeyse hiçbir şey bilinmemektedir. Bir çalışmada, bazı asmaların (*Vitis* L.) tapetal hücrelerindeki mitotik aktivite incelenmiştir. Farklı mayotik aşamalarındaki 12 üzüm çeşidinin genç tomurcukları ezilmiş ve tapetum hücreleri, her mayotik aşamada bir prometafaz/metafaz puanlanmıştır. Mitotik aktivite, daha yoğun olduğu mikrosporogenezin başlangıcından itibaren gözlenmiş ve tetrata doğru azalmıştır. Poliploid tapetum hücreleri, mikrosporogenez ilerlerken endomitoz yoluyla ortaya çıkmıştır. İki veya daha fazla bireyselleştirilmiş diploit kromozom grubuna sahip olanlar ve yalnızca bir poliploid grubuna sahip olanlar olmak üzere iki tip poliploid hücre belirlenmiştir. Diploit hücrelerin ve iki veya daha fazla bireyselleştirilmiş diploit gruba sahip poliploid hücrelerin yüzdesi, mikrosporogenezin ilk aşaması sırasında daha yüksek bulunmuş, ancak mikrosporogenez tetrada doğru ilerledikçe azalmış ve yerini bir büyük poliploid grubu olan hücelere bıraktığı gözlenmiştir. Çekirdekçik sayısı interfazda farklı aşamalarda puanlanmıştır. İki ve dört nükleol, bir büyük nükleolusun görüldüğü tetrad hariç tüm aşamalarda tapetal hücrelerde baskındır. Sonuçta, uygulanan ezme tekniğinin asma tapetumunun tatmin edici bir kromozom çoğalmasına sahip, önemli miktarda mitotik aktivitede hücre içermesi nedeniyle daha sonraki sitomoleküler çalışmalar için ilginç bir alternatif ve umut verici bir doku oluşturduğu bildirilmiştir (Neiva ve Moura, 2021).

Dhooghe ve ark. (2011b)'nın bildirdiğine göre, birkaç antimitotik ajan *in vitro* kromozom katlamasını teşvik eder. En yaygın kullanılanlar kolhisin, orizalin ve trifluralindir. *In vitro* teşvik edilen kromozom katlama işlemi, bir teşvik fazı ve başarı oranını ölçmek için bir onay protokolü dahil olmak üzere tipik bir alt süreç diziliminden oluşur. Teşvik adımı çok sayıda değişkenliğe bağlıdır: ortam, antimitotik ajanlar, eksplant tipleri, maruz kalma süreleri ve konsantrasyonları. FC, teşvik edilen poliploidizasyonun değerlendirilmesinde önde gelen yöntemlerdendir. Bununla birlikte, kromozom sayıları ve morfolojik gözlemler gibi alternatif doğrulama yöntemleri de kullanılır. Poliploidizasyonun bitkinin büyümesi ve gelişmesinde birçok sonucu olduğu için, kromozom katlama yıllar içinde yoğun bir şekilde çalışılmış ve bitki ıslahında çeşitli uygulamalara yol açmıştır.

Sarikhani ve Wakana (2006b)'ya göre, melezleme yapılmadan Tetraploit üzümlerden hiper- ve hipo-tetraploit formların ($2n=4x \pm 1$ veya $4x \pm 2$) doğrudan indüksiyonu, büyüme güçlerini ve diğer karakterlerini büyük ölçüde kaybetmeden

çekirdekli çeşitlerde çekirdeksizlik oluşturmak için yararlı olabilir. İndüksiyon için, Tetraploit 'Kyoho', 4x 'Rozaki'nin kültürlenmiş sürgün uçlarından çoğalan eksplantlar ve 'Kyoho' × '4x Rizamoto' melezlenmesinden elde edilen melezler, çeşitli konsantrasyonlarda para-fluorofenilalanin ile takviye edilmiş MS ortamında 30 ve 60 gün boyunca işleme tabi tutulmuş (PFP; 25–150 mg L⁻¹) ve PFP içermeyen köklendirme ortamında yaklaşık üç ay boyunca alt kültürlenmiştir. Kontroldekiler dahil 348 eksplanttan 233'ü hayatta kalmış, hayatta kalan eksplantlardan 208 tetraploit (2n=4x=76), 76'lı ve 76'dan az kromozomlu hücrelerden oluşan altı miksoptoid ve iki anöptoid bitki (2n=72 ve 69) kök uçlarındaki kromozom gözlemi ile teşhis edilmiştir. PFP dozunun artmasıyla, hayatta kalan eksplantların ve büyüme göstermeyen eksplantların oranları artmıştır. 30 ve 60 gün boyunca 75-150 mg L⁻¹ PFP uygulanması, tetraploit eksplantlardaki birkaç kromozomun ortadan kaldırılmasında etkili olmuştur. Sonuçta, *in vitro* PFP uygulanan tetraploit çeşitlerden hiper- ve hipo-tetraploitlerin somaklonal indüksiyon olasılığı belirlenmiştir.

Chang ve ark. (2010) tarafından, Victoria üzüm çeşidinin doku kültüründe yetiştirilen fidelerinin boğum çeliklerine sulu bir kolhisin (%0.05 veya %0.1) 24 veya 48 saat uygulanarak kromozom katlama etkinliği incelenmiştir. En iyi katlanma, üçüncü ve dördüncü tomurcukların %0.05 kolhisinde 48 saat veya %0.1 kolhisinde 24 saat beletilmesiyle elde edilmiştir. Birinci nesilde hücrelerin ikiye katlanma oranları sırasıyla %33 ve %31 olarak belirlenmiştir. Poliploid hücre yüzdesi, kimeraların alt kültürü ile yaklaşık %10 artmış, poliploid hücre yüzdesi, kimeraların dört ila altı nesil boyunca alt kültürlenmesiyle %75.8-%96.6'ya ulaşmıştır.

2.3. Mutasyon ve Mutagenite

Wessler (2006)'in bildirdiğine göre, mutasyon, mutagenler tarafından indüklenen canlı bir hücrenin genetik materyalinde ani bir kalıtsal değişikliktir. Bununla birlikte, doğada mutagenlere maruz kalmadan mutasyonlar meydana gelebilir ve bu tür mutasyonların kendiliğinden (doğal) olduğu kabul edilir. Transpozonlar, genom içinde herhangi bir konuma göç edebilen ve gen(ler)in ekspresyonunu değiştirebilen ve nihayetinde daha geniş bir spontan mutasyon, özellikle delesyon ve insersiyonlara yol açabilen hareketli genetik elementlerdir.

Kidwell (2005)'e göre retro transpozonlar önce RNA'ya, daha sonra ters transkriptaz ile tekrar DNA'ya kopyalanır ve daha sonra 'kopyala ve yapıştır'

yöntemiyle genoma taşınırken, DNA transpozonları bir transpozaz enzimi kullanılarak doğrudan ‘kes ve yapıştır’ tarzında hareket eder, farklı spontan mutasyonların indüklenmesini sağlar.

Ranel (1989)'e göre, kendiliğinden mutasyonların sıklığı çok düşüktür ve evrime ayak uydurmak için yeterli değildir. DNA'daki spontane değişiklikler DNA'da sabitlenebilir veya sabitlenmeyebilir. Bu tür mutasyonlar sabitlense bile, spontan mutasyonların çoğu çekinik olduğundan belirgin olmayabilirler

Bhat ve ark. (2007)'na göre spontan mutasyonlar şansa bağlıdır ve spontan mutasyon ıslah programlarının hızı çok yavaştır. Ekonomik olarak önemli spontan mutantlar için seçimin hala gerçekleştiğini, ancak çok az başarı sağlanmıştır. Hedeflenen mutagenез, belirli bir zamanda ve yerde özellikle istenen bir mutasyonun amaçlı indüksiyonunun sağlandığı, çok arzu edilen bir seçenektir.

Başlangıçta, esas olarak mutasyon ıslahı fiziksel mutagenlere dayanmıştır. Ancak, mutagenik potansiyele sahip kimyasalların keşfiyle mutasyon ıslahında bilgi düzeyi sürekli artmıştır. Auerbach ve Robson (1942), kimyasal mutagenlerin ayrıntılı bir açıklamasını sağlayan ilk kişilerdir. Hardal gazının meyve sineklerinde mutasyonlara ve kromozomal kırılmalara neden olabileceğini bildirmişlerdir. O zamandan beri diğerlerinin yanı sıra bu kimyasallardan bazıları, örneğin, EMS, MMS, etilen imin (EI), dietil sülfat (dES), N-nitroso-N-metilüre (NMU), N-nitroso-N -etilüre (NEU), SA ve hidrazin hidratın (HZ), fiziksel mutagenler seviyesinde mutagenik etkinliğe sahip olduğu rapor edilmiştir (Sander ve Muehlbauer, 1977). Kimyasal mutagenlerin kullanımı kolay, hazır bulunur, daha ucuzdur, maliyet etkindir, daha verimlidir ve fiziksel mutagenlere göre daha fazla özgüllüğe sahiptir (Kharkwal, 1998; Gulfishan ve ark., 2011; Jafri ve ark., 2011; Gulfishan ve ark., 2012; Gulfishan ve ark., 2013; Hassan ve ark., 2018). Bununla birlikte, kimyasal mutagenler güçlü kanserojenler olarak davranırlar ve bu nedenle mutagenik uygulamanın tüm adımlarında uygun korunma gereklidir. Ekinliklerde mutagenез üzerine yapılan araştırmalar, kromozom kırılmalarına neden olan iyonlaştırıcı radyasyonlara kıyasla, genetik bileşenler üzerindeki daha hafif etkileri nedeniyle kimyasal mutagenlerin iyonlaştırıcı radyasyonlardan daha avantajlı olduğunu ortaya koymuştur. Son derece artan sayıda kimyasal mutagenlerin kültür bitkileri iyileştirme programlarında uygulanabilirlik kazanmıştır. Şimdiye kadar, kimyasal mutagenler, 390'dan fazla mutant çeşidin geliştirilmesi ve resmi salımı için başarılı olmuştur. Kimyasal mutagenезden yararlanarak, gen yapısı ve işlevi, mutagen ve mutasyonun etki şekli, mutasyonun

kökünü ve bunların dölde sabitlenmesi hakkında bilgi veren ‘mikrogenetik’ terimini kavramsallaştırarak kayda değer bir katkı sağlamıştır (Rapoport, 1966).

Mutagenler, yetmiş yıldan fazla bir süredir bitkilerde genetik değişkenliği indüklemek için kullanılmakta olup dünya genelinde 60 ülkede yaklaşık 3275 mutant çeşit geliştirilmiştir. Global ölçekte milyonlarca hektar tarım arazisi, daha yüksek verimli veya hastalıklara daha fazla dirençli mutant çeşitlere ayrılmıştır. Mutant çeşitlerin yaklaşık %90'ı mutagen olarak radyasyon kullanılarak üretilmiştir. Kültür bitkileri iyileştirme programları için mutasyon ıslahında, istenen mutasyonların frekans ve spektrumunu elde etmek için uygun bir mutagen seçimi gereklidir. Kültür bitkilerde elit mutantlar geliştirmek için çeşitli kimyasal mutagenler kullanılmıştır (Ganai ve ark., 2005; Khursheed ve ark., 2015). Son zamanlarda, iyonik radyasyon ve kozmik ışınlar gibi yeni fiziksel mutagenlerin mutasyonları indüklemeye etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, birkaç aracı, EMS, SA ve maleik hidrazid (MH) tarafından yapay mutasyon indüksiyonunun bitkilerde, özellikle dar genetik değişkenliğe sahip kendi kendine tozlaşan bitkilerde genetik değişkenliğin artırılmasında önemli bir rol oynamıştır (Jafri ve ark., 2011; Gulfishan ve ark., 2013; Khursheed ve ark., 2018a). Mutagen seçimi, işlem süresi, pH, işlem öncesi ve sonrası ve sıcaklık gibi çeşitli faktörlerin tümü mutagenlerin etkisini belirler. Uygun bir mutagen dozunun seçimi, mutasyon ıslahının başarısını belirler (Mensah ve Obadoni, 2007; Gulfishan ve ark., 2012). Genel olarak, daha yüksek bir mutagen dozunun daha büyük biyolojik hasara neden olduğu ve daha az etkili olduğu, daha düşük bir dozun daha az biyolojik hasara neden olduğu ve daha fazla etkinliğe sahip olduğu bildirilmektedir. Mutagen uygulama süresi, mutagen dozu, pH, sıcaklık ve işlenecek bitki materyali gibi çeşitli faktörlerin tümü, bir mutagenin etkinliğini ve verimliliğini etkileyebilir (Gulfishan ve ark., 2010; Laskar ve ark., 2015). Tek tek ve/veya kombinasyon halinde kullanılan çeşitli fiziksel ve kimyasal mutagenler, DNA kırılmalarını indüklemek, DNA bazlarını değiştirmek ve çift sarmal yapıyı deforme etmek için çeşitli şekillerde hareket ettiğinden, çeşitli tahıllar, baklagiller ve süs bitkilerinde tarımsal-ekonomik özellikleri geliştirmek için tek ve kombine halde kullanılmıştır. Buğdayda, UV ve X-ışınlarının kombinasyon uygulaması ile doza bağlı etkiler gözlenmiştir. 1959'da Swaminathan ve Natarajan, düşük doz X-ışınlarındaki mutasyonların sıklığının, UV ile önceden muamele edilmiş tohumlarda daha yüksek X-ışınları dozlarına kıyasla daha düşük mutasyon sıklığıyla sonuçlandığını bildirmiştir. Benzer şekilde, buğdayda EMS ve hidroksilaminin (HA) kombine uygulamalarının etkileri incelenmiştir. EMS'nin klorofil ve canlı mutasyonları

indüklemeye HA'ya göre daha etkili bir mutagen olduğu, ancak EMS uygulamasından sonra HA verildiğinde mutasyon sıklığının önemli ölçüde azaldığı ve böylece HA'nın mutasyon onarım süreçlerinde hayati bir rol oynadığı ortaya konmuştur (Chopra ve Swaminathan, 1966).

Mutasyon ıslahı teknikleri, binlerce gelişmiş kültür bitki çeşidini geliştirip resmi olarak serbest bırakarak kültür bitkilerinin iyileştirilmesine büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Mutasyon ıslahında γ ışınları, X-ışınları ve hızlı nötronlar gibi çeşitli fiziksel mutagenler ve EMS, MMS, hidrazin hidratlar ve SA gibi kimyasal mutagenler kullanılmıştır. Normal genetik ayırma sürecinden kaynaklanmayan bir organizmanın genetik yapısındaki ani kalıtsal değişikliğe mutasyon denir. Mutasyonlar, dünyada canlı organizmalardaki nihai varyasyonun kaynağıdır. Yüksek bitkilerdeki mutasyonların bilgisi 1590 kadar erken bir tarihe kadar uzanır, ancak mutasyonların kültür bitkilerin iyileştirilmesi için uygulanmasının yalnızca seksen yıllık bir geçmişi vardır. Doğal mutasyonlar kendiliğinden meydana gelir, ancak sıklığı çok düşüktür ve bitki ıslahçıları için erişilemez. Düşük frekans, bitki genomlarında yeni ve kalıtsal varyasyonlar getirebilen ajanların kullanımı yoluyla yapay mutasyonun uyarılmasını gerektirir. İndüklenen mutasyonların tipine bağlı olarak, mutagenler birkaç sınıfa ayrılır, yani büyük kromozomal kırılmaları (soyları) indükleyen fiziksel mutagenler, nokta gen mutasyonlarına neden olduğu bilinen kimyasal mutagenler ve böylece genlerin fonksiyonel elemanlarını bozabilen biyolojik ajanlar, geniş bir mutasyon yelpazesine neden olur. Mutagenlerin kullanımı, dünya çapında iki yüz elliden fazla bitki türünde gelişmiş karakterlere sahip birkaç bin mutant çeşitle sonuçlanmıştır. Bununla birlikte, maksimum mutant çeşit sayısı, fiziksel mutagenler ve ardından kimyasal ve biyolojik ajanlar tarafından indüklenmiştir. Bu bölüm, bitki genomlarında yeni ve kalıtsal varyasyonlar getirebilen ajanların kullanımı yoluyla mutagenlerin sınıflandırılması, mutagenik etki şekli, farklı mutagenlerin karakteristik özellikleri hakkında kısaca bilgi sağlar. İndüklenen mutasyonların tipine bağlı olarak, mutagenler birkaç sınıfa ayrılır, yani büyük kromozomal kırılmaları indükleyen fiziksel mutagenler, nokta gen mutasyonlarına neden olduğu bilinen kimyasal mutagenler ve böylece genlerin fonksiyonel elemanlarını bozabilen biyolojik ajanlar geniş bir mutasyon yelpazesine neden olur. Mutagenlerin kullanımı, dünya çapında iki yüz elliden fazla bitki türünde gelişmiş karakterlere sahip birkaç bin mutant çeşitle sonuçlanmıştır. Bununla birlikte, maksimum mutant çeşit sayısı, fiziksel mutagenler ve ardından kimyasal ve biyolojik ajanlar tarafından indüklenmiştir (Action ve ark., 2021).

Mutagenler, EMS, MMS, SA gibi kimyasal bileşikler veya genomda kalıtsal değişikliklere neden olan γ -ışınları, ultraviyole ışık, X-ışınları gibi radyasyonlardır. Mutasyonlar, hücresel düzeltme mekanizmaları tarafından tespit edilmediğinde, onarım makineleri tehlikeye girdiğinde veya onarım mekanizmaları ağır hasar altında ezildiğinde meydana gelir. Hücresel replikasyon sayesinde bu mutasyonlar sonraki nesillerde sabitlenir. Mutasyonun etkinliğini belirleyen birkaç faktör vardır ve bunlar arasında hedef gen, mutasyon tipi, mutagen dozu, hedef organizmanın duyarlılığı ve önceden var olan mutasyonların bileşik etkileri yer alır (Bhat ve ark., 2005; Khursheed ve ark., 2018b). Bu nedenle, DNA'nın ifade edilmemiş bölgesindeki bir mutasyonun hiçbir etkisi olmaz (sessiz mutasyon), oysa aktif olarak kopyalanan bölgedeki bir mutasyon gen ekspresyonunu etkileyebilir ve hatta hücre ölümüne (ölümcül mutasyon) yol açabilir. DNA'nın fosfodiester bağlarının parçalanması, sürekli serbest radikal üretimi ve DNA replikatif enzimlerinin yanlış kopyalanması, spontan mutasyonların ana kaynaklarıdır. Bununla birlikte, spontan mutasyonun sıklığı son derece düşüktür ve istenen ıslah amaçlarına ulaşmak için yeterli değildir. Bu nedenle, mutasyon oranını artırmak için farklı bitki parçalarını uyarmak için farklı türde fiziksel ve kimyasal mutagenler kullanılır (Action ve ark., 2021).

Mutasyon, doğada vazgeçilmez bir evrimsel güç olarak hareket eden bir organizmanın genomik yapısında kalıtsal bir değişikliğin aniden meydana gelmesidir. Uyarılmış mutagenez, iyileştirilmiş özelliklere sahip kültür bitki çeşitlerinin yaratılmasında hayati (önemli) bir rol oynar. Kendiliğinden mutasyon, replikasyon hataları, totomerik kaymalar, bir organizmanın belirli radyasyon ve kimyasallara maruz kalması nedeniyle meydana gelir, ancak bu mutasyonların sıklığı çok düşüktür ve bu nedenle mevcut durumun taleplerini karşılamak için yetersizdir. Bu düşük spontan mutasyon sıklığı, mutasyon sıklığını artırmak için yapay mutagenik ajanların kullanılmasını gerektirir. Mutasyon ıslahı, kültür bitkileri türlerinin tüm genetik yapısını değiştirmeden bir veya iki özelliği geliştirmede kilit bir rol oynamıştır (Action ve ark., 2021).

Kültür bitkilerini iyileştirmeye ek olarak, uyarılmış mutasyonlar, çeşitli gelişim süreçlerini düzenleyen genlerin doğasını ve işlevini incelemek için tutarlı araçlardır (Adamu ve Aliyu, 2007). Mutasyon ıslahının en büyük avantajı, kültür bitkilerinin tüm genetik yapısını etkilemeden sadece bir veya iki özelliği geliştirme kapsamına sahip olmasıdır (Khan ve ark., 2009; Gulfishan ve ark., 2011; Shu ve ark., 2012). Ekonomik açıdan önemli birçok çeşit, mutasyon ıslahı yoluyla geliştirilmiş ve serbest bırakılmıştır

(Ahloowalia ve ark., 2004; Parveen ve ark., 2006; Khan ve ark., 2009; Raina ve ark., 2018). Kültür bitkilerinin genetik iyileştirmesinde, uyarılmış mutasyonlar umut verici sonuçlar göstermiş olup tamamlayıcı bir yaklaşım olarak hizmet etmek için büyük bir potansiyel sunmaktadır (Mehandjiev ve ark., 2001; Gulfishan ve ark., 2015). Son birkaç on yılda dünya çapında geliştirilen çok sayıda mutant çeşit vardır, bunlar tarımsal sistem ve gıda üretiminde hayati ( nemli) bir rol oynamaktadır (Action ve ark., 2021).

Sadece mutagen ve dozun değil, aynı zamanda mutagenik uygulamaya maruz kalan çeşidin de uygun seçimi, mutasyon ıslah programlarında başarı elde etmenin anahtarındır. Mutagenез yoluyla iyileştirme için çeşitli çevresel koşullara iyi uyum sağlamış en az iki çeşit d ş n lmelidir. Bir mutagenin etkinliği çeşitten çeşide farklılık gösterdiğinden karşılaştırmalı analize olanak sağlayacak ve ayrıca  onerilen çeşitler en iyi uyum sağlamış özelliklere sahip olduğundan bir veya iki spesifik özelliği geliştirmek faydalı olacaktır. Bir kimyasal mutagenin etkinliği ve verimliliği esas olarak (i) konsantrasyona (ii) işlem süresine ve (iii) işlem sırasındaki sıcaklığa bağlıdır (Yadav ve ark., 2007). Değiştirici faktörler şunlardır: (i)  n ıslatma, (ii)   zeltinin pH'sı, (iii) metalik iyonlar, (iv) taşıyıcı maddeler, (v) tohumların uygulamadan sonra yıkanması, (vi) kurutma ve (vii) işlenmiş tohumların depolanmasıdır. Ek olarak, kimyasal mutagenik uygulamalar, çok toksik olabilen artık mutagenin uygun şekilde atılmasını gerektirir (Yadav ve ark., 2007). Aksine, fiziksel mutagenlerle muamele, (i) tohumların hazırlanması ve (ii) mutagen muamelesi olmak üzere iki aşamalı bir işlemdir (Action ve ark., 2021).

Mutasyon, türlerin evrimi için bir ön koşuldur. İnsanlık, kültüre alma ve kültür bitkilerini iyileştirme süreçlerinde türlerin (bitkiler veya hayvanlar)  zelliklerinin çeşitliliğinden yararlanmıştır. Mutasyon ıslahı, insan ilęisinin herhangi bir niteliğini geliştirmek için kültür bitkilerine kasıtlı olarak mutasyonların deneme sürecidir. Mutasyon ıslahının amacı, maksimum genomik varyasyona neden olmak, bitkilerin agronomik ve besinsel kalite özelliklerini artırırken canlılıklarını korumaktır. Mutasyon ıslahı, 2050'de 9 milyar sınırını geçmesi beklenen gelişen küresel insan nüfusuna gıda güvenliğini sağlamada kritik bir rol oynayabilir. Bitki ıslahı 1950'lerden itibaren popüler hale gelmiş (Nencheva, 2010; Oldach, 2011; Oladosu ve ark., 2016) ve o zamandan beri çeşitli kültür bitki türleri, sebzeler, süs bitkileri ve otların yanı sıra tıbbi bitkilerin verimlilikleri ve gelişimine büyük katkı sağlamıştır. Mutasyon ıslahı sadece mevcut çeşitlerin iyileştirilmesiyle sonuçlanmamış, aynı zamanda yeni yenebilir ürünlerin geliştirilmesine de aracı olmuştur (Dribnenki ve Green, 1995; Dribnenki ve ark., 2005;

2007; Pathirana, 2011). Ayrıca arpada külleme, *verticillium* solgunluğu ve siyah nokta hastalığı da dahil olmak üzere tahribat yaratan hastalıklarına karşı çözümler sağlamıştır (Micke, 1993; Mejlhede ve ark., 2006; Pathirana, 2011). Mutasyon ıslahıyla foto-periyodik ve termo-periyodik tepkilerini etkilemenin yanı sıra tuzluluk, asidik ve toksik topraklar ve kuraklık gibi abiyotik çevresel streslere karşı dirençli bitkiler geliştirilmiştir (Pathirana, 2011). Kültür bitkilerinin getirisini artırmak tarım ekonomisini etkiler (Ahloowalia ve ark., 2004; Kharkwal ve Shu, 2009; Pathirana, 2011). Ancak günümüz bitki ıslahının farklı zorlukları vardır; daha iyi beslenme kalitesi ve tuzluluk ve su stresi dahil olmak üzere abiyotik streslere tolerans, değişen iklim koşullarında verim artışı, hastalık ve zararlılara karşı direnç vb ile karşılaştırıldığında daha yaygın hale gelmiştir.

Başlangıçtan yakın zamana kadar, bitki mutasyon ıslahında radyasyon ve kimyasal mutagen bazlı metotları içeren sadece seçilmiş bir grup metot kullanılmıştır. Örneğin, FAO verilerine göre bugüne kadar resmi olarak piyasaya sürülen 3222 mutant çeşidin yaklaşık %70'i yalnızca iyonlaştırıcı radyasyonlar kullanılarak geliştirilmiştir (Sharma ve ark., 2009; Mba ve ark., 2012; Mba, 2013; Oladosu ve ark., 2016). Bununla birlikte, biyoteknoloji, bitki moleküler biyolojisi ve bitki genomu gibi alanlardaki gelişmeler, mutasyon ıslahının ufku; DNA hasarının mekanizmasını anlamak ve dönüşüme uğramış mutasyon indüksiyonunu şansa dayalı bir olaydan yöntem dayalı bir olaya dönüştürmeye genişletmiştir. Mutasyon teknolojilerinin daha iyi anlaşılmasıyla, 21. yüzyılın ilk yıllarında uygulamalar artmıştır. Mutant tarama ve karakterizasyonu, bitki genomu ve moleküler biyolojideki gelişmeler ve yeniliklerin yanı sıra moleküler ve genomik araçların kullanımından da yararlanmıştır (Forster ve Shu, 2012; Gulfishan ve ark., 2015). Günümüzde bitki mutasyon araştırmaları, yalnızca ileri yönde temel mutagenesis çalışmalarından, ileri ve geri genetik yaklaşımları kullanan yöntemlere geçmiş, sonuç olarak mutasyon ıslahı artık daha sofistike ve verimlidir ve bitki genomik araştırmaları da dahil olmak üzere ilgili disiplinlerden karşılıklı olarak yararlanmaktadır (Forster ve Shu, 2012; Kharkwal, 2012). Mutasyonlar artık DNA dizisi düzeyinde tespit edilebilir. Bununla birlikte, ekinlerin genomunun modifikasyonuna yol açan teknikler, genetik modifikasyon süreçlerinin doğası gereği güvensiz olduğuna dair genel inanç nedeniyle, çok fazla tartışma konusu olmuştur. Buna rağmen, biyoteknolojik yöntemlerin bitki ıslahına dahil edilmesi, teknolojik, ekonomik ve kültür bitkileri iyileştirme avantajları nedeniyle artış eğilimindedir (Action ve ark., 2021).

Mutagenite, bir fiziksel veya kimyasal ajanın bir hücre veya organizmanın genetik içeriğinde kalıcı olarak aktarılabilir varyasyonları indüklenme derecesidir. Mutasyonlar olarak adlandırılan bu genetik değişiklikler kalitatif veya kantitatif olabilir. Bir kromozomu, bir gen grubunu, bir gen segmentini veya tek bir geni etkileyebilirler. Bitkilerde mutagenite, büyümeyi, hastalıklara karşı direnci ve fotosentez yeteneğini azaltarak kültür bitkilerinin verimliliğini de engelleyebilir. Bu varyasyonlardan sorumlu ajanlara mutagen denir, sitotoksosite ise hücreler için toksik olma durumudur ve çevresel, fiziksel veya kimyasal faktörlerden kaynaklanabilir. Sitotoksosite normalde nekroz, apoptoz veya sitostatik etkilere neden olur. Sitotoksosite, hücre proliferasyonu, hücre canlılığı, fosfolipidoz ve steatoz, mitokondriyal fonksiyon, hücre döngüsü ve DNA hasarındaki değişiklikler ölçülerek belirlenebilir. Hem mutagenite hem de sitotoksosite mekanizmaları, çok çeşitli bileşikleri değerlendirmek için rutin olarak kullanılır. Ancak sitotoksitenin aksine mutagenitenin canlı organizmaların evrimi, gelişimi ve çeşitliliğinde hayati bir rol oynadığı da bilinmektedir. DNA duplikasyonuna veya transpozonlara bağlı olarak mutagenite hem bitkilerde hem de hayvanlarda yeni genler, genomlar ve genetik çeşitlilik geliştirmiştir. Doğal mekanizmaların dışında, mutagenite geniş çapta benimsenmiştir ve kültür bitkileri ıslahında tercih edilen teknolojidir (Action ve ark., 2021).

Mutagenite ve sitotoksositeyi tarama, tanımlama ve değerlendirme teknikleri birinci derecede önemlidir. Biyoanaliz, bir bileşiğin *in vitro* (dokular, hücreler) veya *in vivo* (canlı organizmalar) potansiyelinin veya konsantrasyonunun kalitatif veya kantitatif tahmini için kullanılan analitik bir tekniktir. Çoklu biyoanalizler, canlı bir organizmanın veya bir bileşiğin mutagenitesini veya sitotoksitesini değerlendirmek için özel olarak tasarlanmıştır. Bu biyo-tahlillerin yaygın pratik uygulamaları vardır. Örneğin, mutagenite tahlilleri, farklı insan hastalıklarında yer alan mutasyonların taranmasına, bitki ıslahı, kültür bitkilerinin iyileştirilmesi ve patojenlere karşı savunma için yeni ve geliştirilmiş fenotiplerin belirlenmesine aracı olabilir. Oysa sitotoksosite için kullanılan biyo-tahliller, insanlar için sitotoksik bileşiklerin, ilaç keşfinin, anti kanser ajanların ve sitotoksik genetik değişikliklerin tanımlanmasında faydalıdır. Bu testler ayrıca hücre çoğalmasına, büyümesine ve ölümüne yol açan biyolojik süreçlerin anlaşılmasına da aracı olabilir.

SA ve EMS uygulanmasıyla elde edilen mutant bitkiler, çeşitli olumsuz koşullarda hayatta kalabilir ve daha iyi verimlere, artan stres toleransına, daha uzun raf

ömrüne ve normal bitkilere kıyasla daha az agronomik girdilere gerek duyar (Khan ve ark., 2009).

Poliploid bir bitki türünün herhangi bir hedef geninde mutasyonların yapılma ve tanımlanması için yöntemler belirlenmiştir. Bu yöntemde, sadece homolog veya homolog genomlarından sadece birinde bulunan en az bir çift fonksiyonel, hedef gen çiftine sahip bir bitki seçilir. Seçilen bitki tohumu en az bir mutagenik ajan ile muamele edilir, tohum çimlenir ve bundan türetilen bitkiler hedef gen mutasyonları için elenir. Bu uygulama örneği bir tahıl bitkisi mutagenik madde EMS ve ardından SA ile tekrarlamalı olarak uygulanır, mutasyona uğramış poliploid buğday bitkilerinde balmumu geninin tüm kopyalarında mutasyonlar içeren ve azaltılmış miktarda veya tamamen eksik veya So Synthesize Nişasta amilaz'dan yoksun olma ile sonuçlanmıştır. Yöntem, herhangi uygun bir poliploid bitkinin herhangi bir hedef genindeki mutasyonları oluşturmak, seçmek ve tanımlamak için kullanılabilir bulunmuştur (Konzak, 2004).

SA ve EMS yaprak sayısını, klorofil içeriğini, taze vegetatif büyüme ve kök ağırlığını, vegetatif büyüme ve köklerin kuru ağırlığına etkili olur. Asmada daha önce SA ve EMS muamelesi ile ploidi veya mutant tiplerin elde edilmesine yönelik bir çalışmaya literatürde rastlanmadığından, burada çeşitli türlerdeki etkileri dikkate alınarak asmaya uyarlanmıştır.

2.4. Sodyum Azide (SA) Çalışmaları

Sodyum azit, suda kolay çözünür, sulu laboratuvar reaktiflerinde ve biyolojik sıvılarda ve otomobil hava yastıklarında bir gaz jeneratörü olarak koruyucu olarak kullanılan beyaz ila renksiz kristal katıdır. Kauçuk, lateks, şarap ve Japon birası imalatında ve kurşun azit üretiminde kimyasal bir ara madde olarak kullanılmaktadır. Otomotiv hava yastıklarında kullanımı sodyum azit zehirlenmeye neden olmazken azot gazı ve sodyum oksit üreterek nadiren, nispeten küçük kimyasal yanıklara neden olmuştur. Sodyum azit aşındırıcı sodyum hidroksit oluşturmak için suyla reaksiyona girer bu nedenle herbisit, insektisit, nematosit, fungusit ve bakterisit olarak kullanımı araştırılmıştır (Hall, 2007).

Sodyum azit zehirlenmesi çoğunlukla, su veya normal tuzla karıştırılabilecek renksiz, kokusuz, tatsız laboratuvar solüsyonlarının kazara veya intihar amaçlı yutulması sonucunda ve sağlık hizmeti ortamlarında veya laboratuvarlarda meydana gelmiştir. İntihar vakaları genellikle laboratuvarlarda kimyasala erişimi olan kişilerde

görülmüştür çünkü, aksi halde sınırlı bulunabilirliği vardır. Bir hasta, bir hastaneden alınan 1 g sodyum azidi yanlışlıkla yuttuktan sonra ölmüştür. Yutma, ciddi zehirlenme vakalarında en yaygın maruz kalma yoludur. Ölüm genellikle 700 mg'ın (veya 10-13 mg kg⁻¹) üzerindeki dozlarla ilişkilendirilirken, 0.3 ila 150 mg (veya 0.004-2 mg kg⁻¹) arasındaki dozlarda ölümcül olmayan zehirlenme görülmüştür. Dört ölümcül ve altı ölümcül olmayan SA zehirlenmesi vakası serisinde, hayatta kalanlarda en düşük doz 5 ila 10 mg ve en yüksek doz 80 mg'dır. En düşük ölümcül dozlar kadınlarda 0.7 g ve erkeklerde 1.2 ila 2 g'dır (Hall, 2007).

Shannon ve ark. (2007)'nin bildirdiğine göre, SA, zehirli, renksiz, kokusuz, çoğunlukla su veya normal tuzlu su ile karıştırılabilen, sağlık ve bakım laboratuvarlarında kullanılan bir çözeltilidir. Kimyasalın bulunabilirliği sınırlı olduğundan sadece laboratuvarlarda kimyasala erişebilen kişilerde intihar vakaları bildirilmiştir. 2001 Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği TESS31, SA için özel bir liste yoktur. Ciddi zehirlenme vakalarında yutma en yaygın maruz kalma yoludur. Ölüm oranı genellikle 700 mg (veya 10-13 mg kg⁻¹) üzerindeki dozlarla ilişkilendirilirken, 0.3 ila 150 mg (veya 0.004-2 mg kg⁻¹) arasında değişen dozlarda ölümcül olmayan zehirlenme görülmüştür. Dört ölümcül ve altı ölümcül olmayan SA zehirlenmesi vakasında, hayatta kalanlarda en düşük doz 5 ila 10 mg ve en yüksek doz 80 mg'dır. En düşük ölümcül dozlar kadınlarda 0.7 g ve erkeklerde 1.2 ila 2 g olarak bildirilmiştir. SA, gastrointestinal ve solunum yollarından (hidroazotik asit buharı olarak) hızla emilir. Deriden emilme derecesi belirsizdir, ancak bir depo kazasından kaynaklanan tek bir ölümcül vaka bildirilmiştir. SA, karaciğer tarafından metabolize edilir ve böbrekler tarafından atılır, ancak insan emilimi, dağılımı, metabolizması ve atılım kinetiği verileri tek bir ölümcül vakada hesaplanan yaklaşık 2.5 saatlik bir yarı ömür dışında mevcut değildir. Hidroksokobalamin, SA ile zehirlenmiş insanlara uygulanmamıştır. İzole edilmiş sıçan mitokondrilerinde yapılan bir *in vitro* çalışma, SA ile inhibe edilen mitokondriye hidroksokobalamin eklendiğinde, sitokrom-c oksidazın tek başına SA eklendiğinden daha az inhibe edildiğini bulmuştur. SA zehirlenmesinin uygulamasında hidroksokobalamin için potansiyel bir teorik etki mekanizması sağlar ve daha ileri çalışmalar gereklidir. Uygun olduğu zaman hidroksokobalamin, son derece uygun güvenlik profili nedeniyle hayatı tehdit eden SA zehirlenmesi olan hastalara uygulanabilir. Akut siyanür zehirlenmesinde görülen şiddetli hipotansiyonu tersine çevirmek için özellikle etkilidir ve olağan uygulamayı yanıt vermeyen şiddetli hipotansiyon, SA zehirlenmesinin bir özelliğidir.

Gruszka ve ark. (2012)'na göre, yaygın bir bakterisit, pestisit ve endüstriyel azot gazı üreticisi olan SA, bitkiler ve hayvanlar da dahil olmak üzere çeşitli organizmalarda oldukça mutagenik olduğu bilinmektedir. SA, mikroorganizmalarda güçlü bir mutagen olup diğer bazı kültür bitki türlerinde olduğu gibi arpada da çok etkili bir mutagendir, ancak memelilerde marjinal olarak mutageniktir. Neurospora, Drosophila ve bir model bitki türü *Arabidopsis thaliana*'da mutagenik değildir. SA'nın mutagenitesine, azidin organik bir metabolitinin üretimi aracılık eder ve yüksek oranda asidik pH'ya bağlıdır. SA'nın neden olduğu kromozom kırılmasının sıklığı nispeten çok düşüktür.

Gruszka ve ark. (2012)'de tek başına SA uygulaması tohum çimlenmesini geciktirmiştir. SA'nın fizyolojik etkisinin katalazın inhibisyonu olduğu düşünüldüğünde, peroksidaz ve sitokrom oksidaz, çimlenmede gecikme, çimlenme için gerekli metabolik aktivitenin engellenmesiyle açıklanabilir. SA'nın M1'in doğurganlığı azalması üzerinde sınırlı bir etkiye sahip olması, bu mutagen tarafından indüklenen somatik hasarlara ve mutasyona kromozomal anormalliklerin eşlik etmediği gözlemini desteklemektedir. SA muamelesinden sonra arpa M1 ovüllerinin kısırlık yüzdesi, mutagenin ara konsantrasyonunda daha yüksek kısırlık değerlerinin elde edildiği ikinci derece bir parabol ile tanımlanabilir. SA bitkilerde mutasyonların indüklenmesinde başarıyla kullanılmıştır. SA, çimlenme sürecinin ilk hücre bölünmesinin DNA sentezi aşamasında uygulandığında mutasyonun indüklenmesinde daha etkilidir. Pirinçte bu aşamada 10 mM doz altı saat uygulandığında, SA, sırasıyla M1 neslinde salkımları etkilemiş ve M2 fidelerine dayalı seçimde maksimum %11.1 - %1.22 mutasyon sağlamıştır. SA, şeker kamışının yaprak parçalarından üretilen kallus yapılarının *in vitro* farklılaşmasını konsantrasyona bağlı bir şekilde (0.07 ila 0.7 mM) geciktirmiş, meristematik şeker kamışı kallusunda 0.9 mM'lik doz uygulamasında nekroz gözlenmiştir.

SA'nın mikroorganizmalarda, tahıllar ve baklagillerde çok etkili bir mutagen olduğu bildirilmiştir. SA, Güney Asya'da ıslah edile bir fasulye türünde etkili bir mutagen olarak belgelenmiştir (Misra, 1995).

Berger ve ark. (1953), SA streptomisin ve penisiline dirençli *Staphylococcus aureus* mutantlarının sıklığını artırdığını fark etmiştir. Bu mutagenitenin, hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna yol açan SA kaynaklı katalaz ve peroksidaz inhibisyonuna atfetmiştir.

Spence (1965), arpada SA mutagenitesini belirlemiş ve azit ile indüklenen peroksidaz ve katalaz inhibisyonunun, yüksek peroksit konsantrasyonunun mutagenik

etki sağladığını varsaymış, Ando ve Tulmann Neto (1979) ve Hasegawa ve Inoue (1980), SA'nın farklı kültür bitki türlerinde mutasyon sıklığını artırabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kochanová ve ark. (2012)'nin bildirdiğine göre, trabzon hurması *Diospyros lotus* L., pek çok Avrupa ülkesinde Japon hurması (*Diospyros kaki* Thunb.) için anaç olarak kullanılan bir türdür. Diploit genomu süs amaçlı kullanım potansiyeline sahiptir. Bu türlerde SA'nın (%0.1 ve %0.5 dozlarında) morfolojik karakterler (bitki boyu, maksimum yaprak uzunluğu, maksimum yaprak genişliği ve yaprak sapı uzunluğu) üzerindeki etkileri ve uygulama yapılan tohumlardan gelişen bitkilerin moleküler ilişkileri incelenmiştir. AFLP (amplifiye fragman uzunluğu polimorfizmi) M1 neslinde, iki yaşındaki bitkilerin analiz edilen karakterleri, uygulamalar arasında farklılık göstermiştir. SA, hurma sapı ve yaprak boyutlarını ters yönde etkilemiş, bitki boyunda %31.57'ye varan artış ve yaprak sapı uzunluğunda %30.33'e kadar azalmaya neden olmuştur. Kaki morfolojik karakterlerindeki değişiklikler önemli bulunmuş, %0.1 SA ile muamele edilen genotipler arasında önemli farklılıklar görülmemiş ve birlikte kümelenmiştir. %0.5 SA dozunun, moleküler düzeyde kontrolden önemli ölçüde farklı genotipler oluşturmak için tavsiye edilmiştir.

Sugihara ve ark. (2013) tarafından SA mutagenез denemeleri haploit ve diploit mısırdaki yapılmıştır. B55 mısır taneleri 2s 0.2, 0.5 veya 1.0 mM SA çözeltisiyle muamele edilmiş 0.5 mM uygulananlarda çok fazla albino indüklenmiştir. Oh43 × B55 hibrit mısırlar, 1.5, 2.0, 2.5 ve 3.0 mM SA ile muamele edildiğinde fidelerdeki klorofil mutasyonu etkilenmiş ve en yüksek (% 15.3) 2.5 mM uygulananlarda kaydedilmiştir.

Muthusamy ve Jayabalan (2013) tarafından γ ışını (GR), EMS ve SA uygulamalarıyla oluşturulan mutant pamuk hatlarının verim ve protein içeriği değişimi incelenmiştir. MCU 5 ve MCU 11 tohumlarında γ ışınları (GR), EMS ve SA uygulamalarıyla düşük γ ışınlamı (100-500 Gy), düşük dozda 10-50 mM EMS ve SA uygulamaları, verim ve protein içeriğinin iyileştirilmesinde etkili bulunmuştur. M2 neslinde, ebeveyn hattına kıyasla, verimde (258.9 g bitki⁻¹) ve protein içeriğinde (ağırlıkça 18.63 mg g⁻¹) önemli artış kaydedilmiş, takip eden saha denemelerinde, mutant hatların sayısı morfolojik olarak verim ve protein gibi biyokimyasal karakterler açısından değişmiştir. Seçilen mutant hatlar, M3 ve M4 nesillerinde karakterlerini korumuşlardır. Protein içeriği ve mutant hatların profillerinde 10.21-18.63 mg g⁻¹ aralığında önemli bir artış, mutant hatların SOS-PAGE analizi, 26-81 kDa aralığında 9 farklı yoğunlukta çeşitli yoğunluk bandı sergilemiş, bantların yoğunluğundaki fark, *in*

vitro mutasyondan elde edilen mutant hatlarda *in vivo* mutasyondan daha fazla bulunmuştur (41.50 ve 58 kDa). Protein içeriğindeki bu artışın önemi, bitki başına tohum ağırlığı bakımından pamuk mutant hatlarının verim kabiliyetiyle ilişkili bulunmuş olup sonuçta, pamukta hem verimi hem de biyokimyasal karakterlerinin *in vivo* ve *in vitro* mutagenik uygulamalarla artırmanın mümkün olduğu bildirilmiştir.

Muthusamy ve Jayabalan (2013), mutagenik uygulamalara düşük androgenik yanıt veren (cv. Volga) arpa çeşidinde agronomik ve/veya fizyolojik mutantlar üretmek için SA'yı, anterlere ve *in vitro* kültürlenmiş izole edilmiş mikrospora uygulamıştır. Bu teknoloji, ilk nesilde resesif mutantların taranması, çok büyük haploit popülasyonlardan yeni genotiplerin seçilmesi, kimerikliğin önlenmesi ve seçilmiş genotiplerin verimli gerçek ıslah hatları olarak hızlı bir şekilde sabitlenmesi için olasılıklar değerlendirilmiştir. Mutagenik muamele, 10^{-3} - 10^{-5} M SA, anter indüksiyonu ön işlem sırasında veya mikrospor izolasyon işleminden hemen sonra uygulanmıştır. Arazide karakterize edilen 616 M2 iki haploit hattan toplam 63 morfolojik ve gelişimsel bağımsız mutant hattı tanımlamışlardır. Analiz edilen hat başına mutant M2 iki haploit hattın yüzdesi, düşük yanıt veren çeşitlerde anterlere 10^{-4} M SA uygulandığında %3.8 oranında gerçekleşmiştir. Volga; çeşidinden taze izole edilmiş mikrospora 10^{-5} ve 10^{-4} M SA uygulandığında bu değer %8.6 ve %15.6'ya yükselmiştir.

Deh Sheikh ve Moradnejad (2014) Kronaki Zeytin (*Olea europaea* L.) çeşidinde *in vitro* kallus oluşturmuş ve kallus'un *in vitro* mutagenesi beş farklı konsantrasyonda (1-5 mM) SA kullanılarak denemişlerdir. Üretilen zeytin mutantları arasındaki genetik polimorfizmi tespit etmek için tesadüf çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) ve basit-arası dizi tekrarı (ISSR) markerleri kullanılmıştır. Altı RAPD ve yedi ISSR primerleri, muamele edilmemiş ve SA ile muamele edilmiş kallusun genomundan DNA segmentlerini büyütmek için kullanılmıştır. Kallus oluşumu için 0.5 mg Murashige ve Skoog (MS) ortamı en uygun bulunmuş, 2 mg L⁻¹ a-naftalenasetik asit ve 0.5 mg L⁻¹ 2-izopentenil-adenin ile desteklemiştir. Toplam 60 RAPD amplikonu ve 60 ISSR fragmanı tespit edilmiştir. PCR amplikonlarının boyutları, 200-3000 bp arasında değişmiştir. 60 RAPD'nin 15'i (%40) ve 60 ISSR'den (%16.6) on tanesi polimorfik bulunmuştur. Sonuçta 4.0 mM ve 5.0 mM SA mutageniz için en etkili dozlar olarak belirlenmiştir. RAPD, ISSR ve birleşik RAPD ve ISSR marker analizine dayanarak, tüm SA uygulamalarının tespit edilebilir mutasyon seviyelerine neden olduğu gösterilmiştir. Zeytin kallus hücresinde *in vitro* mutageniz için SA'nın kullanılması, 0.14-0.21'in genetik benzerlik değerleri ile sonuçlanmış ve gelecekte, özellik gelişimi ve

zeytin ıslah programlarında yararlanılabilecek zeytinde mutasyonu uyarmak için yararlı bulunmuştur.

Wannajindaporn ve ark. (2014), süs bitkisi *Dendrobium* 'Earsakul'un *in vitro* mutagenesi, protokorm benzeri yapıları 0-5 mM SA içerisinde 1s inkübe ederek test etmişlerdir. 28 varsayılan mutant, basit sekans tekrarı (ISSR) analiziyle kontrol bitkileriyle genetik değişkenlik açısından karşılaştırılmış, polimorfik fragmanlar, 12 ISSR primerinin 9'u tarafından üretilmiş, boyutları 140-5000 bp arasında değişen toplam 173 büyütülmüş ISSR fragmanı elde edilmiş, bunların 39'u polimorfik (%22.5) bulunmuştur. Varsayılan 25 mutanttan 15'i (%53.6) kontrole göre değişmiş genetik profiller göstermiş mutantlar olarak tanımlanmıştır. Sonuçta SA'nın *Dendrobium* 'Earsakul'da mutantlar üretmek için etkili bir şekilde kullanılabileceği ve ISSR'nin bu mutantların etkili erken tespitini sağlayan güçlü bir araç sağladığı bildirilmiştir.

Yabor ve Lorenzo (2019) tarafından, SA (0-0.45 mM)'nın seçilmiş ananas mikro-bitkilerinde biyokimyasal (aldehitler, klorofiller, karotenoidler ve fenolikler) ve kültür ortamındaki çözünür fenolik içeriklerine mutagenik etkileri incelenmiştir. Dozlardan bağımsız olarak, SA, kardeşlenme oranını (0.45 mM'de kontrole göre %87) ve taze ağırlığı (0.45 mM'de kontrole göre %66) azaltmıştır. Klorofil a ve b seviyeleri ve kültür ortamındaki çözünür fenolikler de SA dozuyla negatif korelasyon göstermiştir. SA uygulaması, sürgün karotenoid ve çözülebilir fenolik seviyelerini artırırken, bir dizi yerleşik bitki stres biyo belirteçleri olan hücre duvarı ile bağlantılı fenolik seviyeler, malondialdehit ve diğer aldehitlerde önemli bir etki göstermemiştir. 0.19 mM NaN₃'ün sürgün kardeşlenme oranını %50 azalttığı ve morfolojik olarak anormallik göstermeyen, artan foto-koruyucu pigment seviyeleri (kontrole göre) ve lipid peroksidasyon ürünlerinde önemli bir artış göstermemiş ve ananasta mutagenesi indüklemek için kullanılabilir bulunmuştur.

Iqbal ve ark. (2019)'na göre, *Nigella sativa* (Çörek otu), olağanüstü antioksidan içeriğine sahip güçlü bir tıbbi bitkidir. Bu bitki için bilinen yüzden fazla fitokimyasal timokinon, başlıca aktif ve güçlü antioksidan fito-bileşenlerden biridir. Bir siklikdion olan timokinon, çok çeşitli reaksiyonlarla çok yönlü olan analogları α azido ketonlarını sentezlemek için SA ile reaksiyona girer. SA nedeniyle oluşan stres, bitkinin antioksidan sistemini (antioksidatif özelliği) modüle eder. SA'nın Çörek otu bitkisinde antioksidan özellik ve timokinon içeriğine etkisi çalışmasında, SA'nın doza bağlı bir şekilde Ajmer *Nigella* 1 (AN1) ve UP *Nigella* 1'de (UP1) % timokinon verim ve bileşimi arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür. SA'nın timokinon içeriği ve antioksidan

özellikleri üzerindeki etkisini açıkça göstermiştir. Yükseltilmiş antioksidan özelliği, diğer antioksidanların üretiminde ortaya çıkmasından veya daha güçlü antioksidanlar olan timokinon analoglarının oluşumundan kaynaklanabileceği nedeniyle, daha güçlü antioksidan analogları üreten ve bu nedenle çeşitli terapötik uygulamalarda faydalı olabilen SA'nın timokinon ile etkileşiminin daha fazla araştırılması önerilmiştir.

Gomez ve ark. (2019)'nın bildirdiğine göre SA, *in vitro* bitki ıslahında mutagenezi indüklemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. SA'nın (0-0.45 mM) ananas mikropogonantlarında seçilen büyüme (sürgün çoğalma oranı ve sürgün taze ağırlığı) ve biyokimyasal (aldehitler, klorofiller, karotenoidler ve fenolikler) parametreler üzerindeki mutagenik etkileri araştırılmış, kültür ortamında çözünen fenoliklerin içeriği de değerlendirilmiştir. Konsantrasyondan bağımsız olarak SA, sürgün çoğalma oranı (0.45 mM'de kontrole göre %87) ve taze ağırlığı (0.45 mM'de kontrole göre %66) azaltmıştır. Kültür ortamındaki klorofil a ve b seviyeleri ve çözünmüş fenolikler içeriğinde SA dozu ile negatif ilişkili belirlenmiştir. SA uygulaması sürgün karotenoid ve çözünmüş fenolik seviyelerini artırmış, ancak bir dizi yerleşik bitki stres biyobelirteçleri olan hücre duvarına bağlı fenolik seviyeleri, malondialdehit ve diğer aldehitlerde önemli bir etki göstermemiştir. 0.19 mM SA sürgün kardeşlenme oranını %50 azaltmış ve hiçbir morfolojik anormallik göstermeyen propagantlara, artan fotokoruyucu pigment seviyelerinde (kontrole göre) ve lipid peroksidasyon ürünlerinde önemli bir artışa neden olmadığı göz önüne alınarak mutagen bu dozlarda kullanılabilir bulunmuştur.

Ibukun ve Oluwaseyi (2019)'ye göre mutasyon indüksiyonu ve mutantların tespiti, arzu edilen üstün çeşide ulaşmanın hızlandırılmış bir yolunu temsil eder. Nijerya Ulusal Genetik Kaynaklar ve Biyoteknoloji Merkezi (NAGRAB) İbadan'dan toplanan Kenaf çeşitleri NG, HIB18, HIB24 ve HIB42'nin tohumlarına, %0.2, %0.4 ve %0.6 dozlarında SA uygulandığında, çimlenmenin arttığı ve hayatta kalmanın dört çeşide de artan mutagen dozuyla kademeli olarak azaldığı, %0.6 SA uygulanan NG çeşidinde, aynı dozdaki diğer çeşitlere kıyasla daha iyi çimlenme görüldüğü, aynı çevresel koşulda aynı SA dozuna çeşitlerin farklı yanıt verdiği, Kenaf'ın SA ile verim performansının geliştirildiği, NG çeşidinde bitki boyunun SA uygulamasıyla azaltıldığı, çeşitlerinin, mutagenik uygulamalara farklı tepki verdiği belirlenmiştir.

Wang ve ark. (2019)'na göre genetik ajanlar doğadaki germplazmlarda bulunmayan ve kültür bitkilerinin iyileştirilmesi için yaygın olarak kullanılan yeni aleller üretebilir. *Magnaporthe oryzae*'nin neden olduğu hastalık, pirinç üretimi için en

yıkıcı hastalıklardan biridir. Şimdilik, bu hastalık direnciyle ilişkili sınırlı mutant çeşitler rapor edilmiştir. SA kullanılarak geliştirilen, 3000'den fazla saf mutant hat (SA mutanı) içeren bir pirinç TNG67 mutant havuzu kullanılmıştır. Pirinç patlamasına duyarlı çeşit TNG67'den ve diğer ticari ve farklı çeşitlerden türetilen 50 SA mutanı, patlama hastalığına direnç spektrumlarını tanımlamak için Tayvan'da toplanan 89 patlama izolatu ile bulaştırılmış sonuçta, SA mutantlarının *M. oryzae*'ye karşı yüksek oranda duyarlı (%6.7) ile yüksek dirençli (%100) arasında değişen farklı tepkiler vermiş, yedi mutant test edilen patlama izolatlarına karşı geniş spektrumlu direnç göstermiştir. Çift yönlü etkileşim analizi, bitki-patojen etkileşiminin daha iyi anlaşıldığını ortaya koymuş, SA mutagenезinin, pirinç patlama direncini indüklemeye ve patlama direncinin iyileştirilmede değerli genetik kaynak oluşturmak için verimli ve etkili bir yöntem olarak tanımlanmıştır.

Vwioko ve ark. (2019)'na göre su taşkını stresi dünya çapında kültür bitkilerinin büyüme ve verimi olumsuz etkiler. %0, %0.02 ve %0.05 dozlarında SA uygulamalarının bamya bitkilerinin su taşkını stres toleransına etkileri iki haftalık bitkilerle bir saha denemesinde test edilmiştir. Farklı büyüme ve çoğalma parametreleri araştırılmış, antioksidan enzim aktiviteleri ve ifadesi, kök anatomisi ve toprak kimyasal analizi incelenmiş, sonuçta, ekimden dokuz gün sonra %0, %0.02 ve %0.05 SA uygulanan tohumlarda çimlenmenin sırasıyla % 92.50, 85.00 ve 65.00 olduğu, taşkın koşullarının ekimden on hafta sonra bitki boyunu düşürdüğü, taşkın koşullarında SA uygulamalarının bitki boyu ve oluşan yaprak sayısını artırdığı, bitkilerin hayatta kalma ve kök gelişimini desteklediği, topraktaki redoks potansiyelini, organik C, N ve P konsantrasyonlarını olumsuz etkilerken toprakta pH, Fe, Mn, Zn ve SO₄'ü artırdığı, çiçek tomurcuğu, çiçek ve meyve sayılarını artırdığı, aerenkima gelişimini yüksek oranda teşvik ettiği ve bamya bitkilerinin taşkın koşullarında hayatta kalmasını artırdığı, antioksidan enzimlerin (askorbat peroksidaz, APX ; katalaz, CAT) aktivitelerini ve gen ekspresyon seviyesini artırdığı, sonuçta, SA uygulamalarının bamyada su baskını stres toleransını iyileştirebileceği belirlenmiştir.

Rysbekova ve ark. (2020)'na göre darının (*Panicum miliaceum* L.) ilk üreme materyallerinin morfolojik özellikleri farklı dozda (0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 mM) SA uygulamalarıyla test edilmiş, morfolojik mutant sayısı görsel olarak gözlenmiş, mutagen dozu artışıyla, tohum çimlenmesinde azalma görülmüş, 0.1 mM SA en etkili bulunmuş, tarla koşullarında çimlenme, bitki boyu, salkım uzunluğu, salkım ağırlığı ve bin tohum ağırlığı gibi tarımsal özelliklerin çoğu olumsuz etkilenmiştir.

Akinyosoye (2020)'e göre doku kültürü, kültür bitkilerinin genetik mutasyon potansiyelini değerlendirmek için fırsatlar sunar. SA'nın bazı mısır çeşitlerinde tohum çimlenme ve kallus oluşumuna etkileri on mısır çeşidi tohumları oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) distile suda 6 s önceden ıslatma, ardından 9 s farklı SA dozları (%0.01, %0.02, %0.03, %0.04 mM) uygulanmış, iki filtre kâğıdı arasında petri kaplarında çimlendirilmiştir. Muamele edilen tohumlar daha sonra ispirto (%70) ile dezenfekte edilmiş, takiben kallus indüksiyonu için cıva klorür (%0.1, %0.2) ile dezenfekte edilmiştir. Ardından çıkartılan embriyolar, miyo-inositol (0.1 g L^{-1}), sakaroz (30 g L^{-1}), 2,4-D (3 mg L^{-1}) ve agar (8 g L^{-1}) ile takviye edilmiş bazal ortamda kültürlenmiştir. Sonuçta, çeşitli SA dozlarına yanıt olarak çeşitlerin tohum çimlenme ve kallus indüksiyonunun önemli ölçüde farklılık gösterdiği doz arttıkça %0.01 ila %0.04 SA uygulamalarında çimlenme yüzdesi sırasıyla %67.2 ve %46.6'a düştüğü, Kontrolde %85.5 olduğu, doz arttıkça engellenme yüzdesinin arttığı belirlenmiştir. SA dozu %0.01'den %0.02'ye çıkartıldığında biyokütlenin (taze ve kuru ağırlık) arttığı, ancak %0.02'den %0.04'e çıkınca düştüğü belirlenmiştir. Benzer şekilde, kallus indüksiyonunun doz arttıkça %62.33'den %18.0'a düştüğü, sonuçta SA'nın mısır ıslahı için kullanılabilecek değişkenliği indükleyebildiği bildirilmiştir.

Jayaramachandran ve ark. (2020) tarafından susamın (*Sesamum indicum* L.), verimliliğini artırmak ve genetik mimaride erkenciliği sağlamak için indüklenmiş mutagenез kullanılmıştır. Dokuz susam çeşidine (TMV 3, TMV 4, TMV 5, TMV 6, TMV (Sv) 7, CO 1, VRI 1, VRI(Sv) 2 ve Paiyur 1) üç farklı SA (5 mM, 10 mM ve 15 mM) dozu uygulanarak erken olgunlaşan mutant, 15 mM'de M4 TMV 5 neslinde tanımlanmıştır. Ayrıca Mutant TVS 1401'in istasyon denemelerinde verim özellikleri açısından üstün performansı onaylanmış, 72 günde 521 kg ha^{-1} tohum verimi kaydedilmiştir.

Ahmed ve ark. (2020) tarafından ekmeklik buğdayda (*Triticum aestivum* L) mutasyonları indüklemek için farklı dozlarda dimetil sülfoksit DMS ve SA uygulanmıştır. En yüksek tane verimi/bitki (81.27 g ve 80.56 g), 6000 ppm'de (2000 ppm'de dimetil sülfoksit) ve SA uygulanan Sids 14'ten elde edilmiştir. Kontrol bitki Sids 14'ün verimi 39.23 gramken M2'deki nihai sonuçlara göre özellikle yüksek tane verimi sağlayan mutantın istikrarlı gelecek vaat ettiği bildirilmiştir. Tane verimi/bitki ile 1000 tane ağırlığı arasında düşük korelasyon (0.016) ve tane verimi/bitki ile bitki boyu (cm) arasında negatif korelasyon belirlenmiştir.

Ikahajiagbe ve Omoregie (2020)'nin bildirdiğine göre pirinç, dünyanın büyük bir kısmı için en vazgeçilmez tahıllarından biridir. Çok çeşitli iklim koşullarında başarıyla yetiştirilebilir, bununla birlikte, orta tuzlu su seviyelerinde verim önemli ölçüde azalabilir. Bu nedenle, tuzlu koşullarda bitki hayatta kalma ve performans kapasitelerini artırmada bitki ıslah tekniklerinin kullanılması zorunlu hale gelmektedir. Mutasyon belki de kalıtsal varyasyonların seçilebileceği nihai kaynaklardan biridir ve bu nedenle pirincin genetik olarak iyileştirilmesinde popülasyon oluşturmak için faydalı bir araçtır. Kimyasal bir mutagen olarak SA'nın beş pirinç çeşidinin FARO-44, FARO-52, FARO-57, NERICA L-34 ve NERICA büyüme, verim, genetik parametreleri ve RAPD profili üzerindeki etkileri Sodyum klorür çözeltileri kullanılarak 4000 ila 6000 $\mu\text{s cm}^{-1}$ iletkenlik aralığında tutulan topraklarda ekilerek araştırılmıştır. Ekim materyalleri pH 7'de (kontrol) %0 SA ve pH 3'te 6 saat %0 ila %0.032 SA doz aralığı denenmiştir.

Güngör ve ark. (2020)'na göre SA özellikle nokta mutasyonu çalışmalarında yoğun olarak kullanılan kimyasal bir mutagendir. 'Finola' altı sıralı arpa çeşidi, SA uygulanarak 14 adet mutant arpa hattı elde edilmiştir. Bu hatlar arasındaki genetik farklılık, 5 adet basit tekrarlı diziler arası polimorfizm ISSR markörü kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçta, 5 ISSR marköründen 24 adet bant elde edilmiş ve bu bantlardan 18 adet polimorfik allel belirlenmiş ve ortalama polimorfizm oranı %76.33 olarak saptanmıştır. Ortalama allel sayısı 4.8 olup, 6 bant ile UBC-808 en fazla bant üreten primer olurken, en az bant üreten primerler, 4'er bant ile UBC-820 ve UBC-825 primerleri olmuştur. Kullanılan markörlere ait ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) 0.83 olarak hesaplanmış ve PIC değeri 0.78 ile 0.86 aralığında değişmiştir. Markör verileri dendrogramda 2 ana grup oluşturmuştur. Birinci kümede Fnl-4, Fnl-8, Fnl-10, Fnl-11 ve Fnl-12 mutantları yer alırken, ikinci kümede Finola çeşidiyle birlikte diğer mutant hatlar yer almıştır. Temel bileşenler analizinde, Finola çeşidi ve mutant hatlardan Fnl-5, Fnl-13 ve Fnl-14 hatları birbirlerine benzemekle birlikte, bazı alleller bakımından farklı oldukları belirlenmiştir.

Jeberson ve ark. (2020) tarafından SA duyarlılığı (%0.1, %0.3 ve %0.5) üç tarla bezelyesi genotipi, Makhyatmubi, Makuchabi ve Rachna üzerinde incelenmiştir. M1 neslinde tohum çimlenmesi, fide boyu ve bitki sağkalımı için doza bağlı bir azalma gözlenmiştir. Polen çimlenmesi, her üç çeşitte de mutagenin doz artışıyla çimlenme oranı düşmüş, SA dozuna negatif bir bağımlılık göstermiştir. En düşük polen çimlenmesi bir Makuchabi'de (%83.76) %0.5 SA uygulamasında kaydedilmiş, dört tip klorofil mutasyonu (klorina, ksanta, albina ve viridis) M2 popülasyonunda

belirlenmiştir. Klorofil mutasyonu, çalışılan çeşitten bağımsız olarak tüm konsantrasyonlarda en yüksek frekansla indüklenmiştir. Daha yüksek SA dozunun, tüm genotiplerde geniş bir dizi klorofil mutasyonunu indüklediği gözlenmiştir. Bununla birlikte, tarla şartlarında indüklenen klorofil mutasyonunun genel spektrumu klorina > viridis > ksanta > albina şeklinde sıralanmıştır. Mutagenik etkinliğin büyüklüğü, çeşitli tepkileri ortaya çıkarmış, Makhyatmubi ve Rachna çeşitlerinde artan SA dozuyla azalırken, Makuchabi'de artan bir eğilim gözlenmiştir. SA'nın etkinliği çoğu muamele için Makhyatmubi ve Rachna genotiplerinde dozdaki artışla azalmış, ancak Makuchabi için tersine bir durum gözlenmiştir.

Dyulgerova ve Dyulgerov (2020) tarafından kışlık arpa çeşidi Kuber'de SA ile indüklenen mutant hatların tane verimi ve verim ile ilgili özelliklerdeki değişim incelenmiştir. On sekiz gelişmiş mutant hat, ebeveyn çeşit ve ulusal standart çeşit Obzor ve Emon denenmiştir. Çalışma, Güneydoğu Bulgaristan'daki Karnobat Tarım Enstitüsü'nün deney alanında üç sezon (2014/2015'ten 2016/2017'ye kadar) yürütülmüştür. Bitki boyu, bitki başına başak sayısı, kılçık uzunluğu, çiçek sapı uzunluğu, başak başına başakçık sayısı, başak başına tane sayısı, başak başına tane ağırlığı, 1000 tane ağırlığı ve tane verimi açısından mutantlar arasında oldukça önemli farklılıklar bulunmuştur. Mutant hatları 16/1-3, 16/1-8, 16/1-21, 16/2-7, 16/2-20 ve 16/3-12 ana Kuber, Obzor ve Emon standartlarına göre önemli ölçüde daha yüksek tane verimine sahip olmuştur. Tane verimi, bitki başına başak sayısı ve başak uzunluğu ile önemli bir pozitif korelasyon göstermiş, bitki başına başak sayısı ve başak uzunluğu için maksimum fenotipik ve genotipik değişkenlik gözlenmiş, bitki başına başak ve tane sayısı bakımından yüksek genetik ilerlemeyle birlikte yüksek kalıtsallık göstermiş ve bu özelliklerin seleksiyonla daha kolay geliştirilebileceği değerlendirilmiştir.

Jahan ve ark. (2020)'nın bildirdiğine göre bitki ıslahı araştırmacılarının önemli gayreti, dünya çapında keten tohumu da dahil olmak üzere çeşitli kültür bitkilerin verimini artırmaktır. Bilim adamları, kimyasal mutagenlerin, iyonlaştırıcı radyasyon ve melezleme tekniğinin potansiyelini keşfederek hem kalite hem de niceliği geliştirmekle daha çok ilgilenirler. Keten bitkisinin tohumları, M2 neslinde çeşitli morfolojik varsayılan mutantları indükleyen farklı dozlarda γ ışınları (50 Gy, 100 Gy, 150 Gy, 200 Gy) ve SA (%0.1, %0.2, %0.3 %0.4) dozlarıyla muamele edilmiş, gür mutant (%0.2 SA), dar yaprak mutant (100 Gy) ve geniş gövdeli mutant (150 Gy) gibi nesiller seçilmiştir. Verilen dozlar, kantitatif özelliklerde daha fazla çeşitlilikle daha az biyolojik hasara odaklanarak, keten tohum verimini artırma hedefine ulaşmak için uygun

bulunmuş, orta ve yüksek dozlarda kimyasal ve fiziksel mutagenlerde bitkinin hemen hemen tüm kısımlarını etkileyen çeşitli morfolojik varyantlar gözlenmiştir. Kromozomal anormalliklerin oluşmasıyla sitolojik analiz, kromozomun erken hareketini, kromozomun eşit olmayan ayrılmasını, gecikmeyi ve kromozom bağlanmasına neden olur. Γ ışınları uygulanarak elde edilen popülasyonlarda morfolojik değişikliklerin ve kromozomal anormalliklerin indüksiyonunun, karşılaştırmalı olarak SA'ya göre daha yüksek olduğu belirlenmekle birlikte, bu varsayılan mutantlardaki genetik modifikasyonlardan sorumlu moleküler mekanizmanın, diğer destekleyici denemelerle araştırılması gerekir. Arzu edilen yüksek verimli mutant oranını artırmanın ekonomik açıdan önemli olduğu gösterilmiştir. Gelecekte beklentileri için seçilen mutantların ayrılmasının, geliştirilmiş keten tohumu genotipine kesinlikle katkıda bulunacağı ve bu mutantların ayrıca değerli ıslah ebeveynleri olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Vinithashri ve ark. (2020) tarafından iki pirinç çeşidinde-BPT 2231 ve CO 51'de SA mutageniyle indüklenen klorofil spektrumunu değerlendirilmiştir. SA'nın iki genotipte mutagenik etkinliği ve verimliliği gözlenmiş, BPT 2231'in M2 neslinde gözlemlenen klorofil spektrumu albino, ksanta, klorina, striata ve ksantha viridis'ten oluşmuştur. CO51'de albino ve ksanta tüm klorofil spektrumunu oluşturmuştur. Albino, 1 mM konsantrasyonda BPT 2231'de yüzde 1.2 ve CO 51'de yüzde 1.15 ile her iki çeşitte de baskın bulunmuş, mutagenik frekans, BPT 2231'de (7.8) CO 51'den (4.0) daha yüksek olarak belirlenmiştir. Ölümcül, fide hasarı ve polen kısırlığına dayalı bir mutagenin etkinlik göz önüne alındığında, BPT 2231 sırasıyla 2.79, 1.10 ve 0.26 daha yüksek değerler vermiştir. Mutagenik frekans gibi, SA'nın mutasyon oranı da BPT 2231'de (0.90) CO 51'den (0.40) daha yüksek bulunmuştur.

Weldemichael ve ark. (2021)'na göre susam yağlı tohumların kraliçesi olarak bilinen, tıbbi ve besin değeri ve yağ içeriği nedeniyle dünyada yetiştirilmektedir. Susam yetiştiriciliğinin en önemli zorluklarından biri düşük verimliliklidir. Kimyasal mutagen SA ile Etiyopya susamının M2 nesli (*Sesamum indicum* L.) genotiplerinde SA'nın kantitatif ve kalitatif kök özelliklerine etkileri on dört susam genotipi tohumları kullanılarak sera koşullarında incelenmiştir. Bitki boyu, zeminden birinci dallanma mesafesine uzaklık ve boğum arası uzunluğu gibi özellikler SA uygulamasından önemli ölçüde etkilenmiş, en yüksek bitki boyu Humera 1 ve Baha Necho genotipleri ve kontrolde kaydedilirken, en düşük bitki boyu Setit 2 ve Hirhir'de belirlenmiştir. İlk dallanmaya en yüksek değer Gumero'da gözlenirken, en az Setit 1'de kaydedilmiş, en iyi

boğum arası uzunluğu, Setit 2 kontrol ve ADI'de kaydedilirken, en düşük boğum arası uzunluğu, SA ile muamele edilen Setit 1 genotipinde belirlenmiş, SA uygulanan ACC44, ADI, Baha Necho, Borkena, Gonder 1 ve Setit 1 gibi genotipler tüysüz gövde tipi sergilemiştir. On dört genotipin tümü (hem uygulama yapılan hem de kontrol) dört gruba ayrılmış, sonuçta, genotipler ve kimyasal etkileriyle oldukça önemli bir varyasyon belirlenmiştir.

Mustapha Babayo ve ark. (2021) tarafından SA'nın Hakorin hajiya (yerel çeşit) ve Sam-15 (geliştirilmiş çeşit) mısır çeşitlerinde bazı kantitatif özelliklere etkileri tohumlar, 6 s damıtılmış suda ıslatıldıktan sonra 6 s çeşitli dozlarda (%0.00, %0.01, %0.02 ve %0.03) SA uygulanarak test edilmiştir. Uygulama yapılan genotiplerde çimlenme gün sayıları azalmış, tohumların hayatta kalması da gözle görülür şekilde etkilenmiş, erken püsküllenme gözlenmiş, yüksek doz uygulamalarında çimlenme gün sayıları artmış, 100 adet kuru tohum ağırlığı Sam-15 çeşidinde doz artışıyla artarken, Hakorin hajiya çeşidinde doz artışıyla azalmıştır.

Action ve ark. (2021)'na göre nokta mutasyonları, bir tek baz çifti değişikliğini içerir ve hatalı kodonlara (farklı bir amino asit için kodlar), sessiz kodonlara (amino asit kodlamasında değişiklik olmaz) ve anlamsız kodonlara (amino asit kodonu bir çeviri durdurma kodonuna değiştirilir) neden olabilir. Nokta mutasyonları, tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) oluşumuna katkıda bulunan tek baz ikameleri olarak da bilinir. Bir nokta mutasyonu, protein açısından olası üç etkiden biriyle sonuçlanabilir: Amisense mutasyonu adı verilen farklı bir amino asitte değişiklik; anonsense mutasyonu adı verilen bir sonlandırma kodonunda bir değişiklik veya protein sekansı bakımından sessiz olan ancak RNA eklenmesi veya transkripsiyonel ekspresyon seviyeleri gibi gen düzenlemesinin bazı yönlerini değiştiren yeni bir sekansın oluşturulmasıdır. Anlamsız mutasyonlar, bir proteinin erken kesilmesine neden olabilir, bu potansiyel olarak olumsuz bir etkidir ve genellikle işlevsel olmayan bir proteinin üretimine yol açar.

SA'nın farklı organizmalarda genotoksisitesi üzerine yapılan çalışmalar, gen mutasyonunun, AT→GC baz çifti geçişinin ve transversiyonunu (Khan ve ark., 2009; Gruszka ve ark., 2012), kromozom anormalliklerini (Gruszka ve ark., 2012) ve DNA hasarını indüklediği doğrulanmıştır (Veleminsky ve ark., 1987). SA mutasyonunun altında yatan mekanizma, amino asit analogu L-azidoalanin olarak ilk kez bakteri ve arpada tanımlanan organik bir metabolit olan β-azidoalanin parçasının [N3-CH2-CH(-NH2)-COOH] üretimi yoluyla gerçekleşir (Gruszka ve ark., 2012). SA'nın mutagenik

etkisi, muamele çözeltisinin asidik pH'sını gerektirir. Serbest bir amino asit grubu, karboksil grubuna kıyasla mutagenik aktivite için hayati öneme sahiptir (Nilan ve ark., 1973; Szarejko ve ark., 2017). β -azidoalanin, genetik materyal ile etkileşime girer ve genomda nokta mutasyonunu indükler (Khan ve ark., 2009). SA, hücresel kalsiyum bağlayıcı protein olan kalmmodulin'in seviyesini düşürme eğilimindedir (Osborn ve Weber, 1980), böylece sinyal iletimini ve hücre bölünmesini etkiler (Action ve ark., 2021).

2.5. Etil Metansülfonat (EMS) Çalışmaları

Greene ve ark. (2003)'na göre EMS, daha yüksek etkinliği ve geniş bir mutasyon spektrumunu indüklemeye yeteneğiyle sıklıkla kullanılan kimyasal mutagenlerdendir. EMS'nin mutagenik etkisi *Drosophila* (Fahmy ve Fahmy, 1957), *Escherichia coli* (Strauss ve Wahl, 1964), arpa (Jafri ve ark., 2012) ve Arabidopsis'te tespit edilmiştir.

Konzak (2004)'a göre bir poliploid bitki türünün herhangi bir hedef genindeki mutasyonların üretilmesi ve tanımlanması için homoeolog veya homolog genomlarının sadece birinde bulunan fonksiyonel bir hedef genin en az bir kopyasına sahip olan bir bitki oluşturulur ve/veya seçilir. Seçilen bitkiden üretilen tohum daha sonra en az bir mutagenik ajan ile muamele edilir, uygulama yapılan tohumlar çimlenir ve bundan üretilen bitkiler hedef gendeki mutasyonlar için taranır. Dolayısıyla, burada ortaya konan buluş konseptleri, uygun herhangi bir poliploid bitkinin herhangi bir hedef genindeki mutasyonları oluşturmak, seçmek ve tanımlamak için kullanılabilir, böylece istenirse melezlemelerde kullanılabilecek sayısız, kolayca tanımlanabilen mutasyon kaynağı elde edilebilir, benzersiz yeni kültür bitki çeşitleri geliştirilir. Önceden belirlenmiş, arzu edilen özelliklere sahip olan neredeyse sınırsız sayıda genetik olarak kontrol edilen yeni fenotiplerin üretilmesi için homolog veya homoeolog hedef genlerin yeni allelleri yeniden düzenlenebilir.

Bashir ve ark. (2013) tarafından çemen otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) tohumları γ -ışınlarına, EMS ve SA maruz bırakılarak tohum çimlenmesi, fide boyu, bitki hayatta kalması ve polen verimliliği incelenmiştir. Çalışmada, mutagenlerin doz artışıyla çimlenme yüzdesi, fide boyu, hayatta kalma yüzdesi ve polen verimliliğinin azaldığını ortaya konmuştur. Sonuçta, γ -ışınlarının EMS ve SA (γ -ışınları>EMS>SA) ile karşılaştırıldığında çimlenme ve hayatta kalma (canlılık) yüzdesi ve fide boyunu azaltmada daha etkili olmuştur. Öte yandan, EMS uygulamaları polen kısırlığını

indüklemeye (EMS>Y-ışınları>SA) γ -ışınları ve SA'ya göre daha etkili olmuştur. Üç mutagenin daha düşük uygulamaları daha az biyolojik hasara neden olmuştur.

Wang ve ark. (2014)'na göre EMS, kararlı ve etkili bir kimyasal mutagendir. Hıyar (*Cucumis sativus* L. cv. Shannong No. 5) tohumları 12 ve 24 s %1 EMS ile muamele edilmiş, EMS mutagenезini optimize etmek için 48 s ve 'Shannong No. 5' için EMS'nin öldürücü dozu (%1 EMS ve 24-s) belirlenmiştir. 24 s %1'lik EMS uygulamasından sonra, fenotip araştırması için serada 541 M1 bitki yetiştirilmiş, M1 hıyarlarının verimliliği çok düşük ve sadece 79 hat kendilemeden sonra tohum üretmiştir. 600 M2 neslinden oluşan 60 ayrı M2 ailesi fenotipik değişim için incelenmiş ve 11 ayrı mutant hat, altı grupta toplanmıştır: Kısa meyveli mutantlar, uzun meyveli mutantlar, küçük çiçekli mutantlar, büyük çiçekli mutantlar ve kümelenmiş yaprak mutantları belirlenmiştir. Mutasyon sıklığı %18.3 olurken, kısa meyveli mutantlar ve kümelenmiş yaprak mutantları seçilmiş, M2 popülasyonlarında 1:3 oranında görülmüştür. Bu oran, iki tür mutantın tek bir çekinik gen tarafından kontrol edilebileceğini, klasik Mendel modeliyle tutarlı olduğu, belirlenmiştir. Uzun meyveli fenotip stabil bir şekilde aktarılmış ve M3 neslinde hiçbir açılma gözlenmemiş olması bu mutant hattın homozigot olabileceğini göstermiştir.

Aswandy ve ark. (2015)'na göre, domates (*Solanum lycopersicum*), tam genomunun varlığından dolayı mutasyonun spesifik genler üzerindeki genetik analiz için primer mutasyonları değerlendirmek için ideal bir model bitkidir. Toplam 78 tohumu %0.5 EMS dozu uygulanarak 50 mutant bitki, genotipik varyasyon taraması amacıyla ISSR PCR tabi tutulmuştur. Tek Nükleotid Polimorfizminin (SNP'lerin) ortaya çıkma sıklığı, NHEX olarak belirlenmiş ve SOL genomik veri tabanından veri referans alınarak tasarlanan gene özgü işaretleyicilerin kullanımıyla DNA dizilimi yoluyla da doğrulanmıştır. Fenotipik varyasyon meyvelerdeki şeker seviyesi ($^{\circ}$ Brix), çiçek, yaprak, meyve morfolojileri, bitki yükseklikleri, kotiledonların sayıları ve mutant bitkilerin stres tepkileri açısından değerlendirilmiştir. Genomik varyasyon, site numarası 147 ve 158 olan Hexokinase kodlama geninde gözlenmiştir. Hem kontrol hem de mutant domates meyvelerinin şeker içeriği, refraktometreyle belirlenmiştir. Mutant meyvelerin yabancı tipe kıyasla nispeten düşük şeker içeriği, heksoz kinazın karbon katabolit baskısında olabileceğini gösterir. Çiçek, yaprak ve meyve morfolojileriyle ilgili fenotipik varyasyonlar da gözlenmiştir. Çalışmanın bir sonraki aşamasında, M2 nesli ve ardından hedef lokuslarda genetik varyasyonun değerlendirilmesi planlanmıştır.

Lu ve ark. (2016) tarafından farklı EMS doz ve uygulama sürelerinin mikrospor gelişimi, embriyo üretim hızı ve fide oranına etkileri beş Çin lahanası genotipinde incelenmiştir. Renkle ilgili dört gendeki mutasyonlar, PCR ürünlerinin yüksek çözünürlüklü erime (HRM) eğrileri kullanılarak tanımlanmış, en büyük embriyo üretimi ve fide oranları, tomurcuklar 5 ila 10 dakika % 0.03 ila % 0.1 EMS muamelesinden elde edilirken, % 0.1'den daha yüksek EMS dozları mikrosporları öldürmüştür. Toplamda 475 mikrospor kültüründen üretilen çift haploitlerin yaprak şekli, rengi, korolla boyutu, çiçek rengi, çiçeklenme süresi ve külleme direncinde belirgin farklılıkları olan 142 mutant tanımlanmıştır. Sonuçta, EMS uygulanan tomurcuklardan elde edilen mikro gözenekli Doubled Haploitlerin, homozigoz Çin lahanası mutantlarını hızlı bir şekilde üretmede etkili bir yaklaşım olarak değerlendirilmiştir.

Jankowicz-Cieslak ve Till (2016)'e göre kimyasal mutagenез, bitki ve hayvanların genomlarında yüksek yoğunlukta yeni bir nükleotit çeşitliliği üretmek için ucuz ve basit bir yol sağlar. Mutagenез bu nedenle fonksiyonel genomik çalışmalar ve ayrıca bitki ıslahı için kullanılabilir. Bitkilerde en yaygın kullanılan kimyasal mutagen, EMS'dir. EMS'nin öncelikle tek baz nokta mutasyonlarını indüklediği gösterilmiştir. Binlerce kalıtsal mutasyon tek bir bitki hattında indüklenebilir. Bu nedenle, çoğu gende zararlı alelleri barındıran popülasyonlar üretmek için nispeten az sayıda bitkiye ihtiyaç vardır. EMS mutagenize bitki popülasyonları fenotipik olarak taranabilir veya genotiplerdeki mutasyonlar fenotipik karakterizasyonun ilerleyişinde (ters - genetik) tanımlanabilir. Kimyasal olarak uyarılmış mutasyonlar kullanan ters etics genetiği, Genomlarda İndüklenmiş Yerel Lezyonları Hedefleme (TILLING) olarak bilinir.

Yadav ve ark. (2016)'na göre mutasyon ıslahı, kültür bitkilerinde genetik değişkenliği zenginleştirmenin etkili bir yoludur. Mutasyonlar fiziksel ve kimyasal mutagenlerle uyarılabilir. Kimyasal mutagenler arasında, alkilleyici madde, EMS, yüksek frekanslı nükleotit ikamelerine, yani nokta mutasyonlarına neden olur. Dolayısıyla, uygulama yapılan bitkilerin minimum ölümü ve yüksek mutasyon sıklığı için yüksek bir doz istenir. EMS'nin LD50 dozu Hint hardalı çeşitlerinin (v. RH-749 ve NRCHB-101) tohum çimlenmesi ve bunun önemli yabani akrabası *Sinapis alba*'lardan birinin çimlenmesine etkileri incelenmiştir. Hint hardalı (*S. alba*) çeşitleri (RH-749, NRCDR-101) için EMS (LD50) dozları 12 saat %0.42, %0.73 ve %0.3 olarak belirlenirken kolza (*Brassica juncea*) için EMS'nin LD50 değeri daha yüksek bulunmuştur.

Hadebe ve ark. (2017)'na göre kimyasal mutagen allelik çeşitliliği potansiyel olarak artırabilir ve vernonya (*Centropalus pauciflorus*) ıslahında genetik erozyona yol açabilir. EMS'nin tohum çimlenmesindeki LD50 dozu, fide büyümesinde minimum azalma ve kontrollere göre ortaya çıkma gecikmeleri azaltacak uygulama süresi, sıcaklık ve dozu 4 vernonya genotipi (Vge-1, Vge-4, Vge-7 ve Vge-10) tohumları üç EMS dozu, üç sıcaklık rejimi ve dört uygulama süresinde incelenmiştir. %50 çıkış zamanı, çimlenme yüzdesi ve fide yüksekliği belirlenmiştir. EMS, genotip, zaman ve sıcaklık etkileşimi önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur. Kaydedilen parametreler Vge-1 için optimum tohum uygulaması, 1 s 35 °C'de h / h % 0.372 EMS olarak belirlenmiştir. Vge-4 için, optimum tohum muamele koşulları, 30 dakika 35 °C'de % 0.372 h / h EMS; Vge-7 için, 30 °C'de 1 saat % 0.372 h / h EMS; Vge-10 için, 30 dakika 32.5 °C'de %0.372 h/h EMS vernonya'da büyük ölçekli mutasyona neden olmak ve hedef mutantları seçmek için en uygun uygulama koşulları olarak belirlenmiştir.

Witt ve ark. (2018)'na göre Teksas'ın yüksek yaylalarında yağışsız periyot genellikle uzun olduğundan bu durum pamuğun (*Gossypium hirsutum* L.) verim ve lif kalitesinde bir düşüşe yol açmaktadır. Kültür pamuğunun, kuraklık toleransı için ıslahında gen havuzlarının aşırı kullanımı nedeniyle düşük genetik çeşitlilik olduğu bilinmektedir. EMS uygulanmış pamukta morfolojik ve agronomik özelliklerin değişimi veya genetik çeşitlilik, farklı sulama rejimlerine tepkileri kuraklık toleransı yönünden değerlendirilmiştir. EMS uygulananlarda istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) farklılıklar çoğunlukla yüksek sulama şartlarında belirlenirken uygulama yapılanların hiçbirisinin verimi önemli düzeyde yükselmemiştir.

Masoabi ve ark. (2018)'na göre kuraklık stresinin üstesinden gelecek mutant üretmek için şeker kamışı kallusuna EMS uygulamıştır. 20 mM ve daha düşük dozların, *in vitro* şeker kamışı bitki rejenerasyon yeteneklerinden ödün vermeden genomik mutasyonları indüklemiştir. Optimum *in vitro* ozmotik seleksiyon, 8 hafta %20 (ağırlık hacim⁻¹) PEG6000'e maruz bırakılan kallus, ardından PEG içermeyen ve somatik embriyo rejenerasyonları sırasında 8 hafta daha PEG seçim süresi ile sona eren kallustan regene edilmiştir. NCo310 şeker kamışı çeşidi kallusu daha sonra 16 mM EMS ile muamele edilmiş, %20 (ağırlık hacim⁻¹) PEG6000'de *in vitro* 18 bitki hayatta kalmıştır. Bu *in vitro* seçilmiş hatlar, kuraklık toleransını doğrulamak için ön sera saksı denemelerinde değerlendirilmiş ve 7 hat seçilmiştir. PEG kullanımı, EMS mutagenezi ve ozmotik basınç için *in vitro* seçimin, su stresıyla başa çıkabilecek geliştirilmiş

morfolojik ve fizyolojik tepkileri olan şeker kamışı mutantlarını geliştirmede başarıyla uygulanabileceği gösterilmiştir.

Fischer ve ark. (2018)'e göre dar yapraklı lupin (NLL) olağanüstü fonksiyonel özelliklere sahip bir protein ve lif kaynağıdır. Düşük alkaloid içerikler yönünden seçim için NLL germplazmı dardır, bu durum hızlı ıslahı sınırlar. EMS tabanlı bir mutagenizasyon programında, 40000 adet cv 'Boruta' tohumuna EMS uygulanarak bitki boyu, dallanma bakımından çeşitli fenotipik mutant hatları elde edilmiş, iki bölgede 3 yıllık saha çalışmalarında bu hatların üçünün 'Boruta'ya kıyasla verim bileşenlerinde iyileşme belirlenmiştir.

Witt ve ark. (2018)'nin bildirdiğine göre, Teksas'ın yüksek yaylalarında yağış aralığı genellikle uzundur, bu durum pamuğun (*Gossypium hirsutum* L.) verim ve lif kalitesinde bir düşüşe yol açabilir. Kültür pamuğunun, kuraklık toleransı ıslahı için gen havuzlarının aşırı kullanımı nedeniyle düşük genetik çeşitlilik seviyelerine sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada, ilk kez, EMS ile uyarılmış pamuğun muhtemel morfolojik ve agronomik özelliklerindeki değişkenlik ve genetik çeşitlilik, farklı sulama rejimlerine verdikleri tepki, pamuktaki kuraklık toleransını artırmak için değerlendirilmiştir. EMS, birçok model bitki ve ürün türünün DNA'sında nokta mutasyonlarına neden olduğu gösterilen kimyasal bir mutagenizasyon ajanıdır. Uygulamadan popülasyon halinde M1'den M4 nesline üç EMS mutant hattı geliştirilmiştir. Bu popülasyonlardaki genetik değişkenliği veya çeşitlilik ve üstün hatların çoğunu yakalamak için bir seçim şeması uygulanmıştır. 2014-2016 döneminde, bu popülasyonların, çoklu sulama oranlarına yanıt farklılıklarını belirlemek için dört agronomik ve on üç morfolojik özellik temelinde değerlendirilmiştir. Bu özelliklerin analizleri, kontrol ve EMS mutant popülasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p \leq 0.05$) farklılıklar belirlenmiştir; değişkenliğin çoğu yüksek sulama oranında gözlenmiştir. Bununla birlikte, EMS ile muamele edilen popülasyonların hiçbirisi 2016'da ticari çeşitlerden (kontrol) önemli ölçüde ($p \leq 0.05$) daha iyi lif verimi vermemiştir. EMS mutantlarının verim performansı muhtemelen bu çalışmada uygulanan seçimle sınırlandırılmıştır.

Lee ve ark. (2018)'na göre yüksek oleik asit ve düşük linolenik asit veren kolza (*Brassica napus* L.) çeşitlerinin geliştirilmesi, gıda ve endüstriyel uygulamalar için oldukça arzu edilir. Kore tohumluk kolza çeşidi Tamla, EMS ile indüklenen mutagenizasyon için kullanılmış ve tohum yağları, yüksek oleatlı mutantlar için M7 nesline kadar taranmıştır. Ortalama yaklaşık %76 oleik asit içeriğine sahip iki mutant popülasyon

(M7) izole edilmiştir. İki mutant popülasyon ve ebeveyn Tamla bitkileri arasındaki verim bileşenleri, vegetatif aşamadaki mutantların boyutu Tamla'dan biraz daha küçük olurken, farklılık önemli görülmemiştir. Altı yağ asidi desatüraz (dört FAD2 ve iki FAD6) geninin genomik analizleri, mutantlardaki yüksek oleik asit içeriğinin tek gen mutasyonlarının sonucu olduğunu ortaya koymuştur. Altı yağ asidi desatürazından iki gende (dört FAD2 ve iki FAD6) DNA dizisindeki değişiklikler gözlenmiştir. FAD2-2, iki mutantta genin yukarı akış bölgesinde 2-bp'lik bir slime-delesyon sergileyerek ciddi bir şekilde budanmış bir polipeptit (469 aa yerine 57 aa) ile sonuçlanırken, diğer gendeki altı nokta mutasyonları amino asit dizisinde değişikliklerle sonuçlanmamıştır. Bu sonuçlara dayanarak, bir endoplazmik retikulum (ER) oleik asit desatürazı olan FAD2-2, mutantlarda etkilendiği ve kontrol Tamla bitkilerine kıyasla oleik asit içeriğinde %7'lik bir artışa neden olduğu, indüklenen mutantların, yüksek oleik yağlı kolza tohumu çeşitlerinin geliştirilmesi ve tohum yağlarında lipid metabolizmasının düzenleyici çalışmaları için kullanılabileceği bildirilmiştir (Lee ve ark., 2018).

Joshi ve ark. (2019)'nın tarafından iki farklı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşidinde mutagenizin tohum çimlenmesine etkisi EMS %0.05, %0.10, %0.15 ve SA %0.01, %0.02 ve %0.03 dozları uygulanarak incelenmiştir. İki nohut çeşidi BDNG-797 ve BDNGK-798, Ziraat Araştırma Üniversitesi, Badnapur, Dist Jalna'dan toplanmış, bazı morfolojik değişiklikler belirlenmiştir.

Lin ve ark. (2019)'nın bildirdiğine göre *Puccinia striiformis* f. sp. tritici (Pst), dünya çapında en önemli buğday hastalıklarından biri olan şerit pasına neden olan zorunlu bir biyotrofik mantar patojenidir. Mutasyon, patojen popülasyonunda virülans değişikliklerine neden olan ana mekanizmalardan biri olarak kabul edilir, ancak deneysel kanıtlar sınırlıdır. Mutasyonun patojen varyasyonu üzerindeki etkisini incelemek için, *Pst* ırklarını farklılaştırmak için kullanılan 18 Yr tek gen hattının avirulent olan *Pst ırkı* PSTv-18'in urediniosporlarını EMS ile muamele ederek 33 mutant izolat geliştirilmiştir. Bu izolatlar, 18 buğday Yr tek gen diferansiyel hat seti üzerinde virülans testi; 19 yeni ırk dahil 24 ırk ve 19 basit sekans tekrarlı 21 çoklu lokus genotipi ve 48 tek nükleotid polimorfizm markörü ile tanımlanmıştır. Mutant izolatların çoğu birden fazla virülans genine sahip ve yabancı tip izolatla karşılaştırıldığında birden fazla marker lokusu değişmiş, bu durum EMS'nin çoklu genom bölgelerinde mutasyonlara neden olabileceğini göstermiştir. Sonuçta, mutasyonun hem avirulans hem de diğer genomik bölgelerde önemli değişikliklere neden olabileceğini göstermiştir. Mutant izolatlar arasındaki farklı virülans sıklığı, ebeveyn izolatta

homozigot veya heterozigot avirulans lokusları veya bazı avirulans lokuslarında nispi mutasyon kolaylığı olduğunu göstermiştir.

Darwish ve ark. (2020)'na göre domates (*Solanum lycopersicon*), büyüme, meyve verim, kalite ve miktarı için önemli sınırlayıcı faktörler haline gelen birçok biyotik ve abiyotik strese etkilenir. Domates halkalı leke virüsü (ToRSV), Nepovirus cinsinin en yıkıcı üyelerinden biri olarak kabul edilir ve dünyanın birçok yerinde yayılım gösterir ve domates, tütün, asma, elma, şeftali, kiraz, kayısı, ahududu gibi otsu ve odunsu türleri enfekte edebilir. SA ve EMS'nin iki domates çeşidinde (ToRSV) direnci üzerindeki etkisi, ISSR moleküler yöntemle karakterizasyonu incelenmiştir. ToRSV, enfekteli domates, asma ve sardunya bitkilerinden izole edilmiş DAS-ELISA kullanılarak tespit edilmiştir. Domates tohumları, sırasıyla dört farklı SA (1.0, 2.0, 3.0 ve 4.0 mM) ve EMS (%0.3, %0.4, %0.5 ve %0.6) dozlarıyla muamele edilerek bir doku kültürü ortamına ekilip ELISA yöntemiyle ToRSV'ye karşı direnci kontrol edilmiştir. ToRSV, 6 familyaya ait 11 bitki tür ve çeşidinden üçüne mekanik olarak bulaştırılmıştır. 2 aile DAS-ELISA ile negatif sonuç vermiş ve semptom sergilememiştir. Farklı SA ve EMS dozlarıyla muamele edildiğinde, her iki kimyasalın da yüksek dozları bitkiciklerin ölümüne yol açmış, 3.0 ve 4.0 mM SA ve %0.4, %0.5 EMS dozları, 1mM ve 2mM SA dozlarına göre ToRSV semptomu göstermemiş ve EMS'nin %0.3 uygulaması semptom göstermiş ve ELISA ile pozitif sonuç vermiştir. EMS (%0.4) ile muamele edilen domates cv. CR ve 3mM SA ile muamele edilen domates cv. SSB, 98-A ISSR primeri ile 3 benzersiz fragman ortaya çıkarmış, SSB cv'de 3 benzersiz fragman ortaya çıkmıştır. 98-B ISSR primerli 3mM SA uygulaması ve E-9 ISSR primeri, EMS (%0.4) ile muamele edilmiş cv CR içinde 6 fragman ortaya çıkarmıştır. 3mM dozunda SA ve %0.4 konsantrasyonda EMS, domateste ToRSV'ye dayanıklılıkta en yüksek etkiyi vermiş ve üretilen bitkiler üzerinde zararlı bir etki olmaksızın ISSR PCR reaksiyonunda farklı benzersiz fragmanlar vermiştir.

Sofia ve ark. (2020) tarafından iki manş fasulyesi WGG-42 ve LGG-460, çeşidinin tohumlarına γ radyasyonu (200, 300, 400, 500 ve 600 Gy), EMS (%0.2, %0.3, %0.4, %0.5 ve %0.6) ve SA (1 mM, 2 mM ve 3 mM) uygulanarak fide çıkışı (%), fide canlılığı (%), fide yüksekliği (cm), polen verimliliği (%) ve M1 neslinde tohum verimine (%) etkileri incelenmiştir. Her iki kimyasal mutagenin doz artışıyla fide çıkışı (%), fide canlılığı (%), fide boyu (cm) ve polen verimliliği (%) azaldığı, azalmaların SA uygulamalarında daha belirgin olduğu, ardından EMS ve γ -ışını uygulamalarında

gözlendiği, WGG-42 çeşidinin LGG-460 ile karşılaştırıldığında mutagenlere daha hassas olduğu belirlenmiştir.

Lohaus ve ark. (2020)'nin bildirdiğine göre *Camelina sativa* L. Crantz (büyük tohumlu yalancı keten), yemeklik yağ ve biyodizel üretimi için umut vadeden bir yağlı tohum bitkisidir. Rutenyum Kırmızısı (RR) kolorimetrik boyamayla tohum kabuğu müsilağı (SCM) içermeyen *C. sativa*'nın bir EMS mutanı belirlenmiştir. Yabani tip (WT) bitkilerle karşılaştırıldığında, müsilağ kusurlu mutant hat (Cs98) daha küçük tohumlara ve önemli ölçüde daha az SCM'ye sahip tohumlara sahipken önemli ölçüde daha uzun bitki boyu sergilemiştir. Cs98 tohumlarının tohum kütlesi ve yağ içeriği, WT bitkilerinininkinden önemli ölçüde daha düşük bulunurken, Cs98 tohumları önemli ölçüde daha yüksek ham protein ve nişasta içeriğine, ancak önemli ölçüde daha düşük nötr deterjanda çözünür lif (NDSF) fraksiyonuna (pektin) sahip olmuştur. Cs98 tohumu, çeşitli makro ve mikro mineraller (örn., Mg, S, Al, Cu, Mn, Fe ve Zn) için önemli ölçüde daha yüksek mineral içerirken, bu büyük farklılıklar, Cs98 tohum biyodizelinin makro ve mikromineral içerik, viskozite, pH ve bulanıklık için malzeme standartları bakımından tüm American Society for Testing (ASTM)'i geçmesini engellemiştir. Özellikle, Cs98'den türetilen yağ ve biyodizel, WT ile karşılaştırıldığında viskoziteyi önemli ölçüde azaltmıştır. WT ve Cs98 tohumundan elde edilen yağın suyla yıkanması, Cs98'in WT yağlı yıkamalarının müsilağ içeriğinin sadece %57'sini içermesiyle doğrulanmıştır.

Daurova ve ark. (2020) tarafından izole edilmiş bir mikrospor kültüründen elde edilen kolza tohum embriyoları, bir saat farklı dozlarda EMS ile muamele edilerek kolza tohumu çeşitlerine göre gelişmiş verim, tohum rengi ve tohum yağ asidi bileşimi dahil olmak üzere arzu edilen nicel özelliklerde çift haploit mutantlar (DHm) elde edilmiştir. Elde edilen DHm M2 tohumlarının yağ asidi kompozisyonunun analizi, donör çeşitlere (%66.0) kıyasla oleik asit yüzdesinde %75.4'e kadar önemli bir artış göstermiştir. Elde edilen DHm kolza bitkileri, bitki başına verim ve 1000 tohum ağırlığı donör çeşitlerden fazla bulunmuştur. Kalitatif ve kantitatif analizlere göre, en iyi göstergeler, 12 mM EMS dozunu uygulamasıyla sağlanmıştır.

Pour ve ark. (2021) tarafından Kırık ekmeklik buğday çeşidinde EMS'nin 5 [0 (kontrol), %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4] dozu ve 4 uygulama süresinde [kontrol (10 dakika), 1 s, 2 s ve 3 s] incelenmiştir. Elde edilen verilere göre, EMS'nin uygulama süresi uzadıkça çimlenme ile ilgili karakterlerde genel bir azalmaya neden olduğu görülmüş, sürgün boyunun 3 saatlik uygulamada kök kuru ağırlığı ve sürgün kuru

ağırlığının ise 6 s uygulamada kontrole göre daha yüksek olduğu saptanmış, doz ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise kök uzunluğunun %0.1, %0.2 ve %0.3'lük dozlarda; kök kuru ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığının %0.3'lük dozlarda kontrole göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. EMS'nin birçok karakteri olumlu yönde etkilediği, dolayısıyla kontrole göre artışa neden olduğu, ancak uygulanan süre ve konsantrasyonlara göre lethal doz (LD50) değerleri belirlenememiştir.

Cao ve ark. (2020) Çin'de hızla büyüyen ve ekonomik açıdan önemli bir kereste ağacı türü olan Chinese fr (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook), inşaat, mobilya ve kâğıt imalatında yaygın olarak kullanılmakta olup uzun bir üreme döngüsüne sahiptir. EMS ve SA gibi kimyasal mutagenler pirinç, buğday, pamuk, soya fasulyesi ve şeker kamışı gibi kültür bitkilerde yaygın olarak kullanılmakta, ancak bunların ağaç ıslahındaki faydaları bilinmemektedir. Yapılan çalışmada EMS ve SA'nın Çin fr tohum çimlenmesi ve büyümesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çin fr tohumları iki kimyasal mutagen ile muamele edilip Çin'in Fujian Eyaleti, Jiangle İlçesine dikilmiş ve 2011'den 2017'ye kadar boyları ölçülmüştür. İki kimyasal mutagen ile muamele doz ve süreleri, Çin fr fidelerinin hayatta kalma oranını ve fide aşamasından 3 yaşına kadar ağaçların yüksekliklerini önemli ölçüde etkilemiştir. Ayrıca anormal dallara ve üreme büyümesine sahip 127 mutant üretilmiştir. Verilerin ormancılıkta EMS ve SA'nın faydasına ilişkin bilgilere katkıda bulunacağı bildirilmiştir.

Dlamini ve ark. (2020)'nin bildirdiğine göre, Güney Afrika'da şeker kamışı üretimi kuraklık stresi nedeniyle sınırlanmakta olup iklim değişikliğinin stres etkisini artırması beklenmektedir. Su stresli koşullarda yetiştirmeye uygun çeşitler geliştirmek için sınırlı araştırma yapılmaktadır. EMS uygulamalarının mannitol kaynaklı ozmotik strese dirençli kallus ve bitkicikler üretimine etkisi, morfolojik ve fizyolojik özellikler incelenerek çalışılmıştır. Şeker kamışı kallusuna, 0.5, 1, 2 ve 3 s EMS uygulanmıştır. Optimal seçim öldürücü dozları belirlemek için, kallus, karanlık ve aydınlık koşullarda sekiz hafta 0, 150, 225 ve 300 mM mannitol içeren ortamda kültürlenmiştir. Yarım ve bir saatlik kuluçka süreleri, kallus büyümesi ve bitki rejenerasyon yeteneklerini engellemeden genomik mutasyonlara neden olmuştur. EMS uygulanan kallus, ozmotik strese maruz bırakıldıktan sonra iki hafta iyileşme döneminden sonra kontrole karşılaştırıldığında, daha beyaz, kompakt ve sarımsı ufalanabilir bir dokuya sahip olmuştur. Bir saat maruz bırakılan kallus, 225 ve 407 mM mannitol stresinin ardından bitkicikler toparlanıp yenilenebilmiştir. Bununla birlikte, iki saatlik kuluçka süresi ve üzeri bodur ve albino bitkiciklerle sonuçlanmıştır. Seçim için LD50 ve LD90, 225 ve

407 mM mannitol olarak hesaplanmıştır. Mannitol kullanılarak ozmotik stres için EMS mutagenezi ve *in vitro* seçim, su stresine çok kısa sürede daha iyi morfolojik ve fizyolojik tepkiler veren şeker kamışı bitkiciklerini seçmek için başarıyla kullanılabilir bulunmuştur.

Yong ve ark. (2021)'nın bildirdiğine göre, EMS ticari olarak yetiştirilen kültür bitkilerinin yeni varyasyonlarının geliştirilmesi için kullanılmıştır. Genel yaklaşım, mutagenin ölümcül olmayan dozlarda uygulanması ve ardından morfometrik karakterizasyona dayalı yeni fenotiplerin seçimidir. Domates (*Solanum lycopersicum*) üzerinde %0.5'lik EMS'nin etkileri incelenmiştir. Mutantlar, fenotipik farklılıklara göre seçilmiş, ardından NRP2 (RNA polimeraz II), HKX (heksokinaz), P2D1 (fotosistem II D1), NEXP (expansin), PHYSN (fitoen sentaz), PCANH (karbonik anhidraz) gibi dokuz spesifik gen, NAGO (argonaute), PRUB (RuBisCO) ve NGAG (gag-pol) polimeraz zincir reaksiyonu ile izole edilmiş ve mutasyonları tespit için dizilendiğinde altı genin: NRP2, HKX, P2D1, NAGO, NGAG ve NEXP'nin dönüştürülmüş amino asit dizisini değiştiren mutasyonları belirlenmiştir. Buna ek olarak, çok çeşitli fenotipik farklılıklar gözlenmiştir. Seçilen genlerin seçim baskısı altında olduğu ve kimyasal mutagenlere maruz kalma sırasında genetik stabilitenin korunmasında tanımlanmamış fizyolojik süreçlerin rol oynayabileceği öne sürülmüştür.

Action ve ark. (2021) tarafından EMS uygulanan *Nigella sativa* L.'nin seyrek dallanan bir mutantının M2 neslinde sitomiksis tespit edilmiştir. Sitomiksisin varlığı, yalnızca mayotik bölünmenin profaz-I hücrelerinde sınırlandırılmıştır. Bir polen ana hücresinden (PMC) bitişik PMC'lere nükleer materyallerin transferi, PMC'ler içinde tesadüfi ve belirli bir yönde gerçekleşmiştir. Sitomiksis, anöplid ve poliploid PMC'lerin oluşumuyla sonuçlanmıştır. Mutant bitkide multivalentlerin olmaması, bu materyalde kromozom eşleşmesinden sonra migrasyonun başladığını göstermiştir. Polen verimliliği mutantta azalmış (%6.74), ancak seyrek dallanma mutantında normal tohum oluşturma etkilenmemiştir. Biri trizomik olan mutantın kendilenmesini takiben M3 popülasyonu bireylerinde %0.65'lik aneuploidler tespit edilmiştir. Trisomik bitkilerin muhtemelen normal ve anöplid gametlerin birleşmesiyle oluşan ikincil sitomiksin sonuçları olacağı ileri sürülmüştür.

Unan ve ark. (2021)'na göre, transgenik olmayan kimyasal mutagen EMS, mutasyonlar oluşturmak ve bitkilere yeni bir genetik yapı kazandırmak için önemli bir araçtır. Önceden ıslatılmış (0, 6, 12 ve 24 s) pirinçte dört (%0.0, %0.5, %1.0 ve %2.0) EMS dozu ve dört (6, 12, 24 ve 48 s) uygulama süresi denenmiştir. Çimlenme oranı,

plumula ve kök uzunluğu, fide canlılığı, LD50, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu ve taze fide ağırlığı değerlendirilmiştir. 12 saatlik bir ön ıslatma süresi, %0.5 EMS dozu ve altı saatlik EMS maruziyeti optimum mutant bitki sayısı için (1) Ön ıslatma: 12 s, (2) EMS uygulaması: %0.5 EMS dozu 6 s, (3) Son yıkama: 6 s, (4) Kuruma: 38 °C'de 72 s en iyi sonucu veren uygulamalar olarak belirlenmiştir.

Sharafi ve ark. (2021) tarafından farklı büyüme hormonlarının aracılık ettiği kallus indüksiyonu ve regenerasyonunun yanı sıra kolhisin, EMS ve γ -radyasyonunun *Impatiens walleriana*'nın bazı özelliklerine etkileri incelenmiştir. *Impatiens*, Balsaminaceae süs familyasının üyesidir. Bu bitki çoğunlukla vegetatif çoğaltılır, bu da genellikle zaman kaybına neden olur, tohumla çoğaltma F1 tohum kısırlığı nedeniyle engellenir. *Impatiens walleriana*'nın *in vitro* kültürü, sağlıklı ve hastalıksız bitkilerin yararlı özellikleri ve ortaya çıkması ile hızlı çoğaltmada çok önemli bir işleve sahiptir. Yapılan çalışmada, ortam ve farklı hormonların *Impatiens walleriana*'nın *in vitro* üremesi üzerindeki etkisini tesadüf parselleri deneme deseninde incelenmiştir. MS ortamı, çeşitli BAP, TDZ ve ZEA dozları birlikte hazırlanmıştır. Kallus, 0.5 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP ile desteklenmiş ortamda iyi bir şekilde indüklenmiş ve büyümüştür. Çoğaltma için eksplantlar, NAA ile kombinasyon halinde BAP, ZEA ve TDZ içeren aynı ortamda kültürlenerek organogenez uyarılmıştır. Sonuçta, kontrol sürgün yüzdesi, sürgün sayısı, yaprak sayısı, sürgün uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık gibi özelliklerde en düşük bulunmuş ve 0.5 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP uygulamasında maksimum çoğalma sağlanmıştır. En yüksek kök uzunluğu ve köklenme yüzdesi 0.5 mg L⁻¹ IBA + 0.5 mg BAP'ta gözlenmiştir. Ayrıca mutasyon ajanlarının etkisi de incelenmiştir. Aseptik numuneler, büyüme odasında γ -ışınlama, EMS ve kolhisinle muamele edilmiştir. Sırasıyla 30 ve 60 Gy uygulamaları daha düşük canlılık oranı, büyüme oranı ve poliploidi gösterirken, %0.1 ve %0.2 kolhisin en yüksek sonuçlar vermiştir. Bunlarla ilgili olarak, mevcut teknik, *Impatiens walleriana*'nın hipokotil kültürlerinin *in vitro* çoğaltılması için etkili yöntemi oluşturmuştur. Ayrıca kolhisinin bu bitkiciklerde poliploidi indüksiyonunda etkili bulunmuştur.

Eswaramoorthy ve ark. (2021)'nın bildirdiğine göre, börülce, kendine tozlanan doğası nedeniyle değişkenlikten yoksun bir kültür bitkisidir. Uyarılmış mutasyon, kültür bitkilerinde değişkenliğin uyarılmasında potansiyel bir kaynak olarak hizmet eder. Öte yandan, mutagenlerin etkinliği ve verimliliği türler ve hatta çeşitler arasında farklılık gösterecektir. Yapılan çalışmada, yaygın olarak kullanılan mutagen γ ışınları (fiziksel), EMS (kimyasal) ve birlikte ilk kez yeni bir mutagen elektron ışını börülcede

kullanılmıştır. M1 neslinde sekiz kantitatif karakter ve M2 neslinde klorofil mutantlarında biyolojik hasarlar kaydedilmiştir. İki popüler çeşit, yani P 152 ve VBN 1, çalışmanın biyolojik materyalini oluşturmuştur. Kantitatif karakterler üzerindeki biyolojik hasarın azalma oranı, kullanılan çeşit ve mutagenlerden bağımsız olarak mutagen dozuyla doğru orantılı bulunmuştur. Fiziksel mutagenler, kimyasal mutagene (EMS- %30.4) kıyasla en yüksek biyolojik hasara (kontrolden EB- %37.5 ve G- %37.3 toplam azalma) neden olmuştur. Benzer dozlardaki fiziksel mutagenler karşılaştırıldığında, 200 Gy veya 300 Gy elektron ışını, 200 Gy veya 300 Gy γ -ışınlarından daha fazla biyolojik hasar göstermiştir. M2 neslinde 11 farklı tipte klorofil mutantı tanımlanmıştır. En çok klorofil mutantı ksanthada meydana gelmiş (%44.44), aurea ve sarı viridiste ise en az oluşmuştur. EMS, klorofil mutantlarına göre en etkili (%6.47) ve verimli mutagen (%27.09) olarak kabul edilirken bunu elektron ışını ve γ ışınları izlenmiştir. Fiziksel mutagenler arasında elektron ışını, γ -ışınlarına (%1.87 ve %13.38) kıyasla en yüksek biyolojik hasara (kontrolden genel olarak %37.50 azalma) neden olmuştur. Dolayısıyla elektron ışını, oldukça etkili, daha az maliyetli ve güvenli mutagen olduğu için börülce ve diğer kültür bitkilerde varyasyon yaratmada etkili bir mutagen olarak kullanılabilir bulunmuştur.

Shi ve ark. (2021)'nin bildirdiğine göre, adi fiğ (*Vicia sativa* L.), yem ve örtü bitkisi olarak kullanılan bir baklagil bitkisidir. Yapılan çalışmasında tohum çimlenmesi ve çıkış oranı, fide büyümesi ve EMS dozu ve uygulama süresi kombinasyonlarını içeren anormal bitki yüzdesi analizine dayanan bir EMS mutasyon protokolü oluşturulmuştur. Adi fiğ tohumlarına 9 ve 12 s %0.1 EMS veya 6 ve 9 s %0.5 EMS uygulanarak mutasyon uyarılmıştır. Yabani tip adi fiğ, kışın antosiyanin birikimi ile kırmızı renk göstermiş ve antosiyanin birikiminin (A+ olarak etiketlenmiş) ve antosiyanin birikimi olmayan (A- olarak etiketlenmiş) ayrımını gösteren iki hat, tarlada EMS ile indüklenen M2 bitkilerinden seçilmiştir. Yeşil renk gösteren A- bitkileri, kış döneminde A+ bitkilerinden daha yüksek bitki boyu ve taze sürgün ağırlığına sahip olmuş, dondurma işleminden sonra daha düşük iyon sızıntısı belirlenmiş, bu da yeşil mutantların (A-) soğuğa toleransının arttığını göstermiştir. A+ bitkileri ile karşılaştırıldığında, yeşil mutantlar, düşük sıcaklık işlemine yanıt olarak askorbat (AsA) seviyesini önemli ölçüde artırmıştır. Sonuçta, düşük sıcaklıkta artan AsA seviyesinin, yeşil mutantlarda artan soğuk toleransı ile ilişkili bulunmuştur.

Unan ve ark. (2021)'na göre, transgenik olmayan kimyasal mutagen uygulaması, özellikle EMS, bitkiler için mutasyonlar oluşturmak ve yeni bir genetik yapı kazanmak

için önemli bir yöntemdir. Birkaç bitkide şiddetli mutasyonla çalışmak yerine yeterli sayıda mutant bitki elde edilmesinde fayda vardır.

Rajdev ve ark. (2022)'nin bildirdiğine göre, buğday (*Triticum aestivum* L.) en önemli kültür bitkilerinden birisi olup tüm dünyada yaygın şekilde kullanılmaktadır. EMS, nükleotid dizisini değiştirerek buğdayda genetik değişkenliğin yaratılmasına yardımcı olur. Bu sayede tane verimi artar ve ayrıca hastalıklara, biyolojik hasarlara ve birçok stres koşuluna karşı direnç sağlar. Kimyasal mutagen EMS, γ -ışınlarından daha etkili ve kullanımı fiziksel mutagenezden daha kolay ve ucuzdur. Bu nedenle, kimyasal mutagen EMS, mutasyon süreci için en iyi mutagen olarak kabul edilir. EMS, yüksek frekanslı mutasyonun meydana getirmesi ve buğdaydaki değişikliklerin hızla gerçekleşmesi nedeniyle nokta mutasyonu sağlar. EMS, agronomik özelliklerin iyileştirilmesi, elit germplazm ve kromozomal sapmaların taranmasında kullanılır. EMS, buğday ıslahı için genetik varyasyonu geliştirmek için kullanılır. EMS ayrıca buğdayda erkek kısırlığına neden olur. Hidroliz yoluyla kolayca atılabilir, bu nedenle ıslahçılar için daha iyi bir seçenektir ve aynı zamanda çevre dostudur, bu yüzden daha çok tercih edilir. EMS, DNA'nın değişime neden olduğundan genetik bir mutasyona neden olur, böylece değişiklikler nesillerde korunur ve yüksek kaliteli verim sağlar. Buğdayda EMS'nin mutagenik etkisi, ıslah programlarının iyileştirilmesi ve daha iyi sonuçlar için önemlidir.

Nair ve Gayathri (2022)'nin bildirdiğine göre, mutasyon ıslahı, değişkenlik yaratmak için önemli bir araçtır ve yeni ıslah materyallerinin kaynağıdır. EMS çok güçlü bir kimyasal mutagendir. Çalışmada, yemlik börülce için mutagen dozlarının optimizasyonu ve M1 neslinin analiz edilmiştir. Yem börülce tohumları farklı konsantrasyonlarda EMS (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4 ve %0.5) ile muamele edilmiş ve probit analizi kullanılarak öldürücü doz (LD50) değeri belirlenmiştir. Etkin dozlar LD50 değerine göre belirlenmiştir. M1 analizi, etkili mutagen dozları ile uygulama yapılan börülcelerde gerçekleştirilmiştir. Fide sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, canlılık indeksi gibi çimlenme parametreleri ve bakla/bitki sayısı, bakla uzunluğu gibi nicel karakterler, tohum/bitki ve tohum verimi/bitki sayısı ve klorofil mutantlarının varlığı M1 neslinden kaydedilmiştir. Tüm biyometrik karakterler, mutant popülasyon arasında geniş çeşitlilik göstermiştir. Mutasyona uğramış tüm popülasyonlarda klorofil mutant bitkiler gözlenmiştir. EMS uygulamasının %0.51'inde klorofil mutantları tespit edilmiştir. Genel olarak, mutagen dozunun artmasıyla nicel parametrelerde bir azalma kaydedilmiştir.

2.6. Triploit Asma Islahı Çalışmaları

Triploit hücreler üç tam kromozom setine sahiptir ve $3n$ olarak adlandırılır. Mayoz bölünme gerçekleştiğinde, $2n$ ve n gamet elde etme olasılığı sadece $(1/2)x^{-1}$ 'dir (Su ve ark., 2012). Bazı kromozom sayıları için $x > 8$, bu olasılık %1 oranında azalır (Su ve ark., 2012). İndirgenmemiş gametlere ($2n$ gamet) sahip bir ebeveyn ile başka bir diploit ebeveyn arasındaki melezleme triploit oluşumunun tipik yoludur. Hem $2n$ megagametofit hem de $2n$ mikrogametofit hem yabani hem de kültüre alınmış melez ve melez olmayan türlerde görülür. Somatik füzyona ek olarak triploitlerin oluştuğu dört mekanizma vardır. İndirgenmemiş gametlere sahip dişi ebeveyn triploit bitki oluşumunda özellikle önemli bir rol oynar (Ramsey ve Schemske, 1998). Normal diploit bitkilerde mayoz bölünme sırasında bazen hatalar meydana gelir ve kromozomlar yavru hücrelere düzgün bir şekilde ayrılamaz. Böyle indirgenmemiş bir $2n$ gamet normal, haploit bir gametle birleşebilir ve triploit bir bitkiye dönüşebilen triploit bir zigotla sonuçlanabilir (Wang ve ark., 2016).

Yüksek kalitede iri çekirdeksiz tanelerin üretimi sofralık üzüm ıslah programlarının en önemli hedeflerinden biridir. Ticari çekirdeksiz çeşitlerin neredeyse tamamı, döllenme ve ardından embriyo kurtarma yoluyla fideleri oluşturan stenospermokarpik çeşitlerdir. Her ne kadar stenospermokarpik çeşitler diploit partenokarpik çeşitlerden daha büyük taneler üretse de yüksek partenokarpik yeteneğe sahip yeni çeşitlerin ıslahı, stenospermokarpi olmadan çekirdeksiz taneler oluşturmak için yararlı olabilir. Son zamanlarda birçok araştırmacı yeni triploit çekirdeksiz çeşit ıslah etmeye çalışmaktadır (Hiramatsu ve ark., 2003). Triploitlerde doğurganlık çok düşük olduğundan, ebeveyn bitkilerdeki yüksek partenokarpik yetenek, yüksek tane tutumu ve dışsal gibberellin uygulanmadan çekirdeksiz tanelerin büyümesi için bir anahtardır. Sekiz diploit ve dört Tetraploit üzüm çeşidi üzerinde yapılan bir çalışmada (Sarikhani ve Wakana, 2006a) tozlaşma, normal tozlaşmama (NP), bir triploitin fonksiyonel olmayan polenleriyle tozlaşma (PT) ve açık tozlaşma (OP) olmak üzere üç teknikle yapılmıştır. Bir triploitin fonksiyonel olmayan polenleriyle yapılan bu tozlaşmada 'Muscat Bailey A' üzüm çeşidinde yüzde 73.1 oranında partenokarpik tane elde edilmiştir.

Zeilinga ve Schouten (1968), *Tulipa* spp. (Bahçe lalesi) üzerine yaptıkları çalışmada, Tetraploit elde etmek için N_2O yönteminin, diploitler ve triploitler arasındaki melezlerden daha fazla başarı sunduğunu belirtmişlerdir.

Chunyun ve ark. (1998) tarafından yapılan melez asma ıslahı çalışmasında dişi ebeveyn olarak diploit çekirdeksiz üzüm ile erkek ebeveyn olarak Tetraploit çekirdeksiz üzüm çeşidi melezlenmiştir. Anterlerin kesilmesi ve tozlanma şeklindeki genel ıslah yöntemine dayalı olarak, melez genç embriyolar, tozlanmadan sonraki 35 ila 55 gün arasında embriyo kurtarma teknikleri kullanılarak farklı besi yerlerine aktarılmıştır. Yedi melezleme kombinasyonu oluşturulmuş ve sistematik olarak beş melezlemeden on dokuz embriyo ıslah fidesi elde edilmiştir. Kök ucu kromozom sayımına göre, iki melezlemeden elde edilen fidelerin triploit olduğu kök ucu kromozom sayımıyla belirlenmiş, üç yıllık ıslah çalışması sonucunda iki triploit üzüm varietesi geliştirilmiştir.

Shicheng ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada, diploit çekirdeksiz üzüm Himrod ve Canadice (*Vitis vinifera* × *Vitis labrusca*) bir tetraploit polen ebeveyni Kyoho (*V. vinifera* × *V. labrusca*) ile melezlenmiş ve *in vitro* yumurtalık kültürüyle hibrit triploit bitkiler elde edilmiştir. Hayatta kalan embriyoların ve regene bitkiciklerin oranları sırasıyla %3.0-%8.3 ve %0.5-%5.0 aralığında olmuştur. Diploit × tetraploit melezlemelerden elde edilen bitkiciklerin kök ucu hücreleri 57 kromozoma sahip bulunmuştur. Yumurtalık kültürüyle elde edilen bitkiler bağda döl testi için dikilmiştir. 1995 yılında beş bitki çiçek vermiş, ancak hiçbir meyve vermemiştir. Çiçek salkımına tam çiçeklenme aşamasında ve çiçeklenme sonrası aşamada 25 mg L⁻¹ GA uygulanarak iyi dolgun üzüm salkımları elde edilmiştir.

Bessho ve ark. (1999)'na göre, triploit çeşitlerin çekirdeksizlik ve erken olgunlaşma gibi çeşitli avantajları vardır. Tetraploit ve diploit çeşitler arasındaki melezlemelerden elde edilirler. Bu tür melezlemelerden elde edilen düşük triploit tohum verimine rağmen, birkaç triploit çeşit geliştirilmiştir. 'Summer Black' çekirdeksiz, çekici, koyu mor siyah bir üzüm çeşididir. 'Kyoho' × 'Thompson Seedless' melezlenmesinden türetilen bir triploittir. 'Summer Black', 'Kyoho'dan 7 ila 12 gün önce, ağustos başında olgunlaşır.

Park ve ark. (1999) tarafından olgunlaşmamış tohum kültürü ve müteakip embriyo kültürü yoluyla, anöploit bitkiler, 184 farklı triploit hibrit asma arasındaki çeşitli melezlerden türetilmiştir. 184 asmanın kendi kendine tozlaşmasında, çiçeklerin %0 ila 1.6'sı olgunlaşmamış tohumlar üretmiştir. Diploit ve triploit ve Tetraploit ve triploit asmalar arasındaki 16 karşılıklı melezlemede, çiçeklerin %0 ila 23.0'ü olgunlaşmamış tohumlar üretmiştir. Tozlanmadan 30-50 gün sonra alınan olgunlaşmamış tohumlar, L-glutamin, L-serin, L-sistein ve kazein hidrolizat ile takviye

edilmiş Nitsch ve Nitsch ortamında üç ay kültürlenmiştir. Kültürlenmiş olgunlaşmamış tohumlar içinde gelişen embriyolar, 1 μ M BA içeren MS ortamından oluşan çimlenme ortamında alt kültürlenmiştir. 458 olgunlaşmamış tohumdan alınan 137 embriyonun 34'ü çimlenmiş, 34 embriyonun beşi normal olarak büyümüş, geri kazanılan beş bitkinin, kromozom sayıları 51 ila 59 arasında olan anöploitler olduğu belirlenmiştir. Embriyo ve bitki geri kazanım oranları, triploit üzümlerle yapılan farklı melezlemelerde farklı ulunmuştur.

Park ve ark. (2002) tarafından anöploit asmalar üretmek için, $2x \times 4x$ ve $4x \times 2x$ melezlemelerinden elde edilen 187 triploit melez bitki kullanılarak triploit üzümlerdeki erkek ve dişi doğurganlık düzeyi incelenmiştir. Triploit bitkilerde agar besi yerinde incelenen polen çimlenme oranları %0 ile %5.88 (ortalama: %0.24) arasında değişmiştir. 187 triploit bitkinin 86'sında polen tanelerinin hiçbirisi çimlenmemiştir. $3x \times 2x$ ve $3x \times 4x$ melezlerinde, %1'den fazla polen çimlenme oranı gösteren 10 triploit bitki sırasıyla 7692 tozlaşmadan 191 tohum ve 3862 tozlaşmadan 109 tohum üretirken, hiç polen çimlenmesi görülmeyen 10 triploit bitki 5282 melezlemeden 98 tohum ve 5293 tozlaşmadan tozlaşmadan 141 tohum üretmiştir. $3x \times 2x$ ve $3x \times 4x$ melezlemelerinde, tohumlara dönüşen yumurtalıkların yüzdesi, farklı triploit melez bitkilerde değişiklik göstermiş, %0.1 ila %2.3 arasında değişmiştir. $3x \times 2x$ ve $3x \times 4x$ melezlerinden türetilen 8 anöploit bitkiden biri normal olarak büyümüş, üçü yavaş büyüme oranları göstermiş ve 5 bitki çimlenmeden sonra ölmüştür. Sonuçta, triploit üzümlerde (1) erkek doğurganlık derecesi ile dişi doğurganlık derecesi arasında bir ilişki olmadığı, ancak doğurganlık derecesinin triploit bitkiye özgü bir karakter olduğu, (2) dişi doğurganlığın erkek doğurganlığından biraz daha yüksek olduğunu ve (3) erkek ve dişi doğurganlığı çok düşük, ancak %0.3'ten fazla dişi doğurganlığı olan triploit üzümlerin tohum ebeveyni olarak kullanılması durumunda anöploit bitkiler üretilebileceği bildirilmiştir.

Wakana ve ark. (2003) tarafından az gelişmiş triploit embriyolara sahip abortif tohumlar üretmek için iki diploit ve iki tetraploit üzüm çeşidi arasında interploit melezlemeler yapılmıştır. Gelişmemiş embriyolardan triploit bitkilerin geri kazanılmasını etkileyen büyüme düzenleyicileri, MS ortamı kullanılarak *in vitro* olarak ayrı ayrı incelenmiştir. Besi yerine eklenen altı büyüme düzenleyiciden malt ekstresi ($25-1600 \text{ mg L}^{-1}$), kazein hidrolizat ($20-1500 \text{ mg L}^{-1}$), BA ($0.01-1.25 \text{ mg L}^{-1}$) ve GA3 ($0.1-1 \text{ mg L}^{-1}$) iyileşme üzerinde bariz bir etki gösterirken, IAA ve NAA sırasıyla 0.25 ve 1.25 mg L^{-1} ve 0.01 mg L^{-1} dozlarında küçük uyarıcı etki göstermiştir. İkinci olarak, 1

mg L⁻¹ GA3 ve 100 mg L⁻¹ kazein hidrolizat ile takviye edilmiş MS ortamı kullanılarak embriyo kültürü yoluyla triploit bitkiler üretmek için dört diploit ve dört Tetraploit üzüm çeşidi ile 23 interploit melezleme karşılıklı olarak yapılmıştır. 2x × 4x melezlemelerde, kültürlenene az gelişmiş embriyoların 50 triploit fide üretilirken, resiprokallerdekilerin 33 fide elde edilmiştir. Geri kazanılan toplam 88 fideden 38'i *in vitro* sekonder embriyo oluşumu yoluyla elde edilmiştir. Bu sonuçlardan, interploit melezlemelerden triploit bitkilerin üretim oranlarının embriyo kültürü yoluyla arttığı bildirilmiştir.

Hiramatsu ve ark. (2003) tarafından triploit üzüm ıslahında 'Red Pearl' ve diploit 'Muscat Bailey A' arasındaki bir interploit melezlemeden tohumlar farklı gelişim aşamalarında alınarak embriyo kültürü yoluyla çimlendirilerek büyütülmüştür. Olgunlaşmamış tohumlar 52-56 DAP toplandığında kültürlenmiş tohum başına en yüksek fide geri kazanım oranı %31.5 olmuş, triploit üzüm ıslahına ilişkin mevcut ve yakın tarihli çalışmalarımızdan elde edilen sonuçlar, olgunlaşmamış tohum kültürü ve bunu takip eden embriyo kültürünün, ben düşmeden (tane yumuşama döneminin başlangıcı) bir ila iki hafta önce başlatılan bir kombinasyonunun, triploit üzümlerin verimli üretimi için en iyi yöntem olduğu bildirilmiştir.

Shengjian ve ark. (2005)'na göre, Hongbiao Seedless', Zhengzhou Zaohong' (diploit çekirdekli bir çeşit) × Kyoho'dan (Tetraploit çekirdekli bir çeşit) türetilen triploit çekirdeksiz bir üzüm çeşididir. 1986'da melezlenmiştir. Kyoho'dan 30 gün önce, çok erken olgunlaşır, taneleri iri, mor renkli, etli, yüksek kaliteli, 15.4 °Brix çözünür katı madde içeriğine sahip, hem taze tüketime hem de konserveye uygundur. Verimli, hastalıklara dirençlidir.

Wakana ve ark. (2005) tarafından diploit 'Muscat Bailey A' ve Tetraploit 'Red Pearl' arasındaki melezlemeden elde edilen triploit hibrit üzümlerin meyve kalitesini değerlendirmek için, çiçek salkımları tam çiçeklenme aşamasında bir GA (100 mg L⁻¹) çözeltilisine daldırılmış ve olgunlaşma döneminde incelenmiştir. 'Muscat Bailey A' × 'Red Pearl'den elde edilen 3x melezlerin %55'inde ve karşılıklı olanların %68'inde meyve tutumu gözlenmiştir. GA uygulaması tüm melezlerde meyve tutumu ile sonuçlanmıştır. GA uygulaması olmadan meyve tutumu göstermeyen melezlerin GA uygulanan çiçek salkımları, salkım başına ortalama 67 tane veren salkımlar vermiştir. Tane bağlayan hemen hemen tüm melezlerde GA uygulaması, özellikle GA uygulaması olmadan az sayıda tane geliştirenlerde, salkım başına tane sayısını önemli ölçüde artırmıştır. GA'sız meyve tutumu göstermeyen melezlerde, uygulama, GA uygulanan

salkımlarındaki ortalama tane ağırlığı, ortalama 1.9 g, 1 ila 3 g arasında değişmiştir. GA'sız meyve veren hemen hemen tüm melezlerde, çiçek salkımlarına GA, uygulaması, uygulama yapılmamış çiçek salkımlarındakinden bağımsız olarak tane ağırlığını artırmıştır. Muamele edilmemiş salkımlarda, karşılıklı melezlemelerden birkaç melez tanesinde döllenmiş tohumlar nadiren tespit edilmiş (tane başına <0.3), GA ile muamele edilmiş salkımlarda ise tohumlu tanelerin oranları 0.1 'den daha az az olmuştur. Muamele edilmemiş salkımlarda, karşılıklı melezlemelerden elde edilen melezlerde sıklıkla sert tohum kabuğuna sahip çok sayıda döllenmemiş küçük tohumlar (meyve başına ortalama <0.4 küçük tohum) gözlenmiştir. GA ile muamele edilmiş salkımlarda, her melezdeki küçük sert tohumların oranı, tane başına 0.1 tohumun önemli ölçüde altına düşmüştür. Melezlerin yaklaşık 95 'i, GA uygulanan salkımlarda salkım iskeletinin orta ve düşük derecede odunlaşmasını sağlamıştır. Karşılıklı melezlemelerden elde edilen melezler arasında tane çatlaması nadiren gözlenmiştir.

Sarikhani ve Wakana (2006b)'nın bildirdiğine göre, melezleme olmaksızın Tetraploit üzümlerden hiper- ve hipo-Tetraploit formların ($2n=4x \pm 1$ veya $4x \pm 2$) doğrudan indüksiyonu, canlılıkları ve diğer karakterlerini büyük ölçüde kaybetmeden çekirdekli çeşitlerde çekirdeksizlik oluşturmak için yararlı olabilir. İndüksiyon için, Tetraploit 'Kyoho', $4x$ 'Rozaki'nin kültürlenmiş sürgün uçlarından çoğalan eksplantlar ve 'Kyoho' $\times$ $4x$ 'Rizamato' melezlerinden elde edilen melezler, çeşitli konsantrasyonlarda para-fluorofenilalanin ile takviye edilmiş MS ortamında 30 ve 60 gün boyunca işleme tabi tutulmuş (PFP; $25-150 \text{ mg L}^{-1}$) ve PFP içermeyen köklendirme ortamında yaklaşık üç ay boyunca alt kültürlenmiştir. Kontroldekiler dahil 348 eksplanttan 233'ü hayatta kalmış, hayatta kalan eksplantlardan 208 Tetraploit ($2n=4x=76$), 76 ve 76'dan az kromozomlu hücrelerden oluşan altı miksoptloid ve iki anöptloid bitki ($2n=72$ ve 69) kök uçlarındaki hücrelerinde kromozom gözlemi ile teşhis edilmiş, büyüme ve köklenme göstermeyen 17 eksplantta kromozomal varyasyon tespit edilememiştir. PFP konsantrasyonunun artmasıyla, hayatta kalan eksplantların ve büyüme göstermeyen eksplantların oranları artmıştır. 30 ve 60 gün $75-150 \text{ mg L}^{-1}$ PFP uygulaması, Tetraploit eksplantlardaki birkaç kromozomun ortadan kaldırılmasında etkili olmuştur. Sonuçta, in vitro PFP uygulamasıyla Tetraploit çeşitlerden hiper- ve hipo-Tetraploitlerin somaklonal indüksiyon olasılığı ortaya konulmuştur.

Zhao ve ark. (2006)'nın bildirdiğine göre eski adı 'Hongbiao Seedless' olan 'Champion Seedless', 2003 yılında piyasaya sürülen triploit çekirdeksiz bir çeşittir. Erken olgunlaşan çekirdekli diploit bir çeşit olan *V. vinifera* Zaohong'ın Muscat

Hamburg $\times$ Pearl of Csaba ve Tetraploit *V. vinifera* $\times$ *V. labrusca* Kyoho melezinin melezlenmesiyle geliştirilmiş iri taneli bir çeşittir. Champion Seedless'in agronomik ve biyolojik özellikleri, salkım ve tanelerinin özellikleri, verimliliği araştırılmıştır. Asmalar çok kuvvetlidir. Çin'in Hebei kentinde, Temmuz sonlarında, Kyoho'dan 30 gün önce, çok erken olgunlaşmıştır. Orta-küçük, gevşek salkımları 210 g, yuvarlak taneleri 3.0 g ağırlığındadır. GA3 ve CPPU uygulamaları, bu genotip üzerinde salkım ve tanelerin boyutunu büyütmek için çok etkili olmuştur. Salkımlar iyi dolgun, konik, ortalama 680 g ağırlıktadır. Taneler ortalama 8.5 g, menekşe kırmızısı, orta gevrek etli ve 15.5 °Brix çözünür katı madde içeriğine sahiptir. 31.5 t ha⁻¹ verimle çok verimlidir. Hastalıklara karşı direnç, Kyoho'ya benzemektedir. Taneler hem taze tüketime hem de kabuksuz meyvelerle konserveye işlemeye uygundur. Hem açık havada hem de örtü altındaki dikimde iyi performans göstermiştir. Ploidi seviyesi, FC ve kromozom sayımı ile belirlenmiştir.

Heo ve ark. (2007) tarafından, triploit islahın ilk adımı diploit ve tetraploit üzüm çeşitleri arasında interploit melezlemelerden elde edilen tohumlarda tohum canlılık oranı ve çimlenme yüzdesini belirlemek için üç diploit ve altı tetraploit üzüm çeşidi arasında yapılan melezlemelerden toplam 11015 çiçek tozlanmış ve tohum oluşturma yüzdesi ortalama %21.7 olmuştur. Beş tetraploit ve on iki diploit üzüm çeşidi arasında yapılan melezlemelerde toplam 9107 çiçek tozlanmış ve tohum tutma yüzdesi ortalama %9 olmuştur. 2x $\times$ 4x ve 4x $\times$ 2x melezlerinde, embriyo ve endosperm varlığını yansıtan canlı tohumların sıklığı sırasıyla 71.2 (2.551 tohum) ve %58.7 (603 tohum) olarak belirlenmiştir. 2x $\times$ 4x ve 4x $\times$ 2x melezlerinden elde edilen platin tohumlar, düşük sıcaklıkta muamele edilmiş ve daha sonra çimlenme oranlarını belirlemek için ekilmiştir. 2x ve 4x melezlemelerinden 194 tohum çimlenmiş ve tohum çimlenme yüzdesi ortalama %7.6 olmuştur. 4x ve 2x melezlemelerinden 77 tohum çimlenmiş ve tohum çimlenme yüzdesi ortalama %12.8 olmuştur. Tohum çimlenme yüzdeleri, 4x $\times$ 2x ve 2x $\times$ 4x melezleri arasında fark göstermemiştir. Kök ucu hücrelerinde kromozom sayımı gözleminde, 2x $\times$ 4x ve 4x $\times$ 2x melezlemelerinden elde edilen tüm fidelerin 57 kromozomlu triploit bitkiler olduğunu göstermiştir. 2x $\times$ 4x ve 4x $\times$ 2x melezlerinde, melezlerden elde edilen tohumların çoğunda endosperm mükemmel şekilde gelişmemiştir. İnterploit melezlemelerinden embriyolu tohum sıklığı yüksek olmasına rağmen, düşük çimlenme yüzdesinin nedeni embriyo regenerasyonu olduğu değerlendirilmiştir.

Thomas ve Chaturvedi (2008)'nin bildirdiğine göre triploit bitkiler, diploit benzerlerinden daha güçlü vegetatif büyümeye sahiptir. Bu nedenle, vegetatif kısımların ekonomik olarak yararlı olduğu bitkilerde, triploitler iyi bir kullanıma sahiptir.

Diploitleri ve Tetraploitleri melezleyerek geleneksel triploit üretim yöntemi uzun ve zahmetlidir (Bukhari ve Kour, 2019). Triploit bitkilerin endosperm kültüründen rejenerasyonu (yeniden üretimi), triploit üretimine kolay ve doğrudan bir yaklaşım sağlar (Thomas ve Chaturvedi, 2008).

(Wakana ve ark., 2008) tarafından iş gücünden tasarruf ederek büyük boyutlu taneler üreten çekirdeksiz bir üzüm çeşidi ıslah etmek için, 201 triploit hibrit bitki ilk olarak yedi diploit ve altı Tetraploit çeşitle 24 interploit melezlemeden elde edilmiştir. Muscat Bailey A $\times$ Kyoho melezinden türetilen bir triploit üzüm BK9101 seçilmiş ve "Bea-Kei" çeşit adı verilmiştir. 'Bea-Kei' yüksek erkek ve dişi kısırlığı göstermiş ve düşük partenokarpik yeteneğinden dolayı yaklaşık 2 g'lık küçük boyutlu çekirdeksiz taneler üretmiş, olmakla birlikte, yeterince seyreltilmiş çiçek salkımlarının yaklaşık tam çiçeklenmede 100 ppm GA3 ile bir defalık daldırma işlemiyle, birbirine yapışmış 8-11 g'lık iri taneler oluşması sağlanmıştır. Omcalar yüksek büyüme gücü ve doğurganlık göstermiş ve bu nedenle, büyüme gücünün kontrolü için yaz budaması ve yüksek kaliteli meyve üretimi için çiçek salkımları ve çiçeklerin incilmesi gerekmiştir. Bununla birlikte, salkımların her biri yaklaşık 70 çiçeğe sahip olacak şekilde çiçek salkımı seyreltme gerçekleştirildikten sonra, seyreltilmiş çiçek salkımlarının GA3 uygulamasından sonraki ideal meyve tutumu ve büyüme oranları nedeniyle tane seyreltmesine gerek kalmamıştır. Taneler tarla koşullarında Ağustos sonundan Eylül başına kadar olgunlaşmış ve Ekim ayına kadar asmalarda tane kalitesi bozulmamıştır. Tane, kabuk rengi siyah-mor ve %19-21 °Brix'e sahiptir. 'Bea-Kei'nin kabuğu, tohum ve polen ebeveynlerinininki kadar kaygan olmamıştır. 'Bea-Kei'nin tane eti ebeveynlerden daha sert ve ebeveynlerden daha üstün bir tat sergilemiştir. 'Bea-Kei' çeşidine tam çiçeklenme döneminde GA3 uygulanmasıyla çok yüksek kaliteli çekirdeksiz taneler üreten yeni bir lider triploit çeşidi olarak yüksek potansiyele sahip bulunmuştur. Triploiti, sıklıkla çekirdeksiz çeşit ürettiği için meyve endüstrisinde çok aranır (Aleza ve ark., 2010).

Park (2010) tarafından, triploit üzümlerde giberellik asit ve çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin meyvelerin büyümesi ve kalitesine etkilerini belirlemek üzere streptomisin (SM, 200 mg L⁻¹), mepikuat klorür (MC, 880 mg L⁻¹) ve N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea (CPPU, 2.5 mg L⁻¹) üzüm çeşitlerine uygulanmıştır. Triploit

melez üzüm çeşitlerinin tamamında sadece GA3 50 veya 100 mg L⁻¹ muamelesi dışında tane iriliği ve kalitesinde gözle görülür bir fark olmamıştır. 100 mg L⁻¹ GA3+ 2.5 mg L⁻¹ CPPU uygulaması 'KB0120', 'KN200110', 'KS20015', 'KTS011', 'YRB9803' triploit melezlerde salkım ağırlığı ve tane boyutu artışı sağlamış, 100 mg L⁻¹ GA3+ 2.5 mg L⁻¹ CPPU kombine uygulaması hasadı on gün kadar gecikmiştir. Şeker ve organik asit içeriği, melezlere göre değişmiştir. Toplam şeker içeriğindeki azalma, tüm hibrit üzümler için en yüksek 100 mg L⁻¹ GA3+ 200 mg L⁻¹ SM uygulamasında olmuştur. 100 mg L⁻¹ GA3+ 2.5 mg L⁻¹ CPPU ve tek başına GA3 uygulaması arasında organik asit ve toplam şeker içeriklerinde fark olmamıştır. Sonuçta, 100 mg L⁻¹ GA3 ve 2.5 mg L⁻¹ CPPU kombine uygulamasının, triploit melez üzümlerde yüksek tane kalitesi için faydalı olduğu belirlenmiştir.

Park (2010)'ın bildirdiğine göre, triploit bir üzüm olan 'Cheongyang'da gibberellik asidinin (GA3) hem konsantrasyonunun hem de uygulama süresinin tane kalitesi üzerindeki etkilerini incelenmiştir. İlk deneme, optimum GA3 konsantrasyonunu (0 (su), 25, 50 ve 100 ppm) belirlemek için yapılmış ve çiçekler tamamen açıldıktan sonra uygulama yapılmış ve nihai tane özellikleri hasadın ardından değerlendirilmiş, herhangi bir olumsuz yan etki olmaksızın artan GA3 konsantrasyonu ile hem tane tutumu hem de irileşme artmış ve 100 ppm GA3'ün bu çeşit için en etkili konsantrasyon olduğu belirlenmiştir. GA3 uygulama zamanının tane özellikleri üzerindeki etkisi, bitkiler tam çiçeklenmeden 5 gün önce, tam çiçeklenmede ve tam çiçeklenmeden 5 gün sonra 100 ppm GA3 ile muamele edildiğinde ifade edilen başlıca tane özellikleri incelenerek değerlendirilmiş, tam çiçeklenmede GA3 uygulamasının, tane kalitesinde en az bozulma ile en iri tane üretilmesini sağlamıştır. Tam çiçeklenmede 100 ppm GA3 uygulamasının triploit 'Cheongyang' üzüm çeşidinde en çekici çekirdeksiz taneleri ürettiği bildirilmiştir.

Guo ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada Jumeigui × Xinghua No.1, 87-1 × Kyoho, Kyoho × Muscat Hamburg, Jumeigui × Hongqitezao ve Red Globle × Kyoho olmak üzere beş kombinasyonda melezleme yapılmıştır. Diploit ve tetraploit üzüm çeşitleri arasındaki melez tohumlardan embriyo kurtarmayı etkileyen faktörler, L25(55) ortogonal deney tasarımı uygulanarak incelenmiştir. Kültüre alma süresi, besi yeri tipi ve hormon konsantrasyonunun etkileri araştırılmıştır. Döllerin kromozom sayıları geleneksel ezme yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuçta, kültüre alma süresi embriyo kurtarmayı etkileyen anahtar faktör olmuş, öteki faktörlerin etkileri kombinasyona göre farklılık göstermiştir. En iyi kültüre alma süresi tozlanmadan 55 ila 80 gün sonra olup

sırasıyla %39.13 ve %73.08 ile en yüksek çıkış oranı sağlamıştır. Triploit bitkilerin oluşumu, kromozom sayımı ile kanıtlanmıştır.

Sun ve ark. (2011a)'na göre farklı ploidi düzeyindeki asmalar arasında melezleme yeni çekirdeksiz çeşitler geliştirmenin etkili bir yoludur. Bu maksatla yumurta çekirdeği ağırlığı ve anatomik yapısının gözlemlenerek diploit ve Tetraploit üzüm çeşitleri arasında yapılan melezlemelerde yumurtalık bozulma periyodu ve şekli incelenmiştir. Sonuçta, çekirdeksiz çeşitlerden farklı olarak, çekirdekli çeşitlerde asmanın en önemli faktörlerinden birinin uygun örneklem periyodu olduğu gösterilmiş, farklı ploidi düzeyindeki bitkilerle melezlenen çoğu çekirdekli çeşit için aynı anda embriyo aborsiyonu meydana gelmemiş, yumurtalık bozulması değişimlerinde bozulmanın sadece bireysel davranış olduğu, yumurtalık değişimlerin test edilmesinde ovul kurtarma döneminin, dişi ebeveynin olgun dönemi ile ilişkilendirilmiştir. Erken olgunlaşan çeşitlerde embriyo aborsiyonu, tozlaşmadan beş hafta sonra meydana gelmiş, daha sonra orta olgunlaşanlar ve geç olgunlaşanlar, karşılaştırmalı olarak tozlaşmadan altı ve dokuz hafta sonra meydana gelmiştir. Karşılıklı melezleme sonuçlarında, bu melezleme formunun büyük bir çiftleşme engeline sahip olduğu ve dişi ebeveyn olarak Tetraploit çeşitler kullanıldığında durumun daha ciddi olduğunu göstermiştir. $2x \times 4x$ 'ten çok az tohum iyi çimlenme gösterirken, $4x \times 2x$ 'ten olanlar çimlenme yeteneğini kaybetmiş ve hiç fide elde edilememiş, en yüksek çimlenme oranı ve fide hayatta kalma oranı, diploit dişi ebeveyn kullanıldığında tozlaşmadan 60 gün sonra ovul çıkartılarak elde edilmiştir.

Zhao ve ark. (2011) tarafından diploit 'Muscat Hamburg', 'Red Globe', 'Moldova' ve 'Otilia Seedless', Tetraploit 'Kyoho' ile melezlenmiştir. Melez embriyolar, in vitro olarak kültürlendi ve bitkiler halinde iyileştirilmiştir. Bitkilerin ıslah oranı %30.6' a ulaşmıştır. FC analiziyle otuz triploit melez soy elde edilmiştir. Sonuçta, triploit melez soyların yüzdelерinin, ebeveynlerin farklı melez kombinasyonlarına göre değişmiştir.

Li ve ark. (2015)'na göre, üzüm (*Vitis vinifera* L.), dünyadaki en önemli türlerden biri olup yeni çekirdeksiz çeşitler geliştirmek için yoğun ıslah çabaları vardır. Çekirdeksiz seleksiyonların melezlenmesiyle ilgili doğal engellerin üstesinden gelmek için, embriyo kurtarma geliştirilmiş ve asma ıslahçıları tarafından, çekirdeksiz $\times$ çekirdeksiz melezlerden soy elde etmek için doğası gereği zayıf, olgunlaşmamış ve/veya abortif embriyoları kurtarmak için başarıyla kullanılmaktadır. Bugüne kadar, embriyo kurtarma üzüm ıslahında otuz yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Genotip, numune alma/kültüre alma zamanı ve ortamı, üzüm embriyo kurtarma başarısını

etkileyen en önemli ve iyi çalışılmış faktörlerdir. Ayrıca, kültür yöntemleri ve bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı gibi diğer faktörler de üzüm embriyosunun kurtarılması için önemlidir. Şimdiye kadar, embriyo kurtarma, doğası gereği zayıf üzüm embriyolarının kurtarılmasında, çekirdeksiz üzümlerin ve triploit üzümlerin ıslahında ve farklı *Vitis* türleri arasında uzak melezlemelerde kapsamlı bir şekilde uygulanmıştır. Asmada embriyo kurtarma geniş çapta araştırılmış olmasına rağmen, geliştirilmiş çeşitlerin gelişimi çok azdır. Embriyo kurtarma yoluyla yeni üzüm çeşitlerinin ıslahı, üzüm ıslahçılarının sürekli çaba göstermesini gerektiren zorlu ve uzun vadeli bir görevdir.

Heo ve Park (2015)'nın bildirdiğine göre, 'Paradise', 'Delaware' (*V. labrusca* L.) ve 'Kyoho' (*Vitis* spp.) melezlenmesinden elde edilen yeni bir triploit çekirdeksiz sofralık üzüm çeşididir. 2006'dan 2009'a kadar 'Paradise' (*Vitis* spp.) taneleri ve asmaları gözlenmiş ve nihayet 2009'da seçilmiştir. Kore'de tomurcuk patlaması, tam çiçeklenme ve meyve olgunluğu sırasıyla 29 Nisan, 10 Haziran ve 20 Eylül'dür ve orta-geç mevsim çeşidi olarak karakterize edilir. Bol sıra ve yumuşak sertlik ile güçlü bir büyüme alışkanlığına ve mükemmel bir tada sahiptir. Bir salkımın ortalama ağırlığı 296 g ve ortalama çözünür katı madde içeriği 20.6 °Brix'tir. Çekirdeksizdir ve 'King De La' (*V. labrusca*)'dan daha iri taneli ve daha kalitelidir. Bu çeşit, ticari olarak başarılı salkımların üretimi için tam çiçeklenme sırasında giberellik asit uygulanmasını gerektirir. Küllemeden korumak için yağmur sığınağı tesisi önerilmiştir.

Wang ve ark. (2016)'na göre, triploit bitkiler daha büyük organlara, daha büyük biyokütle ve nispeten daha büyük miktarlarda fotosentetik enerjiyi koruyarak güçlü stres direncine sahiptir. Yerli olmayan istilacı türlerin ve bahçe bitkilerinin doğal alanlara istenmeyen yayılımı da triploitlerin kullanımıyla azaltılabilir veya ortadan kaldırılabilir, çünkü bunlar steril ve tohumuz olma eğilimindedir. Triploit bitkiler büyük ekonomik değere sahiptir ve yeni tarımsal, bahçecilik ve ormancılık alanlarında kullanılan çeşitlerinin geliştirilmesinde faydalı olmuştur. DNA dizileme teknolojisindeki hızlı gelişmelerle triploitler gelecekte genomik araştırmaların odak noktası haline gelebilir ve dengesiz genomlardaki genomik ve transkriptomik değişiklikleri keşfetmek ve izlemek için benzeri görülmemiş fırsatlar sağlayacaktır. Genomik araştırmalardaki yeni trendlerden biri, triploit oluşumundan hemen sonra ortaya çıkan ilk genomik tepkilerin incelenmesi için materyal olarak sentetik triploit bitkiler geliştirmektir.

Yamada ve Sato (2016)'nın bildirdiğine göre, Japonya'da yüksek yağış nedeniyle 200 yıl önce *Vitis vinifera* ile ilgili birkaç üzüm çeşidi bulunurken birçok *V. labruscana* ve *vinifera* çeşidi, 19. yüzyılda Japonya'ya tanıtılmıştır. *Labruscana*, esas olarak ciddi hastalık sorunları ve yüksek meyve çatlaması görülmesi nedeniyle *vinifera* yerine yetiştirilmiştir. Sofralık üzüm ıslahına, 20. yüzyılda, *vinifera*'nın meyve kalitesini *labruscana*'nın yetiştirme kolaylığı ile birleştirmek amacıyla başlanmıştır. 1945'e gelindiğinde, üç strateji kullanıldı: 1) tanıtılan diploit *vinifera* ve *vinifera* ile ilgili Japon menşeli çeşitler arasında melezleme, 2) Tetraploit çeşitler arası melezleme ve 3) diploit çeşitlerde türler arasında melezleme, 'Neo Muscat', 'Kyoho' ve 'Muscat Bailey A' ile sonuçlanmıştır. Daha sonra Tetraploitlerin melezlenmesiyle, birçoğu iri taneli, iki tür arasında orta tane eti dokusuna, labruscan veya nötr bir tada ve orta düzeyde hastalık direncine sahip olan 'Pione' de dahil olmak üzere 'Kyoho' ile ilgili birçok çeşit geliştirmiştir. Türler arası diploitlerin melezlenmesiyle 2006 yılında geliştirilen 'Shine Muscat' iri taneli, çıtır etli, muskat aromalı, çatlama yapmayan, gibberellin uygulamasıyla çekirdeksiz taneli ve külleme Botrytis karşı orta düzeyde dirençlidir.

Heo ve Park (2017), triploit nesilde, meyve kalitesi ve büyüklüğü üzerindeki bir GA₃ uygulamasının etkisinin değerlendirilmesinin, emek tasarrufu sağlayan triploid üzümleri ıslah etmeye çalışırken çok önemli olduğunu bildirmiştir.

Klimenko (2020) tarafından, Aurora Magarach üzüm çeşidi bitkilerinin meristematik dokusunda diploitten sapma ile hücre oluşumunun değerlendirilmesi için toplam 6812 hücre incelenmiştir. Aurora Magarach çeşidinin bitki dokusundaki miksoploidi, başlangıçtaki Sauvignon Blank çeşidinin aksine gözlenmiş, bitki meristematik dokusunda kromozom sayısı $3n=57$ olan triploit hücreler gözlenmiş, gözlemlerdeki ortalama triploit hücre sıklığı 0.64 olarak belirlenmiş, frekans gözlem grubuna bağlı olarak %22.1 ila %98.2 arasında değişmiş, varyasyon, üzümlerde karşılaşılan kimera ile açıklanmıştır.

Triploit bitkiler, uyarılmış tetraploit bitkinin normal bir diploit bitki ile melezlenmesiyle üretilir. Böyle melezlerden elde edilen tohumların çimlenmesi ve fidelerin yaşama oranları oldukça düşüktür (Kumar ve Gupta, 2015). Bu tür bitkiler çekirdeksiz meyve üretimini kolaylaştırabilir, genel ürün kalitesini artırabilir, yüksek gelir sağlayabilir (Aleza ve ark., 2010; Younis ve ark., 2014), vegetatif olarak güçlenebilir ve triploitler vegetatif kısımların ekonomik olarak faydalı olduğu bitkilerde iyi bir kullanım sağlar (Thomas ve Chaturvedi, 2008), yeni bitki çeşitlerinin elde edilmesi için umut vericidir (Klimenko, 2020).

Zaland ve ark. (2020)'ın bildirdiğine göre, Japonya'da ve diğer bazı ülkelerde birkaç triploit çeşit ıslah edilmiş olup bu çalışma ekibi bunlara ek olarak umut vaat eden üç melez triploit çeşit geliştirmiştir. Ayrıca, yeni ıslah edilmiş triploit hibrit 'BK seedless' ve 'BRI seedless' üzüm çeşitlerinde *in vitro* kromozom katlama indüklenerek, doğurganlıklarını geri kazanmak ve onlarla daha fazla verimi mümkün kılınmaya çalışılmıştır. Elde edilen hekzaploid bitkiciklerin ploidi seviyesi, FC ile doğrulanmıştır. Triploit 'BRI seedless' sürgünleri 72 s 625 uM kolhisin çözeltisiyle muamele edildiğinde *in vitro* bir hekzaploid bitki üretilmiş, bu yöntem kullanılarak triploit üzümün hekzaploid formlarının üretilebileceği gösterilmiştir. Dahası, hekzaploid bitkiler ayrıca, 16 haftalık aralıklarla *in vitro* olarak nakledilen sürgün uçlarının üç kez art arda alt kültürlenmesinin ardından kolhisin kaynaklı miksoploid sürgünlerden (triploit-hekzaploid-kimeralar) türetilmiştir. *In vitro* olarak elde edilen hekzaploid üzümler, büyümede gerilik gösterdi ve iklime alışmaları zorlanmıştır.

Kore'deki Shine Muscat üzüm çeşidinin başarısı nedeniyle, tüketicilerin yüksek kaliteli çekirdeksiz üzümlere olan ilgisi önemli ölçüde artmıştır (Si-Hong ve ark., 2021).

(Özer, 2021) Gök Üzüm, Ekşi Kara, Trakya İlkeren ve Narince üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinin tohumları ve çeliklerine poliploidi indüksiyonu amacıyla farklı doz ve sürelerde N₂O uyguladıklarında sadece 7.5 bar 24 saat N₂O uygulanmış bir Gök Üzüm fidesinin triploit/yakın triploit genotip elde edildiğini FC analizi ile belirlemiştir.

Kore'de çekirdeksiz üzümlerin çoğu şu anda Shine Muscat ve Kyoho gibi genetik olarak çekirdekli üzüm çeşitlerinin çiçeklenmeden önce ve sonra bitki büyüme düzenleyicileri ile muamelesiyle üretilmektedir. Ne yazık ki, yöntem çekirdeksiz meyvelerin üretimini etkili bir şekilde teşvik etse de büyüme düzenleyicinin optimal bir muamele süresini ve konsantrasyonunu ayarlamak kolay olmadığı için meyve kalitesinin standardizasyonunu başarmak zorlaşmaktadır. Ayrıca, işletme giderlerinin büyük bir bölümünü oluşturan gerekli ek işçilik, toplam üretim maliyetlerini önemli ölçüde artırmaktadır. Bu nedenle, kimyasal gereksinimini azaltmak için yeni çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin ıslahı ve dağıtımı için önemli çabalar sarf edilmiştir (Park ve ark., 2015a; Park ve ark., 2016b; Heo ve Park, 2017; Park ve ark., 2020; Si-Hong ve ark., 2020). Çekici bir alternatif olarak, triploit üzümler son derece düşük doğurganlığa sahiptir (Heo ve ark., 2007) ve tam çiçeklenme sırasında tek bir GA3 uygulaması muhtemelen yeterlidir ve çekirdeksiz üzüm üretiminin standardizasyonunu sağlar (Heo ve Park, 2016). Bu nedenle, artan tüketici talebini karşılamaya çalışmak için Kore'de bulunan yetiştirme ortamlarına uyarlanmış triploit çekirdeksiz üzümleri üretmek için

çeşitli çalışmalar sonucunda, mükemmel kalitede çekirdeksiz üzüm veren bir çeşit olan yeni triploit kırmızı çekirdeksiz üzüm Red Dream geliştirilmiştir (Park ve ark., 2022).

Doğan (2022), 41 B ve Fercal asma anaçlarının büyüme için uyarılmış tohum ve çeliklerine orizalin ve N₂O farklı doz ve sürelerde uygulanarak poliploidi uyarımı FC analizinde, Fercal neslinden 1 adet tetraploit, 4 adet miksoiploit ve 41 B neslinden ise 1 adet miksoiploit bitki seçmiş ve bu seçimlerin ploidi düzeylerini kromozom sayımlarıyla doğrulamış, asma anacı genotiplerinde poliploit mutantlar elde etme çalışmalarında 100 µM-96-s orzalin ve 10 bar 96-s N₂O uygulamalarını öncelikle önermiştir.

Shi ve ark. (2012) tarafından Triploit üzüm ıslahı amacıyla Ruby Seedless × Fujiminori, Dawn Seedless × Fujiminori, Emerald Seedless × Black Olimpia, Fujiminori × Beichun ve Black Olimpia × Beichun olmak üzere beş melezleme gerçekleştirilmiş ve embriyo kurtarma teknikleri uygulanmıştır. Sonuçta, 41 adet melez fide elde edilmiştir. Ayrıca, bu melezlerin ploidi düzeyi, FC ve kromozom sayımı ile doğrulanarak 10 triploit, 6 tetraploit, 4 anöiploid ve 21 diploit fide tanımlanmıştır.

Park ve ark. (2015b), yeni bir triploit çekirdeksiz üzüm çeşidi olan 'Sweet Dream' deki tane ve asmaları 2006'dan 2008'e kadar gözlemişlerdir. 'Sweet Dream', Chuncheon'da kış aylarında tomurcuk hasarı meydana gelmeyen güçlü bir asma büyüme kuvvetine ve orta düzeyde donma toleransına sahip olduğu belirlenmiştir. Bir salkımın ortalama ağırlığı 440 g ve ortalama çözünür katı madde konsantrasyonu 16.4 Brix 'tir. Çekirdeksiz ve iri tane boyutu ve kalitesine sahiptir. Bu nedenle, 'Sweet Dream' in tanıtılmasının Kore üzüm çeşitlerinin çeşitlendirilmesine katkıda bulunabileceği bildirilmiştir.

Heo ve Park (2016), Tetraploit ve diploit üzüm çeşitlerinin melezlenmesinden elde edilen farklı triploit nesiller arasındaki tane özelliklerindeki değişimi araştırmıştır. Farklı melez kombinasyonların triploit soyu üzerinde tek seferlik GA3 (100 ppm) uygulamasıyla indüklenen salkım ağırlığında önemli farklılıklar kaydedilmiştir. Salkım ağırlığı, 'Kyoho' × 'Sekirei'den elde edilen soyda, diğer melez kombinasyonlardan türetilen yavrulara göre daha yüksek, ortalama salkım ağırlığındaki sapma da 'Kyoho' × 'Sekirei' nesli için küçük bulunmuştur. Sonuçta, 'Kyoho' × 'Sekirei' gibi belirli melez kombinasyonların, yeni çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin verimli bir şekilde ıslahında kullanılabileceğini göstermektedir.

Klimenko (2020) tarafından, Aurora Magarach üzüm çeşidi bitkilerinin meristematik dokusunda diploidten sapma ile hücre oluşumunun değerlendirilmesi için toplam 6812 hücre incelenmiştir. Aurora Magarach çeşidinin bitki dokusundaki

miksoploidi, başlangıçtaki Sauvignon Blanc çeşidinin aksine gözlenmiş, bitki meristematik dokusunda kromozom sayısı $3n=57$ olan triploit hücreler gözlenmiş, gözlemlerdeki ortalama triploit hücre sıklığı 0.64 olarak belirlenmiş, frekans gözlem grubuna bağlı olarak %22.1 ila %98.2 arasında değişmiş, varyasyon, üzümlerde karşılaşılan kimera ile açıklanmıştır.

2.7. Flow Sitometri (FC)

Sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir. FC ise, akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir. Günümüzde FC ya da akım sitometri terimleri kullanılmaktadır. FC'nin temel yaklaşımı; hücrelerin boyut, şekil, DNA ve RNA içeriği, sitoplazmik granüleritesi açısından değerlendirilmesidir. Bu amaçla hedeflenen yapı ya da hücre önce floresan madde ile işaretli bir antikor veya özel bir boya (nükleik asitlere özel propidium iodide) kullanılarak işaretlenir. Bazı durumda ise klorofil gibi maddeler kendileri floresan özelliğe sahiptir (Kanev ve Muranlı, 2016).

FC, hücre veya partiküllerin akmakta olan bir akışkanın içindeyken karakteristiklerinin ölçülmesidir. FC analizinde, bir süspansiyon halindeki hücre ya da partiküller, lazer ışığı ile aydınlatılmakta olan bir bölmeden geçirilir; hücrelerin ışığın önünden geçerken verdikleri sinyaller toplanarak analiz edilir. Oluşan sinyallerin kaynağı, hücrenin büyüklük, granülarite gibi fiziksel özellikleri olabildiği gibi; hücreye bağlanan çeşitli fluorokromlar da olabilir. Böylece hücre ya da partikülün immunfenotipi, DNA içeriği, enzim aktiviteleri, hücre membran potansiyeli, canlılığı gibi çeşitli özellikleri hakkında bilgi toplanabilir. FC floresan olmayanları tam kan hücreleri sayımları için klinik laboratuvarlarda kullanılır. Daha çok yönlü araştırmalar için floresan olanları kullanılır. Bunlara sitofluorometre denir. Flow sitometreler birçok biyolojik araştırma enstitüsünde ve tıp merkezlerinde bulunur. Bunlardan dünyada yaklaşık 7 bin tane vardır. Tıp merkezlerinde araştırmanın yanında tanı için de kullanılır. Ayrıca kanserli hücre tanısında ve AIDS hastalarının kanında CD4 lenfosit seviyesinin izlenmesinde de kullanılır (Kanev ve Muranlı, 2016).

Yakın- (örn: yakın-triploit) (Okazaki ve ark., 2005; Acanda ve ark., 2015), hipo- ve hiper- (örn: hipoTetraploit/ hiperTetraploit) (Kihara ve Tsunewaki, 1960; Park ve ark., 2010) ön ekleri ile de anılan anöploidler, önemli ıslah materyalleri olarak kabul edilmektedir. Monosomi ve nullisomi, hipo-ploidi ile, trisomi ve tetrasomi ise hiper-

ploidi ile ifade edilebilir (Priyadarshan, 2019). Üzümlerde, açık tozlanan tetraploit Kyoho'dan bir anöplid çeşit Takao ($2n = 4x - 1 = 75$) geliştirilmiş (Park ve ark., 2010) ve hipotetraploit çeşit olarak tanımlanmıştır (Park ve ark., 2016a).

2.8. Kromozom Sayımı

Dhooghe ve ark. (2011a)'nın bildirdiğine göre kromozom katlamayı gösteren morfolojik ve anatomik gözlemler basittir ancak çoğu kez hataya neden olabilir, teyit sıklıkla gereklidir. Kromozom sayımı, heterojen bir hücre popülasyonunun temsiliyi sağlayamazken, FC farklı tip doku ve hücre tabakasının analizine izin verir. FC analizleri sadece göreceli DNA içeriklerine yakın olarak ploidi düzeylerine sınıflandırabildiği (Okazaki ve ark., 2005) için ve kromozom sayımı ve FC analizinin kombinasyonunun, hücrelerin kromozom bileşiminin genel bir resmini vermesi (Ochatt ve ark., 2011) nedeniyle FC analizinin kromozom sayımı ile tamamlanması gerektiğinden hem FC analizi hem kromozom sayımı yapılmıştır.

Ploidi seviyesini belirlemede en güvenilir metot kromozom sayımıdır. Zahmetli ve zaman alıcı olmasının yanı sıra aktif bölünen hücre gerektirir (Vrána ve ark., 2014). Asma kromozomlarının küçük boyutlu ve çok sayıda oluşu da yöntemin kullanımını sınırlandırmaktadır. Kromozom katlanmasının en güvenilir belirteci olması nedeniyle çalışmamızda kromozom sayımı yapılmıştır.

Kromozom sayısı, mitotik veya mayotik hücre bölünmesi sırasında hücrelerde belirlenebilir. Mitotik kromozomların sayımı daha kolay ve hızlıdır. Kök uçları mitotik hücrelerin en uygun kaynağıdır. Köklerin olmadığı durumlarda genç tomurcuklar, yapraklar veya kallus kullanılabilir (Maluszynska, 2003; Blasco ve ark., 2015; Shi ve ark., 2015; Xie ve ark., 2015a), ancak en yaygın olarak kök uçları kullanılmış (Eng ve Ho, 2019), başarılı kromozom sayımları yapılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Bitkisel Materyal

3.1.1. 41B

1882'de Bourdeux'ta ıslah edilmiş, ilk defa Pozenas'da test edilmiştir. *Vitis vinifera* (cv. Chasselas) $\times$ *Vitis berlandieri* melezidir. Kuvvetli gelişen bu anacın vegetatif periyodu kısa, toprak kirecine dayanımı çok yüksek %80–90 toplam, %40 aktif kireç düzeyindedir. Tuza dayanımı yoktur, yapraklarının küllemeye karşı korunması gerekir. Köklenmesi iyi değildir, köklenme oranı çubukların olgunlaşmasına bağlı olarak %15-40 arasındadır. Berlandieri özellikleri taşıdığından yavaş veya zor köklenmesi masabaşı aşısındaki başarıyı azaltır. Bununla birlikte yerinde aşılamalarda daha iyi sonuç vermektedir. Aşı kabul etmesi ve afinitesi %80–90 dolayındadır. Kökleri derine gider. İlk senelerde daha ziyade toprak altı aksamı, daha sonraki yıllarda toprak üstü aksamı gelişme gösterir. Vejetasyon süresi kısa olduğu için, üzerine aşılanan çeşitte erkencilik sağlar. İlk yıllarda üzerine aşılanan çeşidin uzun budanması gereklidir.

Vejetasyon periyodu kısa ve bu çeşidin en önemli özelliği olarak toprak kirecine dayanımı çok yüksektir. Fransa'da kireçli Charetes ve Champagne bölgesinde hemen hemen sadece bu anaç kullanılırken Güney Fransa'da sofralık çeşitlerin olgunlaşmalarını hızlandırmak (erkene almak) için kullanılmaktadır. 41 B'nin ilk yıllardaki gelişmesi yavaş olmakla birlikte olgun asmalarda karakteristik olarak meyve tutumu ve verim yüksektir. Filokseraya dayanımı yeterli fakat tam değildir. Kuvvetli gelişir.

Toprak kirecine dayanımı mükemmel, %80–90 toplam, %40 aktif kireç düzeyindedir. Tuza dayanımı yoktur, yapraklarının küllemeye karşı korunması gerekir. Köklenmesi iyi değildir, köklenme oranı çubukların olgunlaşmasına bağlı olarak %15-40 arasındadır. Köklenme derecesi, Riparia %100 kabul edilirse 41B %70 kabul edilir. Berlandieri özellikleri taşıdığından yavaş veya zor köklenmesi masabaşı aşısındaki başarıyı azaltır. Bununla birlikte yerinde aşılamalar daha iyi sonuç vermekte ve aşı başarısı %80–90'a kadar yükselmektedir. Kökleri derine gider. İlk senelerde daha ziyade toprak altı aksamı, daha sonraki yıllarda toprak üstü aksamı gelişme gösterir. Vejetasyon süresi kısa olduğu için, üzerine aşılanan çeşitte erkencilik sağlar. İlk yıllarda üzerine aşılanan çeşidin uzun budanması gereklidir. Hektara 25-40000 m aşılanabilir

çelik ile 20-50000 m fidanlık çeliği üretimi vardır. Fransa'da Chartes, Champagne, Languedoc ve Vaucluse bölgelerinin tek anacıdır (Galet, 1979; Morton, 1979).

41 B, filokseranın kök formuna orta ila yüksek derecede toleranslıdır. *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria* ve *Meloidogyne hapla* nematodlarına duyarlıdır ve *Rizobium vitis*'e duyarlı görünmektedir. 41 B, filokseranın yaprak formuna karşı oldukça toleranslıdır ancak küllemeye karşı hassastır. 41 B, kireçli topraklara adaptasyonu ve kloroza karşı direnci ile karakterizedir. Toplam kirecin %60'ına, aktif kirecin %40'ına ve ICP'si 60'a kadar dayanıklıdır. Ayrıca topraktaki magnezyumu da iyi emer. 41 B ancak ilkbaharda geçici su fazlalığına karşı hassastır ve kuraklığa dayanıklılığı orta düzeydedir. Çok sıkı topraklara çok uyum sağlayamamaktadır. 41 B, aşılara orta ila yüksek güç verir. Merlot ve Pinot ile problemler bildirilse de bu anaca önemli miktarlarda aşılınmış bağlarda genellikle iyi bir uyum gösterir. İlk yıllarda bitki gelişimi oldukça yavaştır. 41 B, üzüm salkımlarının kompaktlığını destekler. Ayrıca üzerine aşıl原因 çeşitlerin vegetatif döngüsünü geciktirebilmektedir. 41 B üzerine aşıli çeşitler diğer anaçlara göre daha az şekerli ve biraz daha asidik meyve üretir. Boğum aralarının uzunluğu ve çapı orta ila büyük ve odunlaşmış çelik üretimi düşük ila ortadır (15000 ila 50000 m ha⁻¹). Anaçlık tesislerinde 41 B hem su stresine hem de topraktaki nem fazlalığına karşı hassastır. 41 B yazlık sürgünleri kolayca odunlaşır. Aşıda kullanılacak çelikleri alındıktan sonra, uygun şekilde saklanmalı ve kullanılmadan önce yeterince su emdirilmelidir. Temizlemeleri ve tomurcuk alma oldukça kolaydır. 41 B, bazen sürgünlerin tabanında nekroz oluşur, ancak aşılama için iyi bir yetenek gösterir. Büyük kallus oluşumundan kaçınmak için kaynaştırma aşamasında özel bir bakım (süre, hormon uygulanması) önemlidir (Galet, 1979; Morton, 1979).

41B asma anacı Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Asma anacı koleksiyonunda bulunmakta olup denemede kullanılan generatif materyal buradan alınmıştır.

3.1.2. Fercal

Fercal 1983'te INRA Fransa'da Viticulture Research Station'da Pont de la Maye, Bordeaux'ta Pouget ve Ottenwaelter tarafından *V. vinifera* × *V. berlandieri* melezinin 333 EM ile melezlenmesiyle anaç olarak elde edildiği bildirilmiştir. Ancak Laucou ve ark. (2008)'in 20 mikro uydu işaretleyici seti ile yaptığı çalışmada 'Fercal' anacının gerçek ebeveynleri olarak 'B.C.n°1B' [(ana, Berlandieri Lafont 9 × Ugni Blanc (*Vitis vinifera* L. Ssp. *vinifera*)] ve '31 Richter' [baba, Berlandieri Resseguier 2 × Novo

Mexicana (*Vitis riparia* × *Vitis rupestris* × *Vitis candicans*)] olarak belirlenmiştir. Önceden baba olarak kabul edilen '333 Ecole de Montpellier'in kesinlikle doğru olmadığı bildirilmiştir. Fercal Fransa'dan dünyaya yayılmıştır. Çok yüksek pH'ya sahip topraklarda büyük bir potansiyel sunmaktadır. Kök çürüklüğü, filoksera ve nematoda toleranslı olduğu bilinmektedir. Magnezyum eksikliğine çok hassas, asit topraklara toleransı düşüktür. Büyüme gücü yüksek, kuru, çakıllı, ıslak topraklarla adaptasyonu çok iyi, kumlu, killi, tuzlu topraklara adaptasyonu iyidir. Filokseraya dayanımı çok iyi, nematoda toleransı ve *Vitis vinifera* çeşitleri ile uyuşması iyidir (Uzun, 1996).

Fercal asma anacı tohumları ise Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

3.1.3. Ekşi Kara

Antik ve otokton üzüm çeşidi Ekşi Kara (*Vitis vinifera* L.), Konya-Karaman illeri ve Orta Toroslarda antik çağlardan beri yetiştirilmektedir. Bu ekolojiye iyi uyum sağlamıştır. Üzerinde klon seleksiyonu ve diğer ıslah çalışmaları halen devam etmektedir. Popülasyonda farklı tipleri kabul edilmekle birlikte yapılan çalışmalarda bu farklılıkların, çeşidin döllenme biyolojisine bağlı olduğu anlaşılmıştır. Çeşidin çiçek yapısı fonksiyonel dişidir. Bu nedenle bağ tesisinde mutlaka dölleyici çeşide gereksinim duyar. Yörede 'Gök Üzüm' en önemli tozlayıcısıdır. Döllenme için gelen polene bağlı olarak tane şeklinde farklılıklar ortaya çıkabilmekte ve bunlar da farklı tipler olarak değerlendirilebilmektedir. Bölgede üretici bağlarında salkım ve tane boyutları, boncuklanma oranı, çekirdekli/çekirdeksiz tane gelişimi, çiçeklenme dönemindeki hava koşulları ile bal arısı aktivitesine bağımlı tozlanmayla yakından ilişkilidir. Keselenerek kendine tozlanan çiçek salkımlarında çekirdekli tane bağlamaz. Üretici bağlarından alınan polen örnekleri canlılık oranı %90'ı geçerken çimlenme oranları %3'ten az bulunmuştur. Ekşi Kara üzüm çeşidi sofralık, kurutmalık ve şıralık olarak değerlendirilmektedir. Bandırılmadan doğal kurutulan kurusu çerezlik olarak pazarlanırken, döllenme kusuruna bağlı partenokarpik taneleri kuş üzümü (kişniş) olarak pazarlanmaktadır. Çeşidin az derin dilimli yaprakları salamuralık asma yaprağı olarak Mayıs sonundan Temmuz ortalarına kadar lokal pazara arz edilmektedir. Omcaları kuvvetli, verimli, kısa veya karışık budamaya uygundur (Kara ve ark., 2018). 'Ekşi Kara' üzüm çeşidi Konya'da en çok yetiştirilen iki üzüm çeşidinden birincisidir. Bu üzüm çeşidi Orta Torosların İç Anadolu Bölgesi'ndeki bağ alanlarında yaygın olarak

yetiştirilen, Antik dönemlerden gelen, yöreye adaptasyonu mükemmel, çok yönlü değerlendirmeye uygun, mutlak tozlayıcı gerektiren bir çeşit olup Selçuk Üniversitesi Ziraat ve Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü tarafından yürütülen seleksiyon çalışmalarıyla temiz klonlar seçilerek 2019 yılında ‘klon bağı’ tesisi oluşturulmuştur (Kara ve ark., 2016), denemede kullanılan generatif materyal buradan alınmıştır.

3.1.4. Gök Üzüm

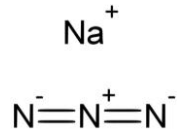
Lokalde koyu yeşilden kehribar sarısına kadar değişen renk tonlarında, gösterişli, etli sulu, salkım iskeletine iyi tutunan, iri salkım ve orta iri taneleriyle sofralık, kurutulduğunda zümrüt yeşili rengini koruyan kurutmalık ve kaliteli şıra verimiyle şıralık olarak değer taşıyan çoklu değerlendirilebilme niteliğine sahiptir. Bu çeşit mutlak tozlayıcı gereksinimi duyan Ekşi Kara çeşidi ile fenolojik evrelerinin örtüşmesi nedeniyle en iyi tozlayıcısıdır. Yeni bağ tesislerinde yöreye getirilen yerli ve yabancı kaynaklı tüm yeni çeşitlerle birlikte yoğun olarak tercih edilmeye devam etmektedir. Çeşit binlerce yıllık geçmişi nedeniyle ekolojiye son derece iyi uyum sağlamıştır. Bu çeşit Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gök Üzüm klon koleksiyonunda bulunmakta olup denemede kullanılan generatif materyal buradan alınmıştır.

3.2. Kimyasal Mutagenler

3.2.1 Sodyum Azit (SA)

Sodyum azit, metabolit üreterek bitki genomunda mutasyon yaratan bir mutagen olup son yıllarda bitkilerin agronomik özelliklerini geliştirmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu mutagenin uygulanması sonucunda elde edilen mutant bitkide üretilen proteinin normal bitkiden farklı olarak abiyotik ve biyotik stres toleransı verim ve kalite özellikleri ile raf ömrünün iyileşme sağlamıştır (Khan ve ark., 2009).

Bu çalışmada kullanılan Sodyum azit (SA cas- No: 26628-22-8) Alman Merck firmasından granül halde temin edilerek kullanılmıştır.

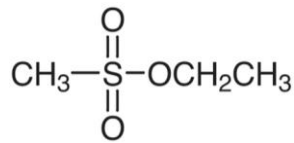


Şekil 3.1 Sodyum azit (SA cas- No: 26628-22-8) formülü

3.2.2 Ethyle methanesulfonate (EMS)

Etil metansülfonat (EMS), $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{C}_2\text{H}_5$ formülüne sahip mutagenik, teratojenik ve kanserojen bir maddedir. EMS, bileşiklerin etilasyonu için kimyasal reaksiyonlarda kullanılır; bu nedenle alkilleyici bir reaktiftir. DNA onarım süreçleri çalışmalarında bir model alkile edici ajan olarak kullanılmıştır. EMS, araştırma amacıyla üretilmiş olup büyük ölçekli üretimi yoktur. Doğal olarak oluştuğu bilinmemektedir. EMS, etil alkol ve metansülfonik anhidrit ($\text{CH}_3\text{SO}_2-\text{O}-\text{SO}_2\text{CH}_3$) veya metansülfonil klorürün ($\text{CH}_3\text{SO}_2-\text{Cl}$) reaksiyonuyla hazırlanabilir. EMS'nin DNA ile etkileşimi, kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve sonuçta, EMS'nin hedeflediği bölgeler ve reaksiyon mekanizmaları belirlenmiştir. EMS'nin virüsler ve prokaryotlar üzerindeki etkileri çalışılmış, EMS'nin bakteriyofaj T2'de *in vitro* mutasyona neden olduğunu gösterilmiştir. EMS'nin mantarlarda, bitkilerde, böceklerde ve insan hücrelerinde mutasyona neden olduğu iyi bilinmektedir. Fare ve sıçanlar gibi memelilerde EMS'nin genotoksitesi, hamile sıçanların embriyolarındaki sperm morfolojisi ve uzuv kusurlarındaki değişikliklerle gösterilmiştir (Baselt, 2014).

Bu çalışmada kullanılan EMS (Cas-No: 62-50-0) yurt dışından (Çin) temin edilerek kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Etil metansülfonat EMS (Cas-No: 62-50-0) formülü

3.3. Yöntem

3.3.1. Tohum elde edilmesi ve depolanması

Ekşi Kara ve Gök Üzüm sofralık üzüm çeşitleri ile 41B ve Fercal asma anaçlarının aşırı olgunlaşmış salkımları hasat edilmiş, salkımlar sıkılarak çekirdekler çıkartılmış, çeşme suyu ve ardından saf suyla yıkanarak gölgede kurutulmuş, bez torbalara konularak katlama tarihine kadar oda şartlarında muhafaza edilmiştir. Mutagenlerin aktif bölünmekte olan hücrelerde iç iplikçiklerini bloke ederek kromozom katlanmasına neden olduğu bilindiğinden (Gao-Takai ve ark., 2017) mutagen uygulama sürecinde maksimum hücre bölünmesini teşvik için katlanmış tohum kullanımı benimsenmiştir. Oda şartlarında tutulan tohumların çimlenmesini hızlandırmak amacıyla çekirdekler 14.11.2019 tarihinde +2 °C'de 120 gün süre ile katlama işlemine tabi tutulmuştur. Katlama öncesinde tohumlar %0.1'lik sodyum hipoklorit çözeltisiyle sterilize edilmiştir.



Şekil 3.3. Tohumların kurutma kâğıdı arasında katlanması

3.3.2. Tohumlara kimyasal uygulamaları

4 farklı asma genotipinin (41B, Fercal, Ekli Kara, Gök Üzüm) tohumları katlama ortamından çıkartıldıktan sonra yıkanarak mutagen uygulaması yapılmıştır. Sodyum Azid (SA %0, %0.01, %0.05, %0.1, %0.2 dozları 2 ve 4 saat) ve Etil Metansülfonat (EMS %0, %0.01, %0.02, %0.5 dozları 6 ve 10 saat) falkon tüplere konulan tohumlar üzerine ilave edilerek belirlenen sürelerde shaker (IKA KS 4000 i control) üzerinde bekletilerek uygulama yapılmıştır.



Şekil 3.4. Shakerda (IKA KS 4000 i control) mutagen uygulanması

Mutagen uygulanan ve kontrol tohumlar çimlendirme tavaalarında viyollere ekilmiştir. Sera ortamında gelişmeye bırakılan tüm materyallerin gelişmelerini normal olarak sürdürebilmeleri için rutin bakımları yapılmıştır.

3.3.3. Hayatta kalma oranlarına etkiler ve mutagenlerin LD50 değerlerinin hesaplanması

Çimlenen tohumlar tespit edilerek uygulamalara göre hayatta kalma oranları belirlenmiş ve bu değerler kullanılarak mutagenlerin öldürücü dozları (LD50) tespit edilmiştir.

LD50 mutagen uygulanan bitki popülasyonunun %50'sinin ölümüne neden olan dozdur. LD50 değeri, bir bitki dokusunun hassasiyet düzeyini ölçmek için kullanılan parametrelerden biridir. Düşük LD50 dozları, bitkilere yüksek bir hayatta kalma oranı verir, ancak mutasyon sıklığı düşüktür. Yüksek doz uygulamalarında bitkinin hayatta kalma oranı düşük ancak mutasyon sıklığı yüksektir. LD50 tespiti için her uygulama grubunda hayatta kalan bitkilerin sayısı tespit edilmiştir. Hayatta kalarak fideye dönüşen tohumların sayısının mutagen uygulanan tohum sayısına oranıyla hesaplanmıştır (Omosun ve ark., 2022).

Bu çalışmada,

LD50 (%) = Hayatta kalan ve fideye dönüşen asma tohumlarının toplam sayısı / Toplam mutagen uygulanan tohum sayısı × 100

formülü kullanılarak LD50 değerleri hesaplanmıştır.

LD50 değeri ıslahçı için bitkide mutasyona neden olan mutagen dozu ve uygulama süresinin tespiti açısından önemlidir. LD50 değeri genotipte mutasyonun etkisini belirler ve türler, çeşitler ve genotipler arasında farklılık gösterir. Mutasyon ıslahında LD50'nin önceden belirlenmesiyle %50 ölüm veya tohumların %50'sinin hayatta kalabileceği güvenli bir doz ve uygulama süresi sınırı tespit edilmiş olur (Roslim ve Fiatin, 2015).

LD50'nin hesaplanması, farklı mutagenlerin optimal dozları hakkında bir ipucu sağlar. Optimal bir doz, daha az biyolojik hasarla daha yüksek oranda mutasyona neden olan bir doz olarak kabul edilebilir. Uygulama yapılan tohumların çimlenme ve hayatta kalma yüzdesi, mutagen doz seçimi için LD50 değerlerini tahmin etmek için en güvenilir indekslerden biri olarak kabul edilmiştir (Raina ve ark., 2018).

3.3.4. Mutagenlerin morfolojik etkileri

Sürgün uzunluğuna etkiler; fidelerin sürgün uzunluğu yaklaşık 6 aylık büyüme mevsimi sonunda şerit metre ile ölçülerek belirlenmiştir.

Yaprak büyüklüğüne etkiler; yaprak örnekleri 90 günlük büyümeden sonra gelişen sürgünlerin 1/3'lük orta kısımlarından alınmıştır. Yaprak büyüklüğüne etkiler OIV 065'e göre (aya uzunluğu ve aya genişliği) değerleriyle belirlenmiştir.

Yaprak sayısına etkiler; fide başına toplam yaprak sayısı vegetasyon sonunda sayılarak belirlenmiştir.

Sürgün çapına etkiler; fidelerin sürgün çapları 5. boğum aralığında en dar ve en geniş olan mesafenin dijital kumpasla ölçülüp toplamının ikiye bölünmesiyle tespit edilmiştir.

Yaprak kalınlığına etkiler

Tetraploit bitkiler, diploitlerden daha geniş ve kalın yapraklara sahip olduğu bilinmektedir (Rao ve ark., 2019). Uygulama yapılan bitkilerin yaprakları arasındaki kalınlık farklılıkları, x10 büyütme objektif ve x10 büyütme ışık mikroskobu kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.5. Stoma özelliklerine etkiler [yoğunluk (adet mm⁻²) ve stoma boyutlarına (µm)]

Bitkilerde uçtan 4. yaprağın alt tarafında 3 farklı bölgeye şeffaf oje sürülerek yaprak epidermal izleri elde edilmiştir. Alt epidermis sıyrılıp lam üzerine yerleştirilerek örneklerde stoma genişliği ve uzunluğu, x40 büyütme objektif ve x10 büyütme oküler mikroskopla mikrometre ile belirlenmiştir (Moghbel ve ark., 2015). İşlem kolaylığı ve uygulanabilirliğine göre kloroplast sayımında da kullanılan bir diğer yöntem (Yuan ve ark., 2009) kullanılarak stoma sayımları yapılmıştır. Örneklerin stoma verileri, 'Kyoho' üzüm çeşidi stoma verileri ile karşılaştırılmıştır. Yaprak örneklerinin stoma yoğunlukları Xu ve Zhou (2008) ve Radoglou ve Jarvis (1990)'e göre 20 tekrarlamalı olarak sayılarak ortamlar ve standart sapmaları verilmiştir.



Şekil 3.5. Stoma özelliklerine etkilerin tespiti

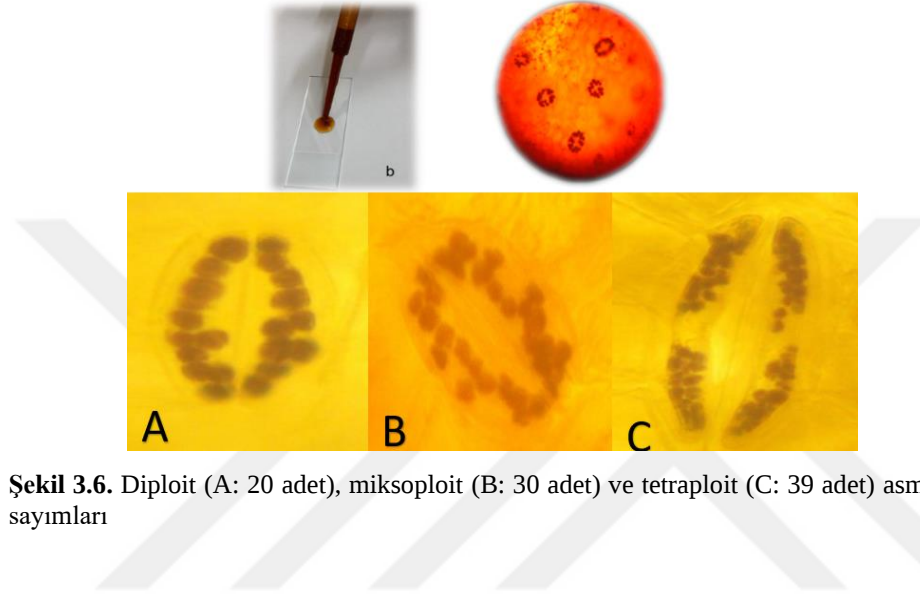
3.3.6. Klorofil içeriğine etkiler

Hayatta kalan ve gelişimini sürdürebilen fidelerde 90 günlük gelişmenin ardından yaprak klorofil içeriklerine etkiler belirlenmiştir. Genel olarak, tetraploidin klorofil SPAD değeri, diploidinkinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Rao ve ark., 2019). Mutagen uygulanan bitkilerin tümünün sürgün ucundan itibaren 4-6. yaprakların klorofil içeriği Minolta Spad Meter 520 modeli ile ölçülmüştür (Uddling ve ark., 2007; Rao ve ark., 2019).

3.3.7. Kloroplast sayılarına etkiler (adet/stoma)

Mutagen uygulamaları yapıldıktan sonra gelişmiş fidelerin yaprak örneklerinde kloroplast sayımı yapılmıştır. Bu maksatla stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast

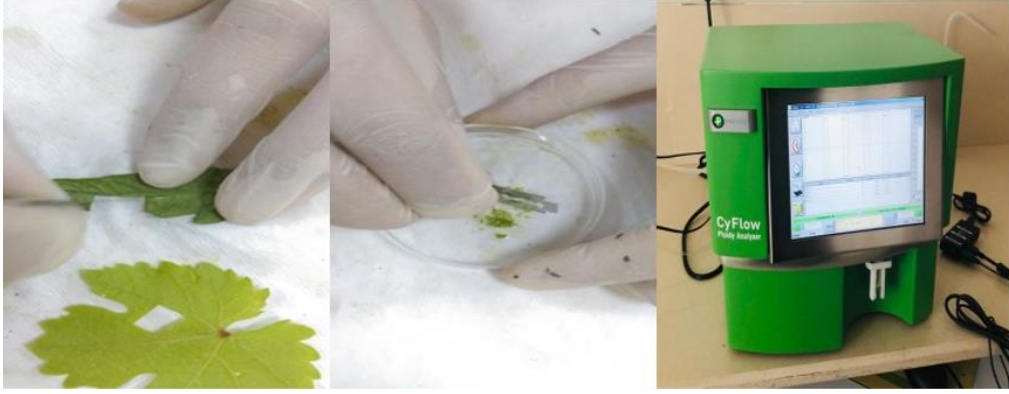
sayıları uçtan 4. yapraklardan alınan yaprak örneklerinde sayılmıştır. İlk olarak, taze yaprakların Carnoy solüsyonunda (3 kısım etil alkol: 1 kısım glasiyal asetik asit) rengi açılmış, solüsyondan çıkartılan yaprak kesitleri 2-5 dakika steril suda bekletilmiş ve ardından 30 saniye süre ile %1'lik I-KI solüsyonu ile boyanmıştır. Kloroplast sayısı mikroskopta x400 kat büyütülerek sayılmıştır (Yuan ve ark., 2009). Stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayıları (adet/stoma) bulgulara verilmiştir.



Şekil 3.6. Diploit (A: 20 adet), miksoiploit (B: 30 adet) ve tetraploit (C: 39 adet) asmada farklı kloroplast sayımları

3.3.8. Flow sitometri (FC) analizi

SA ve EMS uygulaması sonrasında hayatta kalarak gelişen bitkilerden FC analizi için (3-4 haftalık) taze yaprak örnekleri alınmıştır. Yaprak örneklerinden 0.5 cm² büyüklüğündeki kesitler alınarak petri kabına yerleştirilmiş ve 500 µL izolasyon buffer (Partec-Nuclei Extraction Buffer) ilave edilerek yaprak dokusu küçük parçalara ayrılana kadar jilette parçalanmıştır. İzolasyon buffer eklenerek yapılan parçalama işlemi sonucunda hücre çekirdeklerinin serbest kalması sağlanmış ve çekirdek zarı üzerinde açıklıklar oluşturulmuştur. Petri kabındaki örnekler 10-15 saniye süreyle çalkalanmış ve Partec- CellTrics 30 µm- green filtre ile süzölmüş tüp içerisine (Partec-Sample Tubes, 3.5 ml, 55x2 mm) aktarılmıştır. Tüplere 1600 µL boyama solüsyonu [Partec-DAPI (4,6 diamidino-2-phenylindole) Staining Buffer] ilave edilerek ışık izolasyonu olan bir ortamda 5 dakika bekletilmiştir. Sonrasında örnekler FC cihazında analiz edilmiştir (Tuna, 2014). Örneklerin DNA içerikleri DNA içeriği bilinen domates ve 4x yapılı ‘Kyoho’ üzüm çeşidi ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.7. FC analizine hazırlama aşamaları

3.3.9. Kromozom sayısı

SA ve EMS uygulaması sonrasında hayatta kalarak gelişen ve ploidi seviyesinin farklı olduğu FC analizleriyle öngörülen bitkilerin kök ucu hücrelerinde kromozom sayımları yapılmıştır. Bunun için kök uçları sabah erken saatte (10:30-11:00) alınmıştır. Kök örnekleri ön işlem uygulaması olarak, 0.002 M 8-hidroksikinolin solüsyonunda, +4°C’de 8 saat bekletilmiş, ardından kök uçları saf su ile temizlenmiş ve +4 °C’de 8 saat Carnoy çözeltisinde tespit edilmiştir. Hidroliz işlemi oda sıcaklığında 30 dakika 5 N HCl asit içerisinde bekletilerek gerçekleştirilmiş, devamında kök uçları saf sudan geçirilmiştir. Boyama aşamasında; + 4 °C’de %2’lik aseto orsein içerisinde 2 gün bekletilerek kök dokularının boyanması sağlanmış sonrasında, kök ucunun 0.5-1 mm’lik uç kısmı temiz lam üzerine alınarak, %45’lik asetik asitle ezme preparat hazırlanmıştır (Uysal ve ark., 2009; Yazar, 2018). Uygun metafaz elde edildikten sonra kromozomları sayılmıştır. FC analizleri gerçek triploitler ve yakın-triploitler (anöplitler) arasında ayırım yapamayıp sadece göreceli DNA içeriklerine yakın olarak ploidi düzeylerini sınıflandırabilmektedir (Okazaki ve ark., 2005; Dewitte ve ark., 2010). Gerçek kromozom sayısını belirlediği için en somut yöntem kromozom sayımıdır (Doležel ve ark., 2007; Dhooghe ve ark., 2011). Bununla birlikte bu yöntemde sınırlı sayıda hücre analiz edilebilmektedir (Bohanec, 2003; Dhooghe ve ark., 2011). Dahası birçok küçük kromozom sayılırken hata yapma olasılığı da vardır (Dhooghe ve ark., 2011). Çalışmamızda SA ve EMS uygulanan asma anacı ve üzüm çeşidi tohumlarından elde edilen fidelerdeki makroskobik, mikroskobik ve sitolojik değişiklikler tespit edilmiş ve Kyoho çeşidi özellikleri ile karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. EMS ve SA'nın Uygulama Sürelerine Göre LD%50 Değerlerine Etkileri

EMS ve SA'nın uygulama sürelerine göre LD%50 değerlerine etkileri Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. EMS ve SA'nın uygulama sürelerine göre LD%50 değerlerine etkileri

Genotipler	SA (%)		EMS (%)	
	2 Saat	4 Saat	6 Saat	10 Saat
41B	$3.81 \cdot 10^{-4}$	$3.64 \cdot 10^{-4}$	0.196	0.31
Fercal	0.36	$3.35 \cdot 10^{-8}$	0.001	0.013
Ekşi Kara	21.741	$2.72 \cdot 10^{-5}$	$8.05 \cdot 10^{-5}$	-
Gök Üzüm	$1.71 \cdot 10^{-6}$	$7.34 \cdot 10^{-11}$	$8.17 \cdot 10^{-5}$	$7.62 \cdot 10^{-5}$

SA uygulamalarının uygulama süresine göre LD50 değerleri 41B anacında, 2 saatlik SA uygulamasının LD50 $3.81 \cdot 10^{-4}$, 4 saatlik uygulamasında LD50 ise $3.64 \cdot 10^{-4}$ olarak belirlenmiştir. Fercal anacında 2 saatlik SA uygulamasının LD50 değeri 0.36% tespit edilmiştir. 4 saat uygulamalarında ise LD50 değeri $3.35 \cdot 10^{-8}$ olarak belirlenmiştir. Ekşi Kara çeşidinde 2 saatlik SA uygulamasında LD50 21.741, 4 saat uygulamasında LD50 değeri $2.72 \cdot 10^{-5}$ olarak tespit edilmiştir. Gök Üzüm çeşidinde 2 saatlik uygulamada LD50 değeri $1.71 \cdot 10^{-6}$ ve 4 saat SA uygulamasında LD50 $7.34 \cdot 10^{-11}$ olarak belirlenmiştir.

EMS uygulamalarının uygulama süresine göre LD50 değerleri 41B anacına yapılan 6 saat uygulamada LD50 değeri 0.196 ve 10 saat uygulamada LD50 değeri ise 0.31 olarak tespit edilmiştir. Fercal anacına 6 saat uygulamanın LD50 değeri 0.001'dir. 10 saat EMS uygulamasında ise LD 50 değeri 0.013 olarak hesaplanmıştır. Ekşi Kara çeşidine 6 saat EMS uygulamasının LD50 değeri $8.05 \cdot 10^{-5}$ olarak belirlenirken 10 saat uygulamasında LD50 değeri hayatta kalan fide olmadığından hesaplanamamıştır. Gök Üzüm çeşidine yapılan 6 saat uygulamada LD50 değeri $8.17 \cdot 10^{-5}$ ve 10 saat EMS uygulamasında LD50 değeri $7.62 \cdot 10^{-5}$ olarak tespit edilmiştir.

4.2. EMS ve SA'nın Uygulama Dozlarına Göre LD%50 Değerlerine Etkileri

EMS ve SA uygulamalarının uygulama dozlarına göre LD50 değerleri Çizelge 4.1'de sunulmuştur. SA uygulamalarının uygulama dozlarına göre LD50 değerleri 41B

anacına yapılan 0.01 doz uygulamasında hayatta kalan fide olmadığından LD50 değeri hesaplanamamıştır. 0.05'lik uygulamada LD 50 değeri 4.56 saat, 0.1'lik uygulamada LD50 değeri 2.2 saat ve 0.2'lik doz uygulamasında LD50 değeri 11.47 saat olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. EMS ve SA'nın uygulama dozlarına göre LD%50 değerlerine etkileri

	SA (doz)				EMS (doz)		
	0.01	0.05	0.1	0.2	0.01	0.02	0.5
41B	*	4.56	2.2	11.47	0.45	10.71	0.68
Fercal	*	*	2.46	1.21	16.67	9	1.78
Ekşi Kara	8.18	*	312.06	*	3.57	0.68	*
Gök Üzüm	20.89	*	172.28	10.73	*	$1.04 \cdot 10^{-9}$	*

Fercal anacında 0.01 ve 0.05 doz uygulamalarında hayatta kalan fide olmadığından LD50 değeri hesaplanamamıştır. 0.1 ve 0.2 doz uygulamalarında LD50 değerleri sırasıyla 2.46 ve 1.21 saat olarak hesaplanmıştır. Ekşi Kara çeşidinde 0.01 doz uygulamasında LD 50 değeri 8.18 saat olarak belirlenmiştir. 0.05, 0.1 ve 0.2 doz uygulamalarında hayatta kalan fide olmadığından LD50 değeri hesaplanamamış, 0.1 doz uygulaması için LD50 değeri 312.06 saat olarak hesaplanmıştır. Gök Üzüm çeşidinde 0.01 dozlu uygulamasında LD50 değeri 20.89 saat 0.1 doz uygulamasında 172.28 saat ve 0.2 doz uygulamasında 10.73 saat olarak hesaplanırken 0.05 doz uygulamasında hayatta kalan fide olmadığından LD50 değeri hesaplanamamıştır.

EMS uygulamalarının uygulama dozlarına göre LD50 değerleri 41B anacına yapılan 0.01, 0.02 ve 0.5 doz uygulamalarında LD50 değerleri sırasıyla 0.45 saat, 10.71 saat ve 0.68 saat olarak belirlenmiştir. Fercal anacında yapılan uygulamalarda LD50 değerleri uygulanan dozlara göre sırasıyla 16.67 saat, 9 saat ve 1.78 saat olarak belirlenmiştir. Ekşi Kara çeşidinde yapılan 0.01 ve 0.2 doz uygulamaları için LD50 değerleri sırasıyla 3.57 saat ve 0.68 saat olarak hesaplanırken 0.5'lik uygulamada hayatta kalan fide olmadığından LD50 değeri hesaplanamamıştır. Gök Üzüm çeşidinde sadece 0.02 doz uygulamasında LD50 değeri 10.71 saat olarak belirlenmiş diğer dozlarda hayatta kalan fide olmadığından LD50 değeri hesaplanamamıştır.

4.3. EMS Uygulamalarının Etkileri

4.3.1. EMS uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama sürgün uzunluklarına etkileri kontrolde en düşük (54.79 ± 6.93 cm) düzeyde belirlenmiştir. EMS-%0.01 6-s uygulamasında ortalama 67.50 ± 3.50 cm, EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları tüm bitkilere öldürücü etki yaptığından, canlı bitki kalmadığından sürgün boyu ölçümü yapılamamıştır. EMS-%0.02 6-s uygulamasında ortalama sürgün boyu 69.00 ± 6.00 cm olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.01 10-s ve EMS-%0.02 10-s EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları da öldürücü etki yaptığından sürgün uzunluk değerleri alınamamıştır (Çizelge 4.3.1).

Çizelge 4.3.1. EMS uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri

Doz (%)	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		54.79 ± 6.93 b	120.36 ± 9.53 a	129.43 ± 5.23 b	127.75 ± 7.90 a
0.01	6 Saat	67.50 ± 3.50 a	45.00 ± 5.00 c	82.17 ± 2.25 d	129.08 ± 1.91 a
0.01	10 Saat	*	122.44 ± 3.02 a	129.00 ± 6.08 b	73.33 ± 3.59 c
0.02	6 Saat	69.00 ± 6.00 a	61.50 ± 0.87 b	106.79 ± 4.74 c	92.54 ± 4.63 b
0.02	10 Saat	*	55.67 ± 2.52 b	50.39 ± 6.86 e	94.84 ± 1.21 b
0.5	6 Saat	*	*	55.22 ± 2.55 e	*
0.5	10 Saat	*	*	172.00 ± 12.49 a	*
AÖF P<0.05		4.99	10.24	11.61	8.11

*: Uygulama dozuna bağlı olarak veri alınacak canlı materyal oluşmamıştır.

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama sürgün uzunluklarına etkileri EMS-%0.01 6-saatte en düşük (45.00 ± 5.00 cm) düzeydedir. EMS kontrolde 120.36 ± 9.53 cm, EMS-%0.01 10-s uygulamasında 122.44 ± 3.02 cm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 61.50 ± 0.87 cm ve 55.67 ± 2.52 cm olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından dolayı sürgün uzunluğu ölçümü yapılamamıştır (Çizelge 4.3.1).

Fercal asma anacında EMS uygulamalarının ortalama sürgün uzunluklarına etkileri EMS-%0.02 10-saatte en düşüktür (50.39 ± 6.86 cm). EMS kontrolde 129.43 ± 5.23 cm kaydedilmiştir. EMS-%0.01 6-s uygulamasında 82.17 ± 2.25 cm, EMS-%0.01 10-s uygulamasında 129.00 ± 6.08 cm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.02 6-s uygulamasında ise 106.79 ± 4.74 cm olarak ölçülmüştür. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulananlarda ise bu değer sırasıyla 55.22 ± 2.55 cm ve 172.00 ± 12.49 cm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.1).

41B asma anacında EMS uygulamaları ortalama sürgün uzunluklarına etkileri EMS-%0.01 10-s uygulamasında (73.33 ± 3.59 cm) en düşüktür. EMS-%0.01 6-s uygulamasında 23.26 ± 0.23 cm, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 92.54 ± 4.63 cm ve 94.84 ± 1.21 cm olup EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamalarında öldürücü etki yaptığından sürgün uzunluk değerleri alınamamıştır (Çizelge 4.3.1).

4.3.2. EMS uygulamalarının yaprak enine (mm) etkileri

Ekşi Kara çeşidine EMS uygulamaların yaprak enine etkileri EMS-%0.02 6-s uygulamasında en düşük (22.33 ± 0.58 mm), EMS kontrolde 24.32 ± 0.83 mm ve EMS-%0.01 6-s uygulamalarında 23.00 ± 0.50 mm tespit edilmiştir. EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından bu değer alınamamıştır (Çizelge 4.3.2).

Çizelge 4.3.2. EMS uygulamalarının yaprak enine (mm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		24.32 ± 0.83 a	28.73 ± 1.21 a	30.36 ± 0.90 a	29.38 ± 0.89 a
0.01	6 saat	23.00 ± 0.50 ab	18.00 ± 1.73 b	29.00 ± 2.65 a	28.22 ± 1.17 a
0.01	10 saat	*	26.22 ± 3.47 a	27.67 ± 3.21 a	23.28 ± 0.86 b
0.02	6 saat	22.33 ± 0.58 bc	25.33 ± 2.08 a	22.64 ± 2.16 c	20.04 ± 0.95 c
0.02	10 saat	*	20.33 ± 2.52 b	26.81 ± 1.47 ab	24.89 ± 0.79 b
0.5	6 saat	*	*	22.56 ± 2.22 c	*
0.5	10 saat	*	*	23.67 ± 0.58 bc	*
	AÖF P<0.05	1.59	4.61	3.80	1.78

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama yaprak enine etkileri EMS-%0.01 6-s uygulamasında en düşük (18.00 ± 1.73 mm) bulunmuştur. EMS kontrolde 28.73 ± 1.21 mm ve EMS-%0.01 10-s uygulamalarında 26.22 ± 3.47 mm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 25.33 ± 2.08 mm ve 20.33 ± 2.52 mm ölçülmüştür. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak eni ölçümü yapılamamıştır (Çizelge 4.3.2).

Fercal asma anacında EMS uygulamaların ortalama yaprak enine etkileri EMS-%0.5 6-s uygulamasında en düşüktür (22.56 ± 2.22 mm). EMS kontrolde 30.36 ± 0.90 mm, EMS-%0.01 6-s'de 29.00 ± 2.65 mm, EMS-%0.01 10-s'de 27.67 ± 3.21 mm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında sırasıyla

22.64±2.16 mm ve 26.81±1.47 mm olarak belirlenirken EMS-%0.5 10-s uygulamasında 23.67±0.58 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.2).

41B asma anacında EMS uygulamalarında ortalama yaprak enine etkileri EMS-%0.02 10-s'de en düşüktür (20.04±0.95 mm). EMS kontrolde 29.38±0.89 mm, EMS-%0.01 6-saatte 28.22±1.17 mm, EMS-%0.01 10-s'de 23.28±0.86 mm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.02 10-s uygulamasında 24.89±0.79 mm bulunmuştur. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak en değerleri alınmamıştır (Çizelge 4.3.2).

4.3.3. EMS uygulamalarının yaprak boyuna (mm) etkileri

Ekşi Kara çeşidine EMS uygulamalarının ortalama yaprak boyuna etkileri EMS-%0.02 6-s'de en düşüktür (20.00±2.00 mm). Yaprak boyları EMS kontrolde 23.72±0.91 mm, EMS-%0.01 6-s uygulamasında 23.33±1.44 mm olarak kaydedilirken, EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak boy ölçümü yapılamamıştır (Çizelge 4.3.3).

Çizelge 4.3.3. EMS uygulamalarının yaprak boyuna (mm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		23.72±0.91 a	25.24±0.95 a	29.46±0.90 a	30.54±1.26 a
0.01	6 Saat	23.33±1.44 ab	16.67±1.53 c	28.00±1.73 a	29.75±0.94 a
0.01	10 Saat	*	24.44±1.50 a	29.67±0.58 a	21.06±1.07 c
0.02	6 Saat	20.00±2.00 bc	19.33±1.53 b	23.53±1.36 b	23.45±0.61 b
0.02	10 Saat	*	20.00±1.00 b	28.75±0.87 a	24.98±1.20 b
0.5	6 Saat	*	*	20.33±0.76 c	*
0.5	10 Saat	*	*	22.00±1.00 bc	*
	AÖF P<0.05	3.82	2.21	2.05	1.97

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamaların ortalama yaprak boyuna etkileri EMS-%0.01 6-s'de en düşük (16.67±1.53 mm) düzeydedir. Yaprak boyları EMS kontrolde 25.24±0.95 mm, EMS-%0.01 10-s 24.44±1.50 mm, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında sırasıyla 19.33±1.53 mm ve 20.00±1.00 mm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak boyu alınamamıştır (Çizelge 4.3.3).

Fercal asma anacında EMS uygulamaların ortalama yaprak boyuna etkileri EMS-%0.5 6-s'de en düşüktür (20.33±0.76 mm). Yaprak boyları EMS kontrolde

29.46±0.90 mm, EMS-%0.01 6-s'de 28.00±1.73 mm, EMS-%0.01 10-s 29.67±0.58 mm, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında 23.53±1.36 mm ve 28.75±0.87 mm, EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 20.33±0.76 mm ve 22.00±1.00 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.3).

41B asma anacında EMS uygulamalarında ortalama yaprak boyuna etkileri EMS-%0.01 10-s'de en düşüktür (21.06±1.07 mm). Yaprak boyları EMS kontrolde 30.54±1.26 mm, EMS-%0.01 6-s'de 29.75±0.94 mm, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 23.45±0.61 mm ve 24.98±1.20 mm olarak belirlenmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak boyu alınamamıştır (Çizelge 4.3.3).

4.3.4. EMS uygulamalarının yaprak sayısına (adet) etkileri

Ekşi Kara çeşidine EMS uygulamalarında ortalama yaprak sayısına etkileri EMS-0.01 6-s'de en düşük (5.83±0.29 adet) düzeydedir. Yaprak sayıları EMS kontrolde 7.57±0.58 adet, EMS-%0.0 6-s uygulamasında 7.50±0.50 adet olarak belirlenirken EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak sayımı yapılamamıştır (Çizelge 4.3.4).

Çizelge 4.3.4. EMS uygulamalarının yaprak sayısına (adet) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		7.57±0.58 a	12.95±1.47 a	17.66±0.98 a	7.82±0.55 a
0.01	6 Saat	5.83±0.29 b	6.00±1.00 b	6.17±0.76 bc	6.50±0.50 ab
0.01	10 Saat	*	12.33±1.15 a	6.67±1.53 bc	7.00±1.52 ab
0.02	6 Saat	7.50±0.50 a	8.00±1.00 b	6.82±0.95 c	6.01±0.91 b
0.02	10 Saat	*	7.33±0.58 b	16.44±1.83 a	6.61±0.59 ab
0.5	6 Saat	*	*	5.61±1.13 bc	*
0.5	10 Saat	*	*	7.33±1.15 c	*
AÖF P<0.05		0.81	2.02	1.17	1.17

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Gök Üzüm çeşidine EMS uygulamalarının ortalama yaprak sayısına etkileri EMS-0.01 6-s'de en düşük (6.00±1.00 adet) düzeydedir. Yaprak sayıları EMS kontrolde 12.95±1.47 adet, EMS-%0.01 10-saatte 12.33±1.15 adet, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında sırasıyla 8.00±1.00 adet ve 7.33±0.58 adet olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak sayılamamıştır (Çizelge 4.3.4).

Fercal asma anacında EMS uygulamalarının ortalama yaprak sayısına etkileri EMS-0.5 6-s'de en düşüktür (5.61 ± 1.13 adet). Yaprak sayıları EMS kontrolde 17.66 ± 0.98 adet, EMS-%0.01 6-s'de 6.17 ± 0.76 adet, EMS-%0.01 10-s'de 6.67 ± 1.53 adet, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s'de sırasıyla 6.82 ± 0.95 adet ve 16.44 ± 1.83 adet ve EMS-%0.5 10-s'de 7.33 ± 1.15 adet olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.4).

41B asma anacında EMS uygulamalarının ortalama yaprak sayısına etkileri EMS-0.02 6-s'de en düşüktür (6.01 ± 0.91 adet). Yaprak sayıları EMS kontrolde 7.82 ± 0.55 adet, EMS-%0.01-6-s ve EMS-%0.01 10-s uygulamalarında sırasıyla 6.50 ± 0.50 adet ve 7.00 ± 1.52 adet, EMS-%0.02 10-s uygulamasında 6.61 ± 0.59 adet tespit edilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak sayısı alınamamıştır (Çizelge 4.3.4).

4.3.5. EMS uygulamalarının sürgün çapına (mm) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama sürgün çapına etkileri EMS-0.01 6-s'de en düşük (1.75 ± 0.01 mm) düzeydedir. Sürgün çapları EMS kontrolde 2.09 ± 0.17 mm, EMS-%0.02 6-s'de 1.78 ± 0.22 mm olarak belirlenirken EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından sürgün çapları ölçülememiştir (Çizelge 4.3.5).

Çizelge 4.3.5. EMS uygulamalarının sürgün çapına (mm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		2.09 ± 0.17	2.91 ± 0.20 a	3.09 ± 0.19 a	2.40 ± 0.25 a
0.01	6 Saat	1.75 ± 0.01	1.89 ± 0.06 b	2.11 ± 0.39 b	2.28 ± 0.37 a
0.01	10 Saat	*	2.86 ± 0.31 a	3.07 ± 0.51 a	2.21 ± 0.28 a
0.02	6 Saat	1.78 ± 0.22	1.90 ± 0.19 b	1.88 ± 0.12 b	1.52 ± 0.08 b
0.02	10 Saat	*	1.93 ± 0.14 b	2.96 ± 0.39 a	2.00 ± 0.35 ab
0.5	6 Saat	*	*	1.93 ± 0.14 b	*
0.5	10 Saat	*	*	2.19 ± 0.48 b	*
AÖF $P < 0.05$		öd	0.31	0.53	0.43

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama sürgün çapına etkileri EMS-0.01 6-s uygulamasında en düşük (1.89 ± 0.06 adet) düzeydedir. Sürgün çapları EMS kontrolde 2.91 ± 0.20 mm, EMS-%0.01 10-s uygulamasında 2.86 ± 0.31 mm olarak tespit edilmiş, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 1.90 ± 0.19 mm ve 1.93 ± 0.14 mm olarak ölçülmüştür. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s

uygulamaları öldürücü etki yaptığından sürgün çapı ölçümleri yapılamamıştır (Çizelge 4.3.5).

Fercal asma anacında EMS uygulamalarının ortalama sürgün çapına etkileri EMS-0.5 6-s uygulamasında en düşüktür (1.88 ± 0.12 mm). Sürgün çapları EMS kontrolde 3.09 ± 0.19 mm, EMS-%0.01 6-s 2.11 ± 0.39 mm, EMS-%0.01 10-s uygulamasında 3.07 ± 0.51 mm, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 1.88 ± 0.12 mm ve 2.96 ± 0.39 mm, EMS-%0.5 10-s uygulamasında 2.19 ± 0.48 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.5).

41B asma anacında EMS uygulamalarının sürgün çapına etkileri EMS-0.02 6-s uygulamasında en düşüktür (1.52 ± 0.08 mm). Bu değer EMS kontrolde 2.40 ± 0.25 mm, EMS-%0.01 6-s ve EMS-%0.01 10-s uygulamalarında sırasıyla 2.28 ± 0.37 mm ve 2.21 ± 0.28 mm, EMS-%0.02 10-s uygulamasında 2.00 ± 0.35 mm olarak tespit edilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından sürgün çap ölçümleri yapılamamıştır (Çizelge 4.3.5).

4.3.6. EMS uygulamalarının yaprak kalınlığına (μm) etkileri

EMS uygulanan Ekşi Kara fidelerinde yaprak kalınlıkları kontrolde en düşük (118.15 ± 5.69 μm) düzeydedir. EMS %0.01 6-s uygulamasında 136.35 ± 5.05 μm , %0.01 6-s uygulamasında 146.45 ± 5.05 μm olarak ölçülürken, %0.01 10-s, %0.02 10-s, %0.5 6-s, %0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından bu değer alınamamıştır (Çizelge 4.3.6).

EMS uygulanan Gök Üzüm fidelerinde yaprak kalınlıkları kontrolde en düşük (117.92 ± 4.79 μm) düzeydedir. EMS %0.01 6-s ve %0.01 10-s uygulananlarda 130.15 ± 7.73 μm , %0.01 10-s uygulamasında 143.92 ± 7.58 μm olarak tespit edilmiştir. %0.02 6-s ve %0.02 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 135.27 ± 9.22 μm ve 118.67 ± 2.53 μm olarak kaydedilmiştir. %0.5 6-s ve %0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından bu değer alınamamıştır (Çizelge 4.3.6).

EMS uygulanan Fercal asma anacı fidelerinin yaprak kalınlıkları kontrolde en düşüktür (118.15 ± 5.44 μm). EMS %0.01 6-s uygulananlarda 142.24 ± 3.86 μm , %0.01 10-s uygulamasında 126.25 ± 5.05 μm olarak kaydedilmiştir. %0.02 6-s ve %0.02 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 115.15 ± 5.05 μm ve 104.36 ± 2.92 μm olarak kaydedilmiştir. %0.5 6-s ve %0.5 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 116.15 ± 5.05 μm ve 138.03 ± 5.49 μm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.6).

Çizelge 4.3.6. EMS uygulamalarının yaprak kalınlığına (μm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		118.15 $\pm$ 5.69 b	117.92 $\pm$ 4.79 c	118.15 $\pm$ 5.44 bc	119.60 $\pm$ 5.67
0.01	6 saat	136.35 $\pm$ 5.05 a	130.15 $\pm$ 7.73	142.24 $\pm$ 3.86	130.14 $\pm$ 6.33
0.01	10 saat	-	143.92 $\pm$ 7.58 a	126.25 $\pm$ 5.05 b	125.30 $\pm$ 6.20
0.02	6 saat	146.45 $\pm$ 5.05 a	135.27 $\pm$ 9.22 ab	115.15 $\pm$ 5.05 c	125.08 $\pm$ 6.68
0.02	10 saat	-	118.67 $\pm$ 2.53 c	104.36 $\pm$ 2.92 d	127.93 $\pm$ 5.83
0.5	6 saat	-	-	116.15 $\pm$ 5.05 c	-
0.5	10 saat	-	-	138.03 $\pm$ 5.49 a	-
AÖF p<0.05		1.53	9.98	8.68	öd

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

EMS uygulanan 41B asma anacı fidelerinin yaprak kalınlıkları kontrolde en düşüktür (119.60 $\pm$ 5.67 μm). EMS %0.01 6-s uygulananlarda 130.14 $\pm$ 6.33 μm , %0.01 10-s uygulamasında 125.30 $\pm$ 6.20 μm olarak kaydedilmiştir. %0.02 6-s ve %0.02 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 125.08 $\pm$ 6.68 μm ve 127.93 $\pm$ 5.83 μm olarak kaydedilirken %0.5 6-s ve %0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yapmış ve bu değer alınamamıştır (Çizelge 4.3.6).

4.3.7. EMS uygulamalarının stoma sayılarına (adet mm^{-2}) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının stoma sayılarına etkileri EMS-%0.02 6-s'de en düşük (195.69 $\pm$ 9.53 adet) düzeydedir. EMS kontrolde 266.39 $\pm$ 7.88 adet ve EMS-%0.01 6-s uygulamasında 210.42 $\pm$ 8.59 adet olarak belirlenmiştir. EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yapmış stoma sayımları yapılamamıştır (Çizelge 4.3.7).

Çizelge 4.3.7. EMS uygulamalarının stoma sayılarına (adet mm^{-2}) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		266.39 $\pm$ 7.88 a	249.98 $\pm$ 7.58 a	246.19 $\pm$ 3.79 a	253.76 $\pm$ 3.79 a
0.01	6 Saat	210.42 $\pm$ 8.59 b	194.43 $\pm$ 14.34 b	200.74 $\pm$ 5.01 c	176.33 $\pm$ 4.78 cd
0.01	10 Saat	*	137.61 $\pm$ 7.88 d	134.95 $\pm$ 5.07 f	215.26 $\pm$ 4.77 b
0.02	6 Saat	195.69 $\pm$ 9.53 b	180.96 $\pm$ 8.87 bc	189.38 $\pm$ 6.56 d	142.66 $\pm$ 12.18 e
0.02	10 Saat	*	170.86 $\pm$ 6.35 c	176.96 $\pm$ 2.98 e	162.44 $\pm$ 7.58 d
0.5	6 Saat	*	*	229.78 $\pm$ 5.74 b	*
0.5	10 Saat	*	*	167.49 $\pm$ 8.12 e	*
AÖF P<0.05		23.42	20.20	10.20	15.79

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama stoma sayılarına etkileri EMS-%0.01 10-s uygulamasında en düşük (137.61 $\pm$ 7.88 adet) düzeydedir. EMS kontrolde 249.98 $\pm$ 7.58 adet, EMS-%0.01 6-s uygulamasında 194.43 $\pm$ 14.34 adet olarak

tespit edilmiştir. EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında sırasıyla 180.96 ± 8.87 adet ve 170.86 ± 6.35 adet olarak belirlenmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından stoma sayıları alınamamıştır (Çizelge 4.3.7).

Fercal asma anacında EMS uygulamalarında stoma sayılarına etkileri EMS-%0.01 10-s uygulamasında en düşük (134.95 ± 5.07 adet) olmuştur. EMS kontrolde 246.19 ± 3.79 adet, EMS-%0.01 6-s uygulamasında 200.74 ± 5.01 adet olarak sayılmıştır. EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 189.38 ± 6.56 adet ve 176.96 ± 2.98 adet olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamalarında sırayla 229.78 ± 5.74 adet ve 167.49 ± 8.12 adet olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.7).

41B asma anacında EMS uygulamalarının ortalama stoma sayılarına etkileri EMS-%0.02 6-s uygulamasında en düşüktür (142.66 ± 12.18 adet). EMS kontrolde 253.76 ± 3.79 adet, EMS-%0.01 6-s ve EMS-%0.01 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 176.33 ± 4.78 adet ve 215.26 ± 4.77 adet olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.02 10-s uygulamasında 162.44 ± 7.58 adet belirlenirken EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığı için stoma sayılamamıştır (Çizelge 4.3.7).

4.3.8. EMS uygulamalarının stoma uzunluğuna (μm) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama stoma uzunluğuna etkileri stoma uzunlukları EMS kontrolde en düşük 27.71 ± 0.95 μm bulunmuştur. EMS-0.01 6-s'de (31.46 ± 0.95 μm) düzeyde etki etmiştir. EMS-%0.02 6-s'de 34.38 ± 1.19 μm olarak belirlenmiştir. EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından stoma uzunluk değerleri alınamamıştır (Çizelge 4.3.8).

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama stoma uzunluğuna etkileri stoma uzunlukları EMS kontrolde en düşük 28.75 ± 0.63 μm , EMS-0.01 6-saatte (30.83 ± 0.95 μm) düzeydedir. EMS-%0.01 10-saatte 31.04 ± 2.53 μm , EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında sırasıyla 30.83 ± 0.36 μm ve 31.88 ± 0.63 μm olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından stoma uzunluk ölçümleri yapılamamıştır (Çizelge 4.3.8).

Çizelge 4.3.8. EMS uygulamalarının stoma uzunluğuna (μm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		27.71 $\pm$ 0.95 c	28.75 $\pm$ 0.63 b	28.13 $\pm$ 0.63 d	27.71 $\pm$ 0.72 b
0.01	6 Saat	31.46 $\pm$ 0.95 b	30.83 $\pm$ 0.95 ab	31.25 $\pm$ 1.25 ab	31.04 $\pm$ 1.30 a
0.01	10 Saat	*	31.04 $\pm$ 2.53 ab	29.38 $\pm$ 1.08 cd	30.00 $\pm$ 0.63 a
0.02	6 Saat	34.38 $\pm$ 1.19 a	30.83 $\pm$ 0.36 ab	29.79 $\pm$ 0.72 bc	29.38 $\pm$ 0.00 ab
0.02	10 Saat	*	31.88 $\pm$ 0.63 a	32.29 $\pm$ 0.36 a	31.04 $\pm$ 1.30 a
0.5	6 Saat	*	*	30.63 $\pm$ 0.63 bc	*
0.5	10 Saat	*	*	32.50 $\pm$ 1.08 a	*
AÖF P<0.05		2.52	2.42	1.28	1.68

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

Fercal asma anacında EMS uygulamalarının ortalama stoma uzunluğuna etkileri EMS kontrolde en düşük 28.13 $\pm$ 0.63 μm bulunmuştur. EMS-%0.01 6-s'de 31.25 $\pm$ 1.25 μm , EMS-%0.01 10-s 29.38 $\pm$ 1.08 μm , EMS-%0.02 6-s 29.79 $\pm$ 0.72 μm , EMS-%0.02 10-s 32.29 $\pm$ 0.36 μm , EMS-%0.5 6-s 30.63 $\pm$ 0.63 μm ve EMS-%0.5 10-s 32.50 $\pm$ 1.08 μm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.8).

41B asma anacında EMS uygulamalarının ortalama stoma uzunluğuna etkileri EMS kontrolde en düşüktür 27.71 $\pm$ 0.72 μm , EMS-0.01 6-s uygulamasında (31.04 $\pm$ 1.30 μm). EMS-%0.01 10-s 30.00 $\pm$ 0.63 μm , EMS-%0.02 6-s 29.38 $\pm$ 0.00 μm ve EMS-%0.02 10-s 31.04 $\pm$ 1.30 μm olarak tespit edilirken EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından stoma uzunluk ölçümleri yapılamamıştır (Çizelge 4.3.8).

4.3.9. EMS uygulamalarının stoma genişliğine (μm) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama stoma genişliğine etkileri stoma genişlikleri EMS kontrolde 18.06 $\pm$ 0.23 μm , EMS-%0.01 6 s'de 19.79 $\pm$ 0.72 μm olarak ve EMS-0.02 6-s'de en düşük (22.92 $\pm$ 0.95 μm) düzeyde belirlenirken EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından stoma genişliği değerleri alınamamıştır (Çizelge 4.3.9).

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama stoma genişliğine etkileri stoma genişlikleri EMS kontrolde en düşük (18.54 $\pm$ 0.36 μm) düzeydedir. EMS-0.01 6-s (21.04 $\pm$ 1.30 μm) ve EMS-%0.01 10-s 21.04 $\pm$ 0.72 μm , EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulananlarda ise sırasıyla 21.04 $\pm$ 0.72 μm ve 23.96 $\pm$ 0.95 μm olarak

kaydedilirken EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından bu değerler alınamamıştır (Çizelge 4.3.9).

Çizelge 4.3.9. EMS uygulamalarının stoma genişliğine (μm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		18.06 $\pm$ 0.23 c	18.54 $\pm$ 0.36 c	18.33 $\pm$ 0.72 c	18.75 $\pm$ 0.63 b
0.01	6 Saat	19.79 $\pm$ 0.72 b	21.04 $\pm$ 1.30 b	22.71 $\pm$ 0.95 a	21.46 $\pm$ 1.57 a
0.01	10 Saat	*	21.04 $\pm$ 0.72 b	22.71 $\pm$ 0.95 a	20.42 $\pm$ 0.36 ab
0.02	6 Saat	22.92 $\pm$ 0.95 a	21.04 $\pm$ 0.72 b	20.21 $\pm$ 0.72 b	20.00 $\pm$ 0.63 ab
0.02	10 Saat	*	23.96 $\pm$ 0.95 a	21.25 $\pm$ 0.63 b	21.46 $\pm$ 0.72 a
0.5	6 Saat	*	*	20.63 $\pm$ 0.63 b	*
0.5	10 Saat	*	*	23.13 $\pm$ 0.63 a	*
AÖF P<0.05		1.40	0.86	1.36	1.74

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Fercal asma anacında EMS uygulamalarında ortalama stoma genişliğine etkileri EMS kontrolde en düşüktür (18.33 $\pm$ 0.72 μm). EMS-%0.01 6-s uygulamasında 22.71 $\pm$ 0.95 μm ve EMS-%0.01 10-s 22.71 $\pm$ 0.95 μm . EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 20.21 $\pm$ 0.72 μm ve 21.25 $\pm$ 0.63 μm olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamalarında ise sırayla 20.63 $\pm$ 0.63 μm ve 23.13 $\pm$ 0.63 μm tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.9.).

41B asma anacında EMS uygulamalarının ortalama stoma genişliğine etkileri EMS kontrolde en düşüktür (18.33 $\pm$ 0.72 μm). EMS-%0.01 6-s uygulamasında 21.46 $\pm$ 1.57 μm ve EMS-0.01 10-s uygulamasında 20.42 $\pm$ 0.36 μm olarak belirlenmiştir. EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamaları ise sırayla 20.00 $\pm$ 0.63 μm ve 21.46 $\pm$ 0.72 μm tespit edilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından stoma genişliği ölçülememiştir (Çizelge 4.3.9).

4.3.10. EMS uygulamalarının yaprak klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama yaprak klorofil içeriğine etkileri EMS-0.02 6-s'de en düşüktür (24.00 $\pm$ 1.04 SPAD değeri). Yaprak klorofil içerikleri EMS kontrolde 24.44 $\pm$ 0.96 SPAD değeri, EMS-%0.01 6-saatte 26.83 $\pm$ 2.27 SPAD değeri olarak kaydedilirken, EMS-%0.01 10-s, EMS-%0.02 10-s, EMS-%0.5 6-s, EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından bu değer alınamamıştır (Çizelge 4.3.10).

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamaların ortalama yaprak klorofil içeriğine etkileri EMS-%0.02 10-s'de en düşük (19.17 ± 1.50 SPAD değeri) düzeydedir. Yaprak klorofil içerikleri EMS kontrolde 27.31 ± 0.84 SPAD değeri, EMS-%0.01 6-s ve EMS-%0.01 10-s uygulamalarında sırayla 20.87 ± 1.08 ve 32.70 ± 1.99 SPAD değeri, EMS-%0.02 6-s uygulamasında 22.60 ± 1.54 SPAD değeri kaydedilirken EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından bu ölçümler yapılamamıştır (Çizelge 4.3.10).

Çizelge 4.3.10. EMS uygulamalarının yaprak klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		24.44 ± 0.96	27.31 ± 0.84 b	25.29 ± 0.90 b	21.97 ± 1.54 bc
0.01	6 Saat	26.83 ± 2.27	20.87 ± 1.08 cd	21.75 ± 2.38 bc	26.08 ± 0.86 a
0.01	10 Saat	*	32.70 ± 1.99 a	24.37 ± 1.60 bc	22.13 ± 0.74 bc
0.02	6 Saat	24.00 ± 1.04	22.60 ± 1.54 c	20.24 ± 3.02 c	26.82 ± 0.51 a
0.02	10 Saat	*	19.17 ± 1.50 d	30.01 ± 1.66 a	19.50 ± 4.59 c
0.5	6 Saat	*	*	21.30 ± 1.05 bc	*
0.5	10 Saat	*	*	30.92 ± 3.53 a	*
AÖF P<0.05		öd	2.22	3.19	3.95

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Fercal asma anacında EMS uygulamalarının ortalama yaprak klorofil içeriğine etkileri EMS-0.02 6-s'de en düşüktür (20.24 ± 3.02 SPAD değeri). Bu değer EMS kontrolde 25.29 ± 0.90 , EMS-%0.01 6-s'de 21.75 ± 2.38 , EMS-%0.01 10-s'de 24.37 ± 1.60 , EMS-%0.02 10-s'de 30.01 ± 1.66 SPAD değeri belirlenirken, EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamalarında ise sırayla 21.30 ± 1.05 ve 30.92 ± 3.53 SPAD değeri kaydedilmiştir (Çizelge 4.3.10).

41B asma anacında EMS uygulamalarının ortalama yaprak klorofil içeriğine etkileri EMS-0.02 10-s uygulamasında en düşüktür (19.50 ± 4.59 SPAD değeri). Yaprak klorofil içerikleri EMS kontrolde 21.97 ± 1.54 , EMS-%0.01 6-s ve EMS-%0.01 10-s'de sırasıyla 26.08 ± 0.86 ve 22.13 ± 0.74 , EMS-%0.02 6-s uygulamasında 26.82 ± 0.51 SPAD değeri olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından yaprak klorofil içeriği değerleri alınamamıştır (Çizelge 4.3.10).

4.3.11. EMS uygulamalarının kloroplast sayılarına (adet) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde EMS uygulamalarının yaprak kloroplast sayılarına etkileri incelenmiş ve kontrolde en düşük (19.97 ± 0.23 adet) düzeyde belirlenmiştir. EMS-

%0.01 6-s uygulamasında 20.17 ± 0.29 adet, EMS-%0.02 6-s uygulamasında ortalama 20.33 ± 1.04 adet kloroplast sayılmıştır. EMS-%0.01 10-s ve EMS-%0.02 10-s ve EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından kloroplast sayılamamıştır (Çizelge 4.3.11).

Çizelge 4.3.11. EMS uygulamalarının kloroplast sayılarına (adet) etkileri

Doz (%)	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		19.97 ± 0.23	20.07 ± 0.31 c	20.05 ± 0.29 b	20.1 ± 0.22
0.01	6 Saat	20.17 ± 0.29	24.00 ± 1.73 b	24.44 ± 1.92 a	23.26 ± 0.23
0.01	10 Saat	*	23.17 ± 0.76 b	22.67 ± 0.58 a	21.27 ± 1.70
0.02	6 Saat	20.33 ± 1.04	28.67 ± 2.08 a	24.89 ± 3.20 a	23.52 ± 3.76
0.02	10 Saat	*	21.83 ± 1.04 bc	24.78 ± 0.40 a	22.07 ± 1.01
0.5	6 Saat	*	*	22.83 ± 0.73 a	*
0.5	10 Saat	*	*	25.33 ± 0.58 a	*
AÖF $P < 0.05$		öd	2.56	2.73	öd

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Gök Üzüm çeşidinde EMS uygulamalarının ortalama yaprak kloroplast sayıları kontrolde en düşük (20.07 ± 0.31 adet) düzeyde tespit edilmiştir. EMS-%0.01 6-s'de 24.00 ± 1.73 adet, EMS-%0.01 10-s'de 23.17 ± 0.76 adet, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulananlarda sırasıyla 28.67 ± 2.08 adet ve 21.83 ± 1.04 adet olarak kaydedilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından kloroplast sayılamamıştır (Çizelge 4.3.11).

Fercal asma anacında EMS uygulamalarının yaprak kloroplast sayılarına etkileri kontrolde en düşüktür (20.05 ± 0.29 adet). EMS-%0.01 6-s uygulananlarda 24.44 ± 1.92 adet, EMS-%0.01 10-s'de 22.67 ± 0.58 adet, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulananlarda sırasıyla 24.89 ± 3.20 adet ve 24.78 ± 0.40 adet, EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulananlarda sırasıyla 22.83 ± 0.73 adet ve 25.33 ± 0.58 adet kloroplast tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.11).

41B asma anacı fidelerinde EMS uygulamalarının yaprak kloroplast sayılarına etkileri kontrolde en düşüktür (20.1 ± 0.22 adet). EMS-%0.01 6-s uygulamasında 23.26 ± 0.23 adet, EMS-%0.01 10-s uygulamasında 21.27 ± 1.70 adet, EMS-%0.02 6-s ve EMS-%0.02 10-s uygulamalarında ise sırasıyla 23.52 ± 3.76 adet ve 22.07 ± 1.01 adet tespit edilmiştir. EMS-%0.5 6-s ve EMS-%0.5 10-s uygulamaları öldürücü etki yaptığından kloroplast sayılamamıştır (Çizelge 4.3.11).

4.4. SA Uygulamalarının Etkileri

4.4.1. SA uygulamalarının sürgün uzunluğuna (cm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama sürgün uzunluk değerleri SA-%0.05 2-s uygulamasında en düşük (21.33 ± 0.58 cm) ve SA-kontrolde 54.79 ± 6.93 cm sürgün uzunluğu ölçülmüştür. SA-%0.01 4-s uygulamasında sürgün boyu 56.20 ± 8.86 cm, SA-%0.05 4-s uygulamasında ortalama 56.20 ± 8.86 cm, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 107.89 ± 13.59 cm ve 62.33 ± 2.52 cm, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında sırasıyla 30.00 ± 2.00 cm ve 56.33 ± 3.21 cm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.01 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından, sürgün oluşmadığından bu değerler alınamamıştır (Çizelge 4.4.1).

Çizelge 4.4.1. SA uygulamalarının sürgün uzunluğuna (cm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		54.79 ± 6.93 b	120.36 ± 9.53 b	129.43 ± 5.23 b	127.75 ± 7.90 a
0.01	2 Saat	*	71.17 ± 10.56 d	67.67 ± 3.40 e	54.39 ± 6.84 e
0.01	4 Saat	56.20 ± 8.86 c	55.43 ± 2.61 e	85.64 ± 3.79 b	106.33 ± 1.45 b
0.05	2 Saat	21.33 ± 0.58 d	134.58 ± 11.9 a	156.80 ± 13.65 a	70.78 ± 2.80 d
0.05	4 Saat	58.50 ± 5.63 c	56.00 ± 2.00 e	105.65 ± 2.15 c	90.97 ± 1.84 c
0.1	2 Saat	107.89 ± 13.59 a	92.17 ± 10.10 c	121.89 ± 3.01 b	63.75 ± 0.90 d
0.1	4 Saat	62.33 ± 2.52 c	64.44 ± 5.23 de	80.64 ± 3.87 d	109.61 ± 9.03 b
0.2	2 Saat	30.00 ± 2.00 d	51.13 ± 0.23 e	81.04 ± 3.08 d	*
0.2	4 Saat	56.33 ± 3.21 c	64.10 ± 2.29 de	63.93 ± 1.79 e	40.00 ± 2.00 f
AÖF $P < 0.05$		12.59	13.25	10.07	9.26

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır, öd: önemli değil.

Gök Üzüm çeşidinde SA uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri SA-%0.2 2-s uygulamasında en düşük düzeyde bulunurken (51.13 ± 0.23 cm), SA kontrolde 120.36 ± 9.53 cm, SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 71.17 ± 10.56 cm ve 55.43 ± 2.61 cm olarak kaydedilmiştir, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 134.58 ± 11.9 cm ve 56.00 ± 2.00 cm, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 92.17 ± 10.10 cm ve 64.44 ± 5.23 cm, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 51.13 ± 0.23 cm ve 64.10 ± 2.29 cm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4.1).

Fercal anacında SA uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri SA-%0.2 4-s'de en düşük (63.93 ± 1.79 cm) düzeyde belirlenirken SA kontrolde 129.43 ± 5.23 cm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 67.67 ± 3.40 cm ve 85.64 ± 3.79 cm, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında ise sırasıyla

156.80±13.65 cm ve 105.65±2.15 cm, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 121.89±3.01 cm ve 80.64±3.87 cm, SA-%0.2 2-s uygulamasında ise 81.04±3.08 cm olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.1).

41B anacında SA uygulamalarının sürgün uzunluğuna etkileri SA-%0.2 4-s'de en düşük (40.00±2.00 cm) düzeydeyken SA kontrolde 127.75±7.90 cm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 54.39±6.84 cm ve 106.33±1.45 cm, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05-4 s uygulamalarında sırasıyla 70.78±2.80 cm ve 90.97±1.84 cm, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 63.75±0.90 cm ve 109.61±9.03 cm olarak kaydedilmiş olup SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından sürgün uzunluğu ölçümü yapılamamıştır (Çizelge 4.4.1).

4.4.2. SA uygulamalarının yaprak enine (mm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama yaprak eni değerleri SA-%0.01 4-s'de en düşük (21.07±2.61 mm) düzeydedir. SA kontrolde 24.32±0.83 mm, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 35.67±6.66 mm ve 25.00±2.65 mm olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 47.56±4.86 mm ve 21.33±0.58 mm, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 38.67±1.53 mm ve 22.00±3.46 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.2).

Çizelge 4.4.2. SA uygulamalarının yaprak enine (mm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41 b
Kontrol		24.32±0.83 c	28.73±1.21 b	30.36±0.90 ab	29.38±0.89 a
0.01	2 Saat	*	24.50±0.50 cd	25.50±2.50 bc	22.00±0.87 c
0.01	4 Saat	21.07±2.61 c	16.20±2.08 f	26.44±1.32 b	25.81±0.80 b
0.05	2 Saat	35.67±6.66 b	27.00±3.04 bc	29.46±2.39 ab	22.50±1.80 c
0.05	4 Saat	25.00±2.65 c	25.00±1.73 cd	27.10±4.42 b	23.70±0.82 c
0.1	2 Saat	47.56±4.86 a	48.00±3.46 a	32.04±4.13 a	21.89±0.19 c
0.1	4 Saat	21.33±0.58 c	19.94±1.36 e	25.80±1.11 bc	22.25±1.98 c
0.2	2 Saat	38.67±1.53 b	22.22±0.84 de	25.45±2.82 bc	*
0.2	4 Saat	22.00±3.46 c	24.60±1.97 cd	21.20±1.60 c	26.00±1.00 b
AÖF P<0.05		6.35	3.56	4.81	2.17

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama yaprak eni değerleri SA-%0.01 4-s'de en düşük (16.20±2.08 mm) düzeydedir. SA kontrolde 28.73±1.21 mm olarak

belirlenmiştir. SA-%0.01 2-s uygulamasında 24.50 ± 0.50 mm, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 27.00 ± 3.04 mm ve 25.00 ± 1.73 mm olarak ölçülmüştür. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 48.00 ± 3.46 mm ve 19.94 ± 1.36 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında sırasıyla 22.22 ± 0.84 mm ve 24.60 ± 1.97 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.2).

SA uygulanan Fercal anacında ortalama yaprak eni değerleri SA-%0.2 4-s'de en düşük (21.20 ± 1.60 mm) düzeydedir. SA kontrolde 30.36 ± 0.90 mm, SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 25.50 ± 2.50 mm ve 26.44 ± 1.32 mm, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 29.46 ± 2.39 mm ve 27.10 ± 4.42 mm olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 32.04 ± 4.13 mm ve 25.80 ± 1.11 mm, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 25.45 ± 2.82 adet ve 21.20 ± 1.60 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.2).

SA uygulanan 41B anacında ortalama yaprak eni değerleri SA-%0.1 2-s uygulamasında en düşük (21.89 ± 0.19 mm) düzeydedir. SA kontrolde 29.38 ± 0.89 mm, SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 22.00 ± 0.87 mm ve 25.81 ± 0.80 mm olarak tespit edilmiş, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 22.50 ± 1.80 mm ve 23.70 ± 0.82 mm olarak ve SA-%0.1 4-s uygulamasında 22.25 ± 1.98 mm ve SA-%0.2 4-s uygulamasında 26.00 ± 1.00 mm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından bu değer alınamamıştır (Çizelge 4.4.2).

4.4.3. SA uygulamalarının yaprak boyuna (mm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama yaprak boyları SA-%0.01 4-s en düşük (20.00 ± 3.00 mm) düzeydedir. SA kontrolde 23.72 ± 0.91 mm ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 31.33 ± 5.13 mm ve 22.17 ± 2.57 mm olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 27.61 ± 1.51 mm ve 20.00 ± 3.00 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 27.33 ± 1.53 mm ve 21.00 ± 3.61 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.3).

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama yaprak boyları SA-%0.01 4-s'de en düşük (16.27 ± 1.42 mm) düzeydedir. SA kontrolde 25.24 ± 0.95 adet ve SA-%0.01 2-s uygulamasında 23.50 ± 0.50 mm olarak belirlenmiştir ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 24.83 ± 0.76 mm ve 24.33 ± 2.08 mm olarak hesaplanmıştır.

SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 44.39 ± 2.47 mm ve 21.06 ± 1.42 mm olarak belirlenirken SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda sırasıyla 21.73 ± 1.10 mm ve 24.73 ± 0.64 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.3).

Çizelge 4.4.3. SA uygulamalarının yaprak boyuna (mm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		23.72 ± 0.91 bc	25.24 ± 0.95 b	29.46 ± 0.90 ab	30.54 ± 1.26 a
0.01	2 Saat	-	23.50 ± 0.50 bc	25.25 ± 1.39 cd	20.33 ± 0.58 e
0.01	4 Saat	20.40 ± 1.22 c	16.27 ± 1.42 d	26.46 ± 1.19 bc	24.16 ± 1.57 bc
0.05	2 Saat	31.33 ± 5.13 a	24.83 ± 0.76 b	28.51 ± 1.07 bc	23.11 ± 0.84 cd
0.05	4 Saat	22.17 ± 2.57 c	24.33 ± 2.08 b	27.61 ± 3.58 bc	25.37 ± 1.10 b
0.1	2 Saat	27.61 ± 1.51 ab	44.39 ± 2.47 a	32.31 ± 2.49 a	22.64 ± 0.60 cd
0.1	4 Saat	20.00 ± 3.00 c	21.06 ± 1.42 c	22.57 ± 0.93 de	21.58 ± 1.42 de
0.2	2 Saat	27.33 ± 1.53 ab	21.73 ± 1.10 c	25.73 ± 1.30 c	-
0.2	4 Saat	21.00 ± 3.61 c	24.73 ± 0.64 b	22.07 ± 0.76 e	24.33 ± 1.53 bc
AÖF $P < 0.05$		5.20	2.52	2.86	2.14

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Fercal anacında ortalama yaprak boyları SA-0.2 4-s'de en düşük (22.07 ± 0.76 mm) düzeydedir. SA kontrolde 29.46 ± 0.90 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulananlarda sırasıyla 25.25 ± 1.39 mm ve 26.46 ± 1.19 mm ve SA-%0.05 2-saat ve SA-%0.05 4-saat uygulananlarda sırasıyla 28.51 ± 1.07 mm ve 27.61 ± 3.58 mm olarak belirlenirken SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda sırasıyla 32.31 ± 2.49 mm ve 22.57 ± 0.93 mm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 25.73 ± 1.30 mm ve 22.07 ± 0.76 mm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4.3).

SA uygulanan 41B çeşidinde ortalama yaprak boyları SA-0.1 2-s'de en düşük (20.33 ± 0.58 mm) düzeydedir. SA kontrolde 30.54 ± 1.26 mm ve SA-%0.01 4-s uygulananlarda 25.81 ± 0.80 mm, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 23.11 ± 0.84 mm ve 25.37 ± 1.10 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s uygulamasında 22.64 ± 0.60 mm ve SA-%0.1 4-s uygulamasında 21.58 ± 1.42 mm ve SA-%0.2 4-s uygulamasındaysa 24.33 ± 1.53 mm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından yaprak boyu alınamamıştır (Çizelge 4.4.3).

4.4.4. SA uygulamalarının yaprak sayılarına (adet) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama yaprak sayıları SA-0.1 2-s'de en düşük (4.67 ± 1.53 adet) düzeyde, SA kontrolde 23.72 ± 0.91 adet ve SA-%0.01 4-s

uygulamasında 6.33 ± 0.58 adet olarak tespit edilmiştir. SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 7.00 ± 1.00 adet ve 5.67 ± 1.53 adet, SA-%0.1 4-s'de 5.33 ± 1.53 adet ve SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında sırasıyla 14.00 ± 1.00 adet ve 6.00 ± 1.00 adet olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.4).

Çizelge 4.4.4. SA uygulamalarının yaprak sayılarına (adet) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		7.57 ± 0.58 b	12.95 ± 1.47 a	17.66 ± 0.98 a	7.82 ± 0.55 b
0.01	2 Saat	*	5.33 ± 0.58 cd	4.42 ± 0.72 c	5.44 ± 0.92 df
0.01	4 Saat	6.33 ± 0.58 bd	6.28 ± 0.48 bd	6.87 ± 1.03 b	6.27 ± 0.46 cd
0.05	2 Saat	7.00 ± 1.00 bc	7.33 ± 1.04 bc	7.48 ± 0.63 b	5.11 ± 0.54 ef
0.05	4 Saat	5.67 ± 1.53 bd	7.33 ± 1.15 bc	6.46 ± 1.10 b	6.97 ± 0.45 bc
0.1	2 Saat	4.67 ± 1.53 d	5.92 ± 0.88 bd	6.60 ± 1.09 b	6.00 ± 0.67 ce
0.1	4 Saat	5.33 ± 1.53 cd	8.89 ± 4.44 b	7.19 ± 0.93 b	9.56 ± 0.51 a
0.2	2 Saat	14.00 ± 1.00 a	3.89 ± 0.19 d	5.89 ± 0.84 bc	*
0.2	4 Saat	6.00 ± 1.00 bd	6.30 ± 0.26 bd	5.80 ± 0.72 bc	4.67 ± 0.58 f
AÖF P<0.05		1.99	3.04	1.45	1.10

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama yaprak sayıları SA-0.2 2-s'de en düşük (3.89 ± 0.19 adet) düzeydedir. SA kontrolde 12.95 ± 1.47 adet, SA-0%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 5.33 ± 0.58 ve 6.28 ± 0.48 adet olarak kaydedilirken SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 7.33 ± 1.04 adet ve 7.33 ± 1.15 adet, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 5.92 ± 0.88 adet ve 8.89 ± 4.44 adet olarak ve SA-%0.2 4-s uygulamasında 6.30 ± 0.26 adet olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.4).

SA uygulanan Fercal anacında ortalama yaprak sayıları SA-0.01 2-s'de en düşük (4.42 ± 0.72 adet) düzeyde ve SA kontrolde 17.66 ± 0.98 adet olarak belirlenmiştir. SA-%0.01 4-s'de 6.87 ± 1.03 adet, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 7.48 ± 0.63 adet ve 6.46 ± 1.10 adet olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 6.60 ± 1.09 adet ve 7.19 ± 0.93 adet, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 5.89 ± 0.84 adet ve 5.80 ± 0.72 adet olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.4).

SA uygulanan 41B anacında ortalama yaprak sayıları SA-0.2 4-s'de en düşük (4.67 ± 0.58 adet) düzeydedir. SA kontrolde 7.82 ± 0.55 adet, SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 5.44 ± 0.92 ve 6.27 ± 0.46 adet, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 5.11 ± 0.54 adet ve 6.97 ± 0.45 adet olarak

hesaplanmıştır. SA-%0.1 2-s uygulamasında 6.00 ± 0.67 ve SA-%0.1 4-s uygulamasında 9.56 ± 0.51 adet olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından yaprak sayımı yapılamamıştır (Çizelge 4.4.4).

4.4.5. SA uygulamalarının sürgün çapına (mm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama sürgün çapı SA-0.05 4-s'de en düşük (1.42 ± 0.40 mm) düzeydedir. SA kontrolde 2.09 ± 0.17 mm, SA-%0.01 4-s'de 1.77 ± 0.14 mm, SA-%0.05 2-s uygulamasında 2.31 ± 0.11 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırayla 1.92 ± 0.48 mm ve 1.72 ± 0.26 adet, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 3.04 ± 0.06 mm ve 1.66 ± 0.07 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.5).

Çizelge 4.4.5. SA uygulamalarının sürgün çapına (mm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		2.09 ± 0.17 bc	2.91 ± 0.20 a	3.09 ± 0.19 a	2.40 ± 0.25 a
0.01	2 Saat	*	1.90 ± 0.08 bc	1.78 ± 0.24 d	1.47 ± 0.10 d
0.01	4 Saat	1.77 ± 0.14 cd	1.64 ± 0.25 c	1.83 ± 0.08 d	2.00 ± 0.11 bc
0.05	2 Saat	2.31 ± 0.11 b	2.29 ± 0.46 b	2.44 ± 0.13 b	1.61 ± 0.06 d
0.05	4 Saat	1.42 ± 0.40 d	1.76 ± 0.20 c	1.91 ± 0.14 d	2.18 ± 0.17 ab
0.1	2 Saat	1.92 ± 0.48 bc	1.91 ± 0.04 bc	2.39 ± 0.22 bc	1.73 ± 0.15 cd
0.1	4 Saat	1.72 ± 0.26 cd	2.12 ± 0.41 bc	1.99 ± 0.17 d	2.16 ± 0.26 ab
0.2	2 Saat	3.04 ± 0.06 a	1.83 ± 0.29 bc	1.77 ± 0.23 d	*
0.2	4 Saat	1.66 ± 0.07 cd	1.87 ± 0.06 bc	2.09 ± 0.16 cd	1.64 ± 0.03 d
AÖF P<0.05		0.42	0.41	0.32	0.30

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama sürgün çapı SA-0.01 4-s'de en düşük (1.64 ± 0.25 mm) düzeydedir. SA kontrolde 2.91 ± 0.20 mm, SA-%0.01 2-s uygulamasında 1.90 ± 0.08 mm ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 2.29 ± 0.46 mm ve 1.76 ± 0.20 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 1.91 ± 0.04 mm ve 2.12 ± 0.41 mm, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırayla 1.83 ± 0.29 mm ve 1.87 ± 0.06 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.5).

SA uygulanan Fercal anacında ortalama sürgün çapı SA-0.2 2-s'de en düşük (1.77 ± 0.23 mm) düzeydedir. SA kontrolde 3.09 ± 0.19 mm, SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla 1.78 ± 0.24 mm ve 1.83 ± 0.08 mm, SA-%0.05 2-s ve SA-

%0.05 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 2.44 ± 0.13 mm ve 1.91 ± 0.14 mm olarak bulunmuştur. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 2.39 ± 0.22 mm ve 1.99 ± 0.17 mm ve SA-%0.2 4-s uygulamasında 2.09 ± 0.16 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.5).

SA uygulanan 41B anacında ortalama sürgün çapı SA-0.01 2-s'de en düşük (1.47 ± 0.10 mm) düzeydedir. SA kontrolde 2.40 ± 0.25 mm, SA-%0.01 4-s uygulamasında 2.00 ± 0.11 mm ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 1.61 ± 0.06 mm ve 2.18 ± 0.17 mm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s uygulamasında 1.73 ± 0.15 mm ve SA-%0.1 4-s uygulamasında ise 2.16 ± 0.26 mm olarak belirlenmiştir. SA-%0.2 4-s uygulamasında 1.64 ± 0.03 mm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından sürgün çapı ölçümü alınamamıştır (Çizelge 4.4.5).

4.4.6. SA uygulamalarının yaprak kalınlığına (μm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara fidelerinde yaprak kalınlık değerleri kontrolde en düşük (118.15 ± 5.69 μm) düzeydedir. SA %0.01 4-s'de 151.5 ± 10.10 μm , %0.05 2-s ve %0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 129.98 ± 7.55 μm ve 134.66 ± 11.66 μm olarak kaydedilmiştir. %0.1 2-s ve %0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 131.70 ± 7.01 μm ve 111.1 ± 10.10 μm olarak kaydedilmiştir. %0.2 2-s ve %0.2 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 128.01 ± 4.07 μm ve 134.01 ± 8.37 μm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.6).

Çizelge 4.4.6. SA uygulamalarının yaprak kalınlığına (μm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		118.15 ± 5.69 cd	117.92 ± 4.79 c	118.15 ± 5.44 cd	119.60 ± 5.67 c
0.01	2 Saat	-	119.58 ± 5.40 c	100.15 ± 3.90 e	134.66 ± 2.92 b
0.01	4 Saat	151.5 ± 10.10 a	127.94 ± 7.00 bc	135.5 ± 6.39 a	139.71 ± 2.92 b
0.05	2 Saat	129.98 ± 7.55 bc	95.95 ± 8.75 d	133.65 ± 5.18 ab	117.83 ± 5.83 c
0.05	4 Saat	134.66 ± 11.66 b	119.51 ± 10.51 c	129.61 ± 2.92 ab	158.23 ± 11.66 a
0.1	2 Saat	131.70 ± 7.01 bc	142.47 ± 4.22 ab	112.78 ± 2.92 d	136.35 ± 5.05 b
0.1	4 Saat	111.1 ± 10.10 d	127.93 ± 11.66 bc	125.75 ± 6.05 ac	137.71 ± 8.95 b
0.2	2 Saat	128.01 ± 4.07 bc	143.92 ± 12.63 a	124.56 ± 7.71 bc	-
0.2	4 Saat	134.01 ± 8.37 bc	119.51 ± 2.92 c	127.93 ± 8.83 ac	138.76 ± 11.35 b
AÖF $p < 0.05$		14.79	13.32	9.51	15.21

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

Gök Üzüm fidelerinde yaprak kalınlıkları kontrolde en düşük (117.92 ± 4.79 μm) düzeydedir. SA %0.01 2-s ve %0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 119.58 ± 5.40 μm ve

127.94±7.00 µm olarak kaydedilirken %0.05 2-s ve %0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 95.95±8.75 µm ve 119.51±10.51 µm olarak kaydedilmiştir. %0.1 2-s ve %0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 142.47±4.22 µm ve 127.93±11.66 µm olarak kaydedilirken %0.2 2-s ve %0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 143.92±12.63 µm ve 119.51±2.92 µm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.6).

Fercal fidelerinde yaprak kalınlıkları kontrolde en düşük (118.15±5.44 µm) düzeydedir. SA %0.01 2-s ve %0.01 4-s uygulananlarda sırasıyla 100.15±3.90 µm ve 135.5±6.39 µm olarak kaydedilirken %0.05 2-s ve %0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 133.65±5.18 µm ve 129.61±2.92 µm olarak kaydedilmiştir. %0.1 2-s ve %0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 112.78±2.92 µm ve 125.75±6.05 µm, %0.2 2-s ve %0.2 4-s uygulamalarında sırasıyla 124.56±7.71 µm ve 127.93±8.83 µm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.6).

41B fidelerinde yaprak kalınlıkları kontrolde en düşüktür (119.60±5.67 µm). SA %0.01 2-s ve %0.01 4-s uygulananlarda sırasıyla 134.66±2.92 adet ve 139.71±2.92 µm, %0.05 2-s ve %0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 117.83±5.83 µm ve 158.23±11.66 µm, %0.1 2-s ve %0.1 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 136.35±5.05 µm ve 137.71±8.95 µm ve %0.2 4-s uygulamasında 138.76±11.35 µm olarak kaydedilmiştir. %0.2 2 saat uygulaması öldürücü etki yaptığından kloroplast sayılamamıştır (Çizelge 4.4.6).

4.4.7. SA uygulamalarının stoma sayılarına (adet mm⁻²) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama stoma sayıları SA-%0.2 4-s'de en düşük (179.28±11.57 adet mm⁻²) düzeydedir. SA kontrolde 266.39±7.88 adet mm⁻², SA-%0.01 4-s uygulamasında 197.46±16.20 adet mm⁻² olarak tespit edilmiştir. SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırayla 207.05±5.79 adet mm⁻² ve 186.85±12.18 adet mm⁻² olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 2-s uygulamalarında ise sırayla 210.84±7.88 adet mm⁻² ve 207.89±7.29 adet mm⁻² ve SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 204.53±16.51 adet mm⁻² ve 179.28±11.57 adet mm⁻² olarak kaydedilmiştir. SA-%0.01 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından stoma sayılamamıştır (Çizelge 4.4.7).

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama stoma sayıları SA-%0.2 2-s'de en düşük (136.35±15.15 adet mm⁻²) düzeydedir. SA kontrolde 249.98±7.58 adet mm⁻² olarak tespit edilmiştir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla 151.50±9.10 adet mm⁻² ve 180.79±11.37 adet mm⁻² olarak ve SA-%0.05 2-s ve SA-

%0.05 4-s uygulamalarında ise sırasıyla 159.08 ± 10.02 adet mm^{-2} ve 164.13 ± 4.37 adet mm^{-2} olarak kaydedilmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 170.86 ± 22.91 adet mm^{-2} ve 175.49 ± 3.94 adet mm^{-2} , SA-%0.2 4-s uygulamasında ise 191.27 ± 8.25 adet mm^{-2} olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.7).

Çizelge 4.4.7. SA uygulamalarının stoma sayılarına (adet mm^{-2}) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	41 B	Fercal
Kontrol		266.39 ± 7.88 a	249.98 ± 7.58 a	253.76 ± 3.79 a	246.19 ± 3.79 a
0.01	2 saat	*	151.50 ± 9.10 de	234.83 ± 2.19 b	182.22 ± 4.06 c
0.01	4 saat	197.46 ± 16.20 bd	180.79 ± 11.37 bc	188.69 ± 16.70 d	212.10 ± 7.88 b
0.05	2 saat	207.05 ± 5.79 bc	159.08 ± 10.02 cd	217.15 ± 4.37 c	245.43 ± 9.22 a
0.05	4 saat	186.85 ± 12.18 cd	164.13 ± 4.37 cd	176.19 ± 6.43 de	191.40 ± 14.32 c
0.1	2 saat	210.84 ± 7.88 b	170.86 ± 22.91 bd	210.95 ± 8.04 c	183.69 ± 5.39 c
0.1	4 saat	207.89 ± 7.29 bc	175.49 ± 3.94 bc	164.76 ± 11.52 e	230.79 ± 17.43 a
0.2	2 saat	204.53 ± 16.51 bc	136.35 ± 15.15 e	*	163.04 ± 9.82 d
0.2	4 saat	179.28 ± 11.57 d	191.27 ± 8.25 b	181.17 ± 10.77 de	228.77 ± 4.54 a
AÖF $P < 0.05$		19.39	17.40	15.65	16.92

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Fercal anacında ortalama stoma sayıları SA-%0.2 2-s'de en düşük (163.04 ± 9.82 adet mm^{-2}) düzeydedir. SA kontrolde 246.19 ± 3.79 adet mm^{-2} , SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla 182.22 ± 4.06 adet mm^{-2} ve 212.10 ± 7.88 adet mm^{-2} , SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 245.43 ± 9.22 adet mm^{-2} ve 191.40 ± 14.32 adet mm^{-2} olarak belirlenirken SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda sırasıyla 183.69 ± 5.39 adet mm^{-2} ve 230.79 ± 17.43 adet mm^{-2} olarak belirlenmiştir. SA-%0.2 4-s uygulamasında ise 228.77 ± 4.54 adet mm^{-2} olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.7).

SA uygulanan 41B anacında ortalama stoma sayıları SA-%0.1 4-s en düşük (164.76 ± 11.52 adet mm^{-2}) düzeydedir. SA kontrolde 253.76 ± 3.79 adet mm^{-2} , SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla 234.83 ± 2.19 adet mm^{-2} ve 188.69 ± 16.70 adet mm^{-2} olarak ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 217.15 ± 4.37 adet mm^{-2} ve 176.19 ± 6.43 adet mm^{-2} olarak belirlenmiş, SA-%0.1 2-s'de 210.95 ± 8.04 adet mm^{-2} ve SA-%0.2 4-s uygulamasında ise 181.17 ± 10.77 adet mm^{-2} olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından stoma sayısı sayılamamıştır (Çizelge 4.4.7).

4.4.8. SA uygulamalarının stoma uzunluğuna (µm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama stoma uzunluğu SA kontrolde en düşük 27.71 ± 0.95 µm düzeyde, SA-%0.01 4-s uygulamasında 30.00 ± 1.08 µm, SA-%0.05 2-s ve SA-0.05 4-s uygulananlarında sırayla 30.83 ± 0.72 µm ve 33.96 ± 1.30 µm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırayla 30.21 ± 0.95 µm ve 30.63 ± 0.63 µm, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 31.04 ± 1.30 µm ve 32.08 ± 0.95 µm olarak kaydedilmiştir. SA-%0.01 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından stoma uzunluğu alınamamıştır (Çizelge 4.4.8).

Çizelge 4.4.8. SA uygulamalarının stoma uzunluğuna (µm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		27.71 ± 0.95 d	28.75 ± 0.63 de	28.13 ± 0.63 d	27.71 ± 0.72 d
0.01	2 Saat	*	31.46 ± 0.95 bd	31.67 ± 1.57 ab	30.21 ± 0.72 ac
0.01	4 Saat	30.00 ± 1.08 c	29.58 ± 0.72 de	31.04 ± 0.72 ac	28.75 ± 0.63 cd
0.05	2 Saat	30.83 ± 0.72 a	35.00 ± 2.17 a	29.17 ± 0.72 cd	29.79 ± 0.36 bc
0.05	4 Saat	33.96 ± 1.30 bc	31.46 ± 1.57 bd	32.08 ± 0.72 a	31.46 ± 1.30 ab
0.1	2 Saat	30.21 ± 0.95 bc	31.25 ± 0.63 bd	32.29 ± 1.57 a	31.46 ± 1.57 ab
0.1	4 Saat	30.63 ± 0.63 bc	32.29 ± 0.72 bc	30.83 ± 0.95 ac	29.38 ± 1.25 cd
0.2	2 Saat	31.04 ± 1.30 bc	33.13 ± 1.08 ab	29.79 ± 0.72 bd	*
0.2	4 Saat	32.08 ± 0.95 b	30.63 ± 0.63 ce	32.29 ± 0.95 a	31.88 ± 0.99 a
AÖF P<0.05		1.81	2.01	1.74	1.73

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama stoma uzunluğu kontrolde en düşük (28.75 ± 0.63 µm) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla 31.46 ± 0.95 µm ve 29.58 ± 0.72 µm olarak tespit edilmiştir. SA-%0.05 2-s uygulamasında 35.00 ± 2.17 µm, SA-0.05 4-s'de 31.46 ± 1.57 µm, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamaların sırasıyla 31.25 ± 0.63 µm ve 32.29 ± 0.72 µm olarak belirlenmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırayla 33.13 ± 1.08 µm ve 30.63 ± 0.63 µm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.8).

SA uygulanan Fercal anacında ortalama stoma uzunluğu kontrolde en düşük (28.13 ± 0.63 µm) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-0.01 4-s uygulamalarında 31.67 ± 1.57 µm ve 31.04 ± 0.72 µm olarak belirlenmiştir. SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 29.17 ± 0.72 µm ve 32.08 ± 0.72 µm, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 32.29 ± 1.57 µm ve 30.83 ± 0.95 µm olarak belirlenmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırayla 29.79 ± 0.72 µm ve 32.29 ± 0.95 µm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.8).

SA uygulanan 41B anacında ortalama stoma uzunluğu kontrolde en düşük ($27.71 \pm 0.72 \mu\text{m}$) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-0.01 4-s uygulamalarında sırayla $30.21 \pm 0.72 \mu\text{m}$ ve $28.75 \pm 0.63 \mu\text{m}$, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla $29.79 \pm 0.36 \mu\text{m}$ ve $31.46 \pm 1.30 \mu\text{m}$, SA-%0.1 2-s uygulamasında $31.46 \pm 1.57 \mu\text{m}$ ve SA-%0.1 4-s uygulamasında $29.38 \pm 1.25 \mu\text{m}$, SA-%0.2 4-s uygulamasında ise $31.88 \pm 0.99 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından stoma uzunluğu alınamamıştır (Çizelge 4.4.8).

4.4.9. SA uygulamalarının stoma genişliğine (μm) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama stoma genişlikleri kontrolde en düşük ($18.06 \pm 0.23 \mu\text{m}$) düzeydedir. SA-%0.01 4-s uygulamasında $21.88 \pm 1.65 \mu\text{m}$, SA-%0.05 2-s uygulamasında $23.96 \pm 0.72 \mu\text{m}$ ve SA-%0.05 4-s uygulamasında $21.46 \pm 0.72 \mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırayla $22.29 \pm 0.72 \mu\text{m}$ ve $21.46 \pm 1.30 \mu\text{m}$, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarında ise sırasıyla $23.13 \pm 0.63 \mu\text{m}$ ve $23.13 \pm 1.25 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir. SA-%0.01 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından stoma genişliği alınamamıştır (Çizelge 4.4.9).

Çizelge 4.4.9. SA uygulamalarının stoma genişliğine (μm) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		18.06 ± 0.23 c	18.54 ± 0.36 e	18.33 ± 0.72 e	18.75 ± 0.63 c
0.01	2 Saat	*	20.42 ± 0.36 d	21.67 ± 0.95 cd	21.04 ± 0.95 b
0.01	4 Saat	21.88 ± 1.65 b	21.67 ± 0.95 cd	22.71 ± 0.95 ac	20.63 ± 0.63 b
0.05	2 Saat	23.96 ± 0.72 a	25.21 ± 0.72 a	20.83 ± 0.95 d	20.63 ± 0.63 b
0.05	4 Saat	21.46 ± 0.72 b	20.63 ± 1.08 d	23.75 ± 1.08 ab	22.50 ± 0.63 a
0.1	2 Saat	22.29 ± 0.72 ab	20.83 ± 0.95 cd	21.67 ± 0.95 cd	23.54 ± 0.36 a
0.1	4 Saat	21.46 ± 1.30 b	22.29 ± 1.30 bc	22.29 ± 0.72 bd	20.00 ± 0.63 b
0.2	2 Saat	23.13 ± 0.63 ab	23.54 ± 0.72 b	18.96 ± 0.72 e	*
0.2	4 Saat	23.13 ± 1.25 ab	21.46 ± 0.36 cd	24.17 ± 0.95 a	22.71 ± 0.72 a
AÖF $P < 0.05$		1.70	1.38	1.65	1.03

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama stoma genişlikleri kontrolde en düşük ($18.54 \pm 0.36 \mu\text{m}$) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla $20.42 \pm 0.36 \mu\text{m}$ ve $21.67 \pm 0.95 \mu\text{m}$, SA-%0.05 2-s ve SA-0.05 4-s uygulamalarında sırayla $25.21 \pm 0.72 \mu\text{m}$ ve $20.63 \pm 1.08 \mu\text{m}$, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda sırasıyla $20.83 \pm 0.95 \mu\text{m}$ ve $22.29 \pm 1.30 \mu\text{m}$, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında ise sırayla $23.54 \pm 0.72 \mu\text{m}$ ve $21.46 \pm 0.36 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.9).

SA uygulanan Fercal anacında ortalama stoma genişlikleri kontrolde en düşük ($18.33 \pm 0.72 \mu\text{m}$) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla $21.67 \pm 0.95 \mu\text{m}$ ve $22.71 \pm 0.95 \mu\text{m}$, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla $20.83 \pm 0.95 \mu\text{m}$ ve $23.75 \pm 1.08 \mu\text{m}$, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda sırasıyla $21.67 \pm 0.95 \mu\text{m}$ ve $22.29 \pm 0.72 \mu\text{m}$, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırayla $18.96 \pm 0.72 \mu\text{m}$ ve $24.17 \pm 0.95 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.9).

SA uygulanan 41B anacında ortalama stoma genişlikleri kontrolde en düşük ($18.75 \pm 0.63 \mu\text{m}$) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulananlarda $21.04 \pm 0.95 \mu\text{m}$ ve $20.63 \pm 0.63 \mu\text{m}$, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla $20.63 \pm 0.63 \mu\text{m}$ ve $22.50 \pm 0.63 \mu\text{m}$, SA-%0.1 2-s uygulamasında $23.54 \pm 0.36 \mu\text{m}$ ve SA-%0.1 4-s uygulamasında $20.00 \pm 0.63 \mu\text{m}$, SA-%0.2 4-s uygulamasında ise $22.71 \pm 0.72 \mu\text{m}$ olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından stoma genişliği alınamamıştır (Çizelge 4.4.9).

4.4.10. SA uygulamalarının klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkileri

SA uygulanan Ekşi Kara çeşidinde ortalama klorofil içerikleri SA-0.2 4-s'de en düşük (22.43 ± 0.95 SPAD değeri) düzeydedir. SA kontrolde 24.44 ± 0.96 SPAD değeri, SA-%0.01 4-s uygulamasında 25.27 ± 3.12 SPAD değeri tespit edilmiştir ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 23.03 ± 2.68 SPAD değeri ve 526.33 ± 2.48 SPAD değeri olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırayla 25.93 ± 7.96 SPAD değeri ve 25.00 ± 1.71 SPAD değeri olarak hesaplanmış, SA-%0.2 2-s uygulamasında ise 38.57 ± 0.38 SPAD değeri olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.10).

SA uygulanan Gök Üzüm çeşidinde ortalama klorofil içerikleri 0.1 4 s'de en düşük (19.98 ± 0.76 SPAD değeri) düzeydedir. SA kontrolde 27.31 ± 0.84 SPAD değeri tespit edilmiştir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırasıyla 27.68 ± 2.35 SPAD değeri ve 22.91 ± 2.36 SPAD değeri olarak kaydedilirken SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 23.40 ± 0.82 SPAD değeri ve 20.37 ± 1.12 SPAD değeri olarak bulunmuştur. SA-%0.1 2-s uygulamasında 28.00 ± 3.93 SPAD değeri olarak ve SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında sırayla 22.64 ± 0.40 SPAD değeri ve 20.24 ± 2.24 SPAD değeri olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4.10).

Çizelge 4.4.10. SA uygulamalarının klorofil içeriğine (SPAD değeri) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		24.44±0.96 cd	27.31±0.84 ab	25.29±0.90 a	21.97±1.54 c
0.01	2 Saat	*	27.68±2.35 ab	20.98±1.07 d	21.72±1.45 c
0.01	4 Saat	25.27±3.12 cd	22.91±2.36 bc	21.45±0.95 d	22.53±2.42 bc
0.05	2 Saat	23.03±2.68 cd	23.40±0.82 bc	24.36±1.17 ab	21.81±1.23 c
0.05	4 Saat	26.33±2.48 bc	20.37±1.12 cd	20.65±0.79 d	24.52±0.47 ab
0.1	2 Saat	25.93±7.96 cd	28.00±3.93 a	23.25±0.53 bc	21.92±1.02 c
0.1	4 Saat	25.00±1.71 cd	19.98±0.76 cd	18.27±0.59 e	23.71±0.61 bc
0.2	2 Saat	38.57±0.38 a	22.64±0.40 bc	21.18±1.33 d	*
0.2	4 Saat	22.43±0.95 cd	20.24±2.24 cd	21.91±1.06 cd	26.67±0.58 a
AÖF P<0.05		6.18	3.37	1.71	2.44

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

SA uygulanan Fercal anacında ortalama klorofil içerikleri SA-0.01 4-s'de en düşük (18.27±0.59 SPAD değeri) düzeydedir. SA kontrolde 25.29±0.90 SPAD değeri belirlenirken SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulamalarında sırayla 20.98±1.07 SPAD değeri ve 21.45±0.95 SPAD değeri hesaplanmış, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 24.36±1.17 SPAD değeri ve 20.65±0.79 SPAD değeri olarak tespit edilmiştir. SA-%0.1 2-s uygulamasında 23.25±0.53 SPAD değeri, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 22.64±0.40 SPAD değeri ve 20.24±2.24 SPAD değeri olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.10).

SA uygulanan 41B anacında ortalama klorofil içerikleri SA-0.01 2-s'de en düşük (21.72±1.45 SPAD değeri) bulunurken SA kontrolde 21.97±1.54 SPAD değeri belirlenmiştir. SA-%0.01 4-s uygulamasında 22.53±2.42 SPAD değeri ve SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 21.81±1.23 SPAD değeri ve 24.52±0.47 SPAD değeri olarak tespit edilmiş, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında 21.92±1.02 ve 23.71±0.61 SPAD değeri olarak ve SA-%0.2 4-s uygulamasında 26.67±0.58 SPAD değeri olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından klorofil içeriği alınamamıştır (Çizelge 4.4.10).

4.4.11. SA uygulamalarının kloroplast sayılarına (adet) etkileri

Ekşi Kara çeşidinde SA uygulanan örneklerin ortalama yaprak kloroplast sayıları kontrolde en düşük (19.97±0.23 adet) bulunmuştur. SA-%0.01 4-s uygulamasında 20.00±0.00 adet, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 27.33±0.58 adet ve 21.17±0.29 adet, SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 19.83±1.76 adet ve 22.94±1.42 adet, SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulamalarında

sırasıyla 29.67 ± 2.08 adet ve 25.33 ± 1.28 adet olarak tespit edilmiştir. SA-%0.01 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından kloroplast sayılamamıştır (Çizelge 4.4.11).

Çizelge 4.4.11. SA uygulamalarının kloroplast sayılarına (adet) etkileri

Doz	Süre	Ekşi Kara	Gök Üzüm	Fercal	41B
Kontrol		$19.97 \pm 0.23c$	$20.07 \pm 0.31f$	$20.05 \pm 0.29 d$	$20.10 \pm 0.22 b$
0.01	2 saat	*	$24.67 \pm 1.15 cd$	$20.33 \pm 0.58 d$	$23.89. \pm 1.2 a$
0.01	4 saat	$20.00 \pm 0.00 c$	$22.57 \pm 1.40 de$	$24.95 \pm 0.98 a$	$21.78 \pm 1.75 ab$
0.05	2 saat	$27.33 \pm 0.58 a$	$28.67 \pm 1.53 a$	$24.11 \pm 1.17 ab$	$23.94 \pm 3.03 a$
0.05	4 saat	$21.17 \pm 0.29 bc$	$22.50 \pm 0.90 de$	$20.67 \pm 1.15 d$	$24.78 \pm 1.95 a$
0.1	2 saat	$22.33 \pm 1.53 b$	$19.83 \pm 1.76 ef$	$20.67 \pm 1.15 d$	$21.78 \pm 1.68 ab$
0.1	4 saat	$21.33 \pm 1.53 bc$	$22.94 \pm 1.42 cd$	$22.83 \pm 1.23 bc$	$23.44 \pm 2.04 a$
0.2	2 saat	$21.33 \pm 1.53 bc$	$29.67 \pm 2.08 ab$	$23.67 \pm 0.58 ab$	*
0.2	4 saat	$20.67 \pm 1.15 bc$	$25.33 \pm 1.28 bc$	$21.20 \pm 1.59 cd$	$25.00 \pm 1.00 a$
AÖF $P < 0.05$		1.45	2.44	1.92	3.00

*: Veri alınacak canlı materyal olmadığından veri alınamamıştır.

Gök Üzüm çeşidinde SA uygulanan örneklerin ortalama yaprak kloroplast sayıları kontrolde en düşük (20.07 ± 0.31 adet) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulananlarda sırasıyla 24.67 ± 1.15 adet ve 22.57 ± 1.40 adet olarak bulunmuştur. SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulamalarında sırasıyla 28.67 ± 1.53 adet ve 22.50 ± 0.90 adet olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda sırasıyla 22.33 ± 1.53 adet ve 21.33 ± 1.53 adet olarak tespit edilmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 21.33 ± 1.53 adet ve 20.67 ± 1.15 adet olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.11).

Fercal anacında SA uygulanan örneklerin ortalama yaprak kloroplast sayıları kontrolde en düşüktür (20.05 ± 0.29 adet). SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulananlarda sırasıyla 20.33 ± 0.58 adet ve 24.95 ± 0.98 adet, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 24.11 ± 1.17 adet ve 22.50 ± 0.90 adet olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulamalarında sırasıyla 20.67 ± 1.15 adet ve 22.83 ± 1.23 adet olarak tespit edilmiştir. SA-%0.2 2-s ve SA-%0.2 4-s uygulananlarda ise sırasıyla 23.67 ± 0.58 adet ve 21.20 ± 1.59 adet olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4.11).

41B anacında SA uygulanan örneklerin ortalama kloroplast sayıları kontrolde en düşük (20.10 ± 0.22 adet) düzeydedir. SA-%0.01 2-s ve SA-%0.01 4-s uygulananlarda sırasıyla $23.89. \pm 1.2$ adet ve 21.78 ± 1.75 adet olarak belirlenmiştir, SA-%0.05 2-s ve SA-%0.05 4-s uygulananlarda sırasıyla 23.94 ± 3.03 adet ve 24.78 ± 1.95 adet olarak belirlenmiştir. SA-%0.1 2-s ve SA-%0.1 4-s uygulananlarda sırasıyla 21.78 ± 1.68 adet

ve 23.44 ± 2.04 adet olarak ve SA-%0.2 4-s uygulamasındaysa 25.00 ± 1.00 adet olarak kaydedilmiştir. SA-%0.2 2-s uygulaması öldürücü etki yaptığından kloroplast sayımı yapılamamıştır (Çizelge 4.4.11).

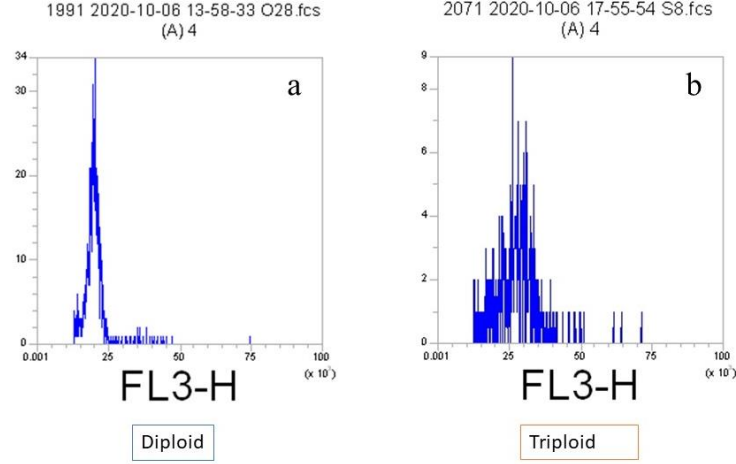
4.4.12. FC analiz sonuçları

Her iki mutagen uygulamaları sonucunda hayatta kalan ve fide olarak gelişebilen bitki sayıları Ekşi Kara'da 39, Gök Üzüm'de 48, 41B'de 78 ve Fercal'de 103 olmak üzere toplamda 268 adettir. Bu fidelerde sürgün, yaprak, klorofil, stoma ve kloroplast gözlemleriyle mutagen uygulamalarına bağlı farklılaşmalar dikkate alınarak ön eleme yapılmıştır. Ön eleme sonucunda Ekşi Kara'dan 8, Gök Üzüm'den 17, 41B'den 9 ve Fercal'den 16 olmak üzere toplam 50 adet fidenin genom katlanma olasılığı öngörülmüştür. Bu seçilmiş fidelerde genom düzeyinde kromozom katlanmasını doğrulamak üzere FC analizi yapılmıştır. FC analizi sonunda Gök Üzüm çekirdeklerine yapılan SA %0.05 2-s uygulamasından sonra hayatta kalarak gelişen sadece 1 adet 'Gök Üzüm' fidesinin genom düzeyinde katlandığı, triploit veya yakın triploit hale geldiği doğrulanmıştır (Şekil 4.4.12). Diploit numune histogramları ~20 kanalında (Şekil 4.4.12.a) pik yaparken, triploit/yakın triploit numunede histogram ~30 kanalında (Şekil 4.4.12b) pik yapmıştır.

Bitkilerin sahip olduğu tüm kromozomlar hücre çekirdeğinde bulunduğundan, nDNA miktarı ile ploidi seviyesi tahmin edilebilir (Lu ve ark., 1998). Bu nedenle FC analiziyle bitki örneklerindeki ploidi seviyeleri incelenmiş ve bir bitkide triploit/yakın triploit tespit edilmiştir.

Boyali çekirdek, FC yardımıyla ölçülebilen bir floresan yayar ve floresan yoğunluğu ploidi seviyesi ile doğrudan ilişkilidir (Salma ve ark., 2017). Sonuçlarımızda da triploit/yakın triploit bitki, diploide göre daha yüksek floresan yoğunluğunda pike ulaşmıştır.

Mısır (Kato ve Birchler, 2006), zambak (Barba-Gonzalez ve ark., 2006; Kitamura ve ark., 2009), orkide (Chou ve ark., 2013), asma (Özer, 2021) gibi türlerde mutagen muamelesi ile anöplid ve triploit genotipler elde edilmiştir. Çalışmamızda Gök üzüm çeşidinde SA uygulanan tohumlardan elde edilen bir bitkinin FC analizi ve kromozom sayımı sonucuna göre triploit/yakın triploit genotip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.4.12. Gök Üzüm (2n) ve Gök Üzüm neslinde (4x) FC analiz sonucu

4.4.13. Kromozom sayımı sonuçları

FC analizi sonunda genom düzeyinde kromozom katlanması olduğu tespit edilen 1 adet Gök Üzüm fidesinde kromozom sayımı için kök ucu örnekleri alınarak Doğan (2022)'a göre hazırlanan örneklerde kromozom sayımı yapılmıştır. Kromozom sayımı sonucunda FC analiziyle tetraploit olduğu öngörülen SA %0.05 2-s uygulamasından sonra hayatta kalarak gelişen Gök Üzüm fidesinin genom düzeyinde katlandığı, tetraploit/yakın triploit hale geldiği ve 57 kromozomu bulunduğu belirlenmiştir.

Hücre sabitlemede kullanılan Carnoy solüsyonu, 1:3 (glasiyal asetik asit: etanol) oranında kullanılabileceği gibi 1:3:6 (glasiyal asetik asit: kloroform: etanol) oranında da kullanılabilir (Mirzaghaderi, 2010). Çalışmamızda ikinci tip solüsyon kullanılmıştır.

Eksplant hazırlığı sırasında günün saati önemlidir. Doğru zamanda eksplant alınması daha fazla sayıda mitotik hücre vermesi beklenir (Eng ve Ho, 2019). Seçilen genotipten numune alınması erken (saat 9.30) saatlerde gerçekleştirilmiştir.

Ploidi düzeyi analizi için uygulanan kromozom boyama yöntemi, bitki türüne ve kromozom boyutuna bağlıdır. Feulgen boyaması, her türde etkilidir, ancak küçük genom boyutuna (düşük miktarda nDNA) sahip bitkilerde zayıf boyanmaya neden olabilir. *Arabidopsis*, *Beta*, *Brassica*, *Oryza*, *Solanum* ve diğerleri gibi küçük kromozomlu türler için DAPI ile floresan boyama özellikle önerilmektedir. Yöntem her tür için uygulanabilir ancak bir floresan mikroskobu gerektirir (Maluszynska, 2003). Çalışmamızda kök meristemi bozulmadan, aseto-orcein ile boyanmıştır, bu boyanın diğer türlerde olduğu gibi asmada da başarılı olduğu kanıtlanmıştır (Doğan, 2022).

Başarılı boyama, sıcaklığa, pH'ya, ozmotik dengeye ve fiksasyon süresine bağlıdır. Faktörlerden herhangi birinde bir tutarsızlık varsa, yetersiz boyama meydana gelebilir. Fiksasyon, kromozom görünürlüğünün bağlı olduğu sitolojik yöntemdeki en kritik adımdır. Hücrelerdeki kromozom sayısını saymak, ışık mikroskobunun zayıf büyütmesi nedeniyle zordur (Nagahatenna ve Peiris, 2008). Çalışmamızda kök ucu ezme yöntemiyle hazırlanan preparatlar, x1000 floresan mikroskop ile gözlenmiştir.

Kolhisin uygulamasının sonuçları, bitkilerin ikinci neslinde hala belirgin olduğundan, gelecekteki karşılaştırmalarda en azından üçüncü nesil poliploitler dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir (Münzbergová, 2017). Çalışmamız sonuçları değerlendirilirken stoma gözlemleri, klorofil ölçümü, DAPI boyamayla FC analizi ve kök ucundan kromozom sayımları birinci nesilde gerçekleştirilirken, PI boyamayla FC analizi ve yapraktan kromozom sayımları ikinci nesilde gerçekleştirilmiştir.

Kumar ve Gupta (2015), üç tam kromozom setine sahip bir hücreye triploit dendiğini, canlı nesiller üretmek için kromozomların çiftler halinde oluşması gerektiğini ancak triploit bitkilerde tek sayıdaki kromozomların düzgün bir şekilde eşleşemediğinden kısır olduklarını bildirdiler. Tane bağlama ve irilik artışı için triploit çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde yapılan önceki araştırmalarda Sujeong (Heo ve Park, 2017) ve Bea-Kei (Wakana ve ark., 2008) üzüm çeşitlerinde tam çiçeklenmede bir kez GA3 uygulaması yeterli olurken, Champion Seedless (Zhao ve ark., 2006) üzüm çeşidinde tam çiçeklenme ve tane bağlamadan sonra olmak üzere 2 defa GA₃+CPPU (Forchlorfenuron) uygulaması önerilmiştir.

4.5. Seçilmiş Triploit/Yakın Triploit Gök Üzüm Fidesinin Özellikleri

Seçilmiş triploit Gök Üzüm fidesinin özellikleri Çizelge 4.5'te ebeveyni Gök Üzüm (3x) ve Kyoho (4x) ile karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Buradan da görüleceği gibi seçilmiş triploit/yakın triploit Gök Üzüm fidesinin stoma uzunluğu $33.89 \pm 0.96 \mu\text{m}$, stoma genişliği $21.11 \pm 1.39 \mu\text{m}$, stoma yoğunluğu 195.29 ± 2.92 adet mm^{-2} , yaprak klorofil içeriği 25.93 ± 1.94 (SPAD değeri) ve yaprak kloroplast sayısı 29.33 ± 3.06 adet/stoma hücresi olarak belirlenmiştir. Bu değerler ebeveyn Gök Üzüm'den uzak, Kyoho (4x) çeşidine daha yakın bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Seçilmiş Gök Üzüm fidesinin bazı özellikleri

Özellikler	Triploit Gök Üzüm fidesi	Gök Üzüm	Kyoho
Stoma uzunluğu (µm)	33.89±0.96	26.67±1.67	37.50±2.20
Stoma genişliği (µm)	21.11±1.39	17.11±1.27	23.89±1.47
Stoma yoğunluğu (adet mm ⁻²)	195.29±2.92	262.63±5.05	168.35±5.83
Yaprak klorofil içeriği (SPAD değeri)	25.93±1.94	19.4±3.50	29.36±0.90
Kloroplast sayısı (adet/stoma hücresi)	29.33±3.06	20.66±1.15	40±0.00

4.6. Tartışma

Yaptığımız çalışmada 41B ve Fercal anaçları ve Ekşi Kara ve Gök Üzüm tohumları üzerinde EMS ve SA'nın etkileri tüm vegetatif karakterlerde önemli ($p<0.05$) farklılık göstermiştir.

4.6.1. Sürgün büyümesi

EMS uygulamasında en düşük değer Gök Üzüm 6-s uygulamasında %0.01 45.00±5.00 cm olarak belirlenmiş ve en yüksek değerde Fercal anacında %0.5 10-s uygulamasında 172.00±12.49 cm olarak tespit edilmiştir. SA uygulamalarında ise en düşük değer Ekşi Kara çeşidinde %0.05 2-s uygulamasında 21.33±0.58 cm olarak belirlenmiş ve en yüksek değer ise Fercal anacına %0.05 2-s uygulamasında 156.80±13.65 cm olarak kaydedilmiştir.

Srivastava ve ark. (2011) SA'yı buğday çeşidi HD-2733'nin 100 tohumuna 6-s %0.02, % 0.04 ve %0.06 dozlarında uyguladığında laboratuvar ortamında çimlenme, kök ve sürgün uzunluğunun kontrole göre azaldığını, en yüksek çimlenmenin kontrolde (%99.55), ardından %0.02 SA (%97.11), %0.04 SA (%95.55) ve en düşük %0.06 SA (%85.77) uygulamalarında belirlemişlerdir. SA'nın yüksek dozları çimlenme oranı, kök ve sürgün uzunluğunu azaltırken düşük dozda SA uygulananlar kontrolle aynı düzeyde bulunmuştur. Mutant hatların bazıları (her biri için bitki boyu, bitki başak uzunluğu ve tane verimi ve bileşenleri için kontrolden daha yüksek bulunmuş %0.02 SA uygulaması mikro-mutasyon indüksiyonu için en etkili mutagenik muamele bulunmuştur.

Abd El-Latif ve ark. (2018) farklı mutagenlerle papaya cv. 'Solo' üzerinde yaptıkları çalışmada BA, kolhisin ve EMS'den çeşitli solüsyonlarla araştırılan tüm muamelelerin ve özellikle %2 ve %3'te kolhisin uygulanan fidelerde sürgün boyunda azalmalar kaydetmişlerdir.

Bashir ve ark. (2013) çemen otunda mutagenlerin doz artışına bağlı olarak fide boyunu azalttığını, mutagenik uygulamalar arasında maksimum azalışın 400 Gy uygulamasında (%74.29) ve ardından %0.4 SA uygulamasında (%63.75) belirlemiş, fide boyu ve zararlanma yüzdesinin ortalama değerleri bakımından γ -ışınlarının daha etkili olduğunu, ardından EMS ve SA uygulamalarının (γ -ışınları>EMS>SA) takip ettiğini belirlemiştir.

Rime ve ark. (2019) mangoda %0.8 ve %1.0 EMS uygulamasıyla elde edilen mutant popülasyonda bitki boyunda kısılma, gövdede kalınlaşma, dal sayısı ve yaprak boyutlarında artış, boğum arası ve sürgün uzunluğunda kısılma gibi morfolojik değişiklikler kaydetmiştir. Gaul (1970) sürgün uzunluğundaki azalmayı mutagenlerin fizyolojik etkilerine bağlanmıştır. Sürgün uzunluğu ile EMS dozu arasında negatif bir korelasyon bamy (Deepthi ve Remesh, 2016) ve *J. curcas*'ta (Dhakshanamoorthy ve ark., 2010) belirlenmiştir.

Tabasum ve ark. (2011) yaptıkları mutasyon çalışmasında, EMS ve γ -ışını uygulamalarının bitki boyunda doza bağlı, doğrusal modda kademeli azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir.

SK ve ark. (2020), Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp'ta çeşidinde EMS uygulamasının sürgün uzunluğunda %12.4-83.3 aralığında doz artışıyla düzenli artan oranda azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Habib ve ark. (2021) EMS uygulamalarının ayçiçeğinin BARI Surjamukhi-2'ye çeşidinde doz artışına bağlı olarak (%0.6 EMS hariç) çimlenme oranını, yaprak alanı, boğum sayısı, boğum arası uzunluğu, yaprak yaş ve kuru ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı ve kök yaş ve kuru ağırlığı gibi incelenen karakterleri doz artışına bağlı olarak kademeli azalttığını, ikinci dereceden bir regresyon analiziyle canlılık yüzdesi verilerini kullanarak LD50 hesaplayarak optimum EMS dozunu %0.5 olarak belirlemişler, %0.5'lik EMS'nin BARI Surjamukhi-2 ayçiçeği çeşidinde büyük ölçekli arzu edilen mutant geliştirmek için kullanılabileceği bildirilmiştir.

Singh ve ark. (2021) EMS'yi Hint soğan çeşidi Bhima Dark Red'in önceden ıslatılmış soğan tohumlarına farklı dozlarda (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, %1.2 v/v) uygulamışlar ve çimlenme yüzdesi verileriyle Probit Analizi kullanılarak optimum dozu hesaplamışlar, mutagenin sürgün ve kök uzunluğu, tohum çimlenmesi ve fide büyüme parametrelerini önemli ölçüde azalttığını belirlemişlerdir.

Kangarasu ve ark. (2014), pirinçte, γ -ışınları ve EMS uygulamalarında doz artışıyla hayatta kalma, sürgün ve yaprak boyutlarında önemli bir azalma belirlemişlerdir.

Sharamo ve ark. (2021), arpada (*Hordeum vulgare* L.) EMS doz (%0.1, %0.3, %0.5, %0.7, %0.9) uygulama süresi (0.5-s, 1-s, 1.5-s, 2-s ve 2.5-s) artışıyla çimlenme yüzdesi, fide canlılığı, sürgün ve kök uzunluğu, sürgün ve kök biyokütlesinde düşüş eğilimi belirlemişler ve yüksek biyokütle verimine sahip yemlik arpa mutantları geliştirmek için LD50 değerini %0.64 (h/h) olarak hesaplamışlardır.

Dahot ve ark. (2011), sorgumda %1 SA uygulamalarının çimlenme oranını azaltırken, sürgün uzunluğunun kontrolle aynı olduğunu, en düşük sürgün uzunluğunun ortalama değerinin %0.5 SA uygulananlarda belirlendiğini, uygulamaların büyümeyi azalttığını belirlemişlerdir.

Chaudhary ve ark. (2021) ayçiçeğinde SA uygulamalarının kök ve sürgün uzunluğunda çeşitlere göre değişen azalmalara neden olduğunu, doz artışıyla sürgün uzunluğundaki azalmanın tüm çeşitler için doğrusal olmadığını belirlemişlerdir.

Tarafımızdan yapılan çalışmada mutagenlerin hayatta kalma oranlarını, vegetatif büyüme karakterlerini önemli düzeyde etkiledikleri ancak bu etkilerin mutagenlere, uygulama doz ve sürelerde doğrusal olmamıştır. Sonuçlarımız farklı türlerde yapılan çeşitli fiziksel ve kimyasal mutagen uygulama sonuçlarıyla benzerlik sergilemiştir.

EMS ve SA uygulamalarının sürgün çapına etkileri genotiplere, uygulama doz ve zamanlarına göre farklılık göstermiştir. EMS uygulanan anaçlar ve çeşitlerin sürgün çapları kontrolden daha düşük kalırken en düşük değer 41B anacına %0.02 6-s uygulamasında 1.52 ± 0.08 mm olarak belirlenmiş, en yüksek değer de Fercal anacı kontrolünde 3.09 ± 0.19 mm olarak tespit edilmiştir. SA uygulamalarında sürgün çapının en düşük değeri Ekşi Kara çeşidine %0.05 4-s uygulamasında 1.42 ± 0.40 mm olarak belirlenirken en yüksek değer Fercal anacı kontrolünde 3.09 ± 0.19 mm olarak kaydedilmiştir.

4.6.2. Yaprak özellikleri

Yaptığımız çalışmada EMS uygulamaları yaprak eninde anaçlara ve çeşitlere göre azalmaya neden olurken SA uygulamaları bazı genotiplerde doza bağlı yükselmelere neden olmuştur. Yaprak eninin EMS uygulamalarında en düşük değeri Gök Üzüm çeşidine %0.01 6-s uygulamasında 18.00 ± 1.73 mm olarak belirlenirken en

yüksek değer Fercal anacına %0.05 EMS 6-s uygulamasında 29.00 ± 2.65 mm olarak kaydedilmiştir. SA uygulamalarında ise yaprak eninin en düşük değeri Gök Üzüm çeşidine %0.01 4-s uygulamasında 16.20 ± 2.08 mm olarak belirlenirken en yüksek değer Gök Üzüm çeşidine %0.1 SA 4-s uygulamasında 48.00 ± 3.46 mm olarak kaydedilmiştir.

Çalışmamızda EMS uygulamaları, yaprak boyunda anaçlara ve çeşitlere göre değişen oranlarda azalmaya neden olmuştur. SA uygulamaları da anaç ve çeşitlere farklı oranlarda yaprak boyunu etkilenmiştir. EMS uygulamalarında en düşük değer Gök Üzüm çeşidinde %0.01 EMS 6-s uygulamasında 16.67 ± 1.53 mm olarak belirlenirken en yüksek değer Fercal anacına %0.01 EMS 10-s uygulamasında 29.67 ± 0.58 mm olarak belirlenmiştir. SA uygulamalarında yaprak boyunun en düşük değeri Gök Üzüm çeşidinde %0.01 SA 4-s uygulamasında 16.27 ± 1.42 mm olarak belirlenmiş ve en yüksek değer ise Gök Üzüm çeşidinde %0.1 SA 2-s uygulamasında 44.39 ± 2.47 mm olarak kaydedilmiştir.

Purente ve ark. (2020) kasımpatında EMS %0.2 uygulamalarıyla elde edilen mutant bitkilerde yaprak ve bitki boyunda önemli artış gözlemişler, yaprak morfolojisinin değiştiğini, mutant bitkilerin yaprak alanın (32.69 cm^2), ebeveyninden bitkisinden (8.89 cm^2) dört kat daha büyüdüğünü bildirmiştir.

Dewi ve ark. (2016), siyah pirinçte SA uygulamasının ortalama yaprak uzunluğunu artırma eğiliminde olduğunu, ancak sitokinin uygulamasının ortalama yaprak uzunluğu üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını, 2.5 mM'lik SA uygulamasının, yaprak uzunluğunu önemli ölçüde artırdığını, ancak yaprak genişliğinin SA veya sitokinin uygulamasından etkilenmediğini, SA ve sitokinin uygulanan siyah pirinç bitkilerinin ortalama yaprak alanının kontrolden önemli ölçüde fark göstermediğini belirlemişlerdir.

Çalışmamızda EMS ve SA uygulamalarının yaprak sayısına etkileri genotiplere, uygulama doz ve zamanlarına göre farklılık göstermiştir. EMS uygulamalarında yaprak sayısının en düşük değeri Fercal anacına %0.5 6-s uygulamasında 5.61 ± 1.13 adet olarak tespit edilirken en yüksek değer Fercal anacı kontrolünde 17.66 ± 0.98 adet olarak kaydedilmiştir. SA uygulamalarında ise en düşük değer Gök Üzüm çeşidine %0.2 2-s uygulamasında 3.89 ± 0.19 adet olarak belirlenirken ve en yüksek değer Fercal anacı kontrolünde 17.66 ± 0.98 adet olarak tespit edilmiştir.

Abd El-Latif ve ark. (2018) bezelyede, %0.2, %0.3, %0.5, %0.75 ve %1 dozlarında EMS uygulamalarının fide başına yaprak sayılarını azaltırken %0.75 ve %1.0 EMS'in M1 neslinde dal sayısını da azalttığını belirlemişlerdir.

Kochanová ve ark. (2012) Trabzon hurması tohumlarına SA uygulamalarının bitki boyunda artış, yaprak genişliği ve sap uzunluğunda önemli azalmaya neden olduğunu, SA dozları (%0.1) ve (%0.5) arasındaki farkın önemsiz kaldığını, tek istisnanın %0.5 SA uygulamasıyla yaprak aya uzunluğunda olduğunu, SA'nın hurma sapsarı ve yaprak büyümesini ters yönde etkilediğini, %0.1 ve %0.5 SA uygulamasıyla bitki boyu önemli ölçüde artarken, yaprak genişliği (%-23.26 -%22.46) ve yaprak sap uzunluğunun (%-28.50 -%30.33) önemli ölçüde azaldığı, yaprak aya uzunluğundaki değişikliklerin minimal olduğunu, bu karakterin %0.1 SA uygulamasında biraz (%1.21) arttığını ve %0.5 SA uygulamasının altında (%-13.89) kaldığını belirlemişlerdir.

Çalışmamızda EMS ve SA uygulamalarının yaprak kalınlığına etkileri genotiplere, uygulama doz ve zamanlarına göre genel olarak yükselme eğilimindedir. EMS uygulamalarında en düşük değer Fercal anacında %0.02 10-s uygulamasında 104.36 ± 2.92 μm olarak belirlenirken en yüksek değer Ekşi Kara çeşidinde %0.02 6-s uygulamasında 146.45 ± 5.05 μm olarak kaydedilmiştir. SA uygulamalarında ise yaprak kalınlığının en düşük değeri Gök Üzüm çeşidine %0.05 2-s uygulamasında 95.95 ± 8.75 μm olarak belirlenirken en yüksek değer 41B anacına %0.05 4-s uygulamasında 158.23 ± 11.66 μm olarak kaydedilmiştir.

Miguel ve Leonhardt (2011) orkidede, çeşit geliştirmek için kolhisin kullanarak poliploidiyi uyardığını, poliploid genotipte çiçek boyutunun daha büyük, daha yuvarlak çiçek formları ve daha yoğun çiçek renklerine sahip olduğunu bildirmiştir.

Lobregat ve ark. (2018), stresli koşulların şiddetinin bitki fizyolojik ve morfolojik özelliklerini etkilediğini bildirmiştir.

Qalby ve ark. (2020) *Mesembryanthemum crystallinum* L'da poliploid indüksiyonu için kolhisin (%0 (kontrol), 24 saat %0.01, %0.05, %0.10 ve %0.20) kullanılarak mutantlar elde etmiş ve kolhisinin bitkilerinin vegetatif büyümesini ve kromozom sayısını etkileyebildiğini, yaprak uzunluk, genişlik ve kalınlık parametrelerini etkilediğini, %0.1 kolhisin uygulamasının kromozom sayısını diploitten ($2n = 18$) octaploide ($8n = 108$) değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Zhou ve ark. (2020) tetraploit Zencefil bitkilerinde, yaprak uzunluk, genişlik ve kalınlığı, gövde çapı ve stoma bekçi hücrelerinin diploit ebeveynlerinden daha büyük, çözünür şeker, protein, prolin içeriğinde önemli bir farklılık gösterdiğini, özellikle karotenoid konsantrasyonun diploitlerinin 1.375 katı olduğunu, bunun da triploit zencefilin verimini ve çevreye daha iyi uyum sağlama potansiyeli sağladığını bildirmiştir.

Chen ve ark. (2022)'na göre yaprak kalınlığı pirinçte (*Oryza sativa* L.) önemli bir özelliktir. Hem fotosentezi hem de kaynak verimliliğini etkiler. Bununla birlikte, yaprak uzunluğu ve genişliğiyle karşılaştırıldığında, karmaşık ölçümler ve küçük farklar nedeniyle raporlar nadiren yaprak kalınlığına odaklanır.

4.6.3. Stoma özellikleri

EMS ve SA uygulamalarımız stoma sayılarını kontrole göre azaltmıştır. EMS uygulamalarında asma genotiplerinde daha düşük miktarlarda stoma yoğunluğu belirlenmiş, en düşük değer Gök Üzüm çeşidinde %0.01 EMS 10-s uygulamasında 137.61 ± 7.88 adet mm^{-2} olarak bulunurken en yüksek değer Ekşi Kara kontrolünde 266.39 ± 7.88 adet mm^{-2} olarak tespit edilmiştir. SA uygulamalarında stoma sayılarının en düşük değeri Gök Üzüm çeşidinde %0.2 SA 2-s uygulamasında 136.35 ± 15.15 adet mm^{-2} olarak belirlenirken ve en yüksek değer Ekşi Kara kontrolünde 266.39 ± 7.88 adet mm^{-2} olarak tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada EMS ve SA uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri uygulamalara göre farklılık göstermiştir. EMS uygulamalarında stoma uzunluğunun en düşük değeri 41B anacı kontrolünde 27.71 ± 0.72 μm olarak tespit edilirken ve yüksek değer Ek %0.5 Ekşi Kara çeşidine EMS-%0.02 6-s uygulamasında 34.38 ± 1.19 μm olarak kaydedilmiştir. SA uygulamalarında en düşük değer 41B anacı kontrolünde 27.71 ± 0.72 μm ve yüksek değer Ekşi Kara çeşidine SA-%0.05 4-s uygulamasında 33.96 ± 1.30 μm olarak belirlenmiştir.

Ogah ve ark. (2020) SA uygulamalarının yer fıstığında stoma boyutunu önemli düzeyde etkilediğini, adaksiyal ve abaksiyal yüzeyde stoma boyutunun uygulamalarla azaldığını, ancak Samnut 23'ün bir istisna oluşturduğunu, adaksiyel yüzeyde stoma boyutu 0.02M SA uygulamasında daha büyük ve 0.4M SA uygulamasında ise daha küçük olduğunu, en küçük stomanın 0.4M SA uygulamasında gözlemlendiğini ve en büyük stomayı abaxial yüzeyde 0.3M SA uygulanan örneklerde belirlemişlerdir.

Çalışmamızda EMS ve SA uygulamalarında stoma genişliğine etkileri genotiplere ve uygulamalara göre farklılık göstermiştir. EMS uygulamalarında en düşük değer Ekşi Kara çeşidine kontrolünde 18.06 ± 0.23 μm olarak belirlenirken ve en yüksek değerde Gök Üzüm çeşidi %0.02-EMS 10-s uygulamasında 23.96 ± 0.95 μm olarak belirlenmiştir. SA uygulamalarında stoma genişliğinin en düşük değeri Ekşi Kara

çeşidine kontrolünde 18.06 ± 0.23 μm olarak belirlenirken en yüksek değer Gök Üzüm çeşidine yapılan SA-%0.05 2-s uygulamasında 25.21 ± 0.71 μm olarak kaydedilmiştir.

Fitriani (2017), orkidede kolhisin uygulamasıyla poliploidinin uyarıldığını ve bu genotiplerde stoma yoğunluğunun (mm^{-2}) önemli ölçüde farklılaştığını bildirmiştir.

Kara ve Yazar (2020) Ekşi Kara, Gök Üzüm ve Trakya İlkeren çeşitlerinde kontrole göre stoma yoğunluğu değerlerinde en fazla azalış 10 mg L^{-1} (genotiplere göre sırasıyla %48.90, %46.75, %50.97) uygulamasında belirlenmiştir. Stoma hücreleri kloroplast sayıları, Kyoho (4x) çeşidinde 38-40 adet aralığında değişim gösterirken, Ekşi Kara ve Gök Üzüm çeşitlerinde orijinal diploitlerine göre en belirgin artışın 20 mg L^{-1} kolhisin uygulamasında kaydetmişlerdir.

Sugiyarti (2020), Moss Rose (*Portulaca grandiflora* Hook), süs bitkisinde kolhisin uygulamalarının tetraploit bitki oluşumuna $2n=4x=36$ neden olduğunu tetraploit mutantlarda, daha büyük stoma (uzunluk ve genişlik), daha düşük stoma yoğunluğu ve daha yüksek morfolojik karakterler belirlemiştir.

4.6.4. Yaprak klorofil içeriği

Yapılan EMS ve SA uygulamaları yaprak klorofil içeriğini etkilemiştir. EMS uygulamalarında en düşük değer Gök Üzüm çeşidine %0.02 EMS 10-s uygulamasında 19.17 ± 1.50 SPAD değeri ve en yüksek değer Gök Üzüm çeşidine %0.01 EMS 10-s uygulamasında 32.70 ± 1.99 SPAD değeri olarak tespit edilmiştir. SA uygulamalarında klorofil içeriğinin en düşük değeri Fercal anacına %0.1 SA 4-s uygulamasında 18.27 ± 0.59 SPAD değeri ve en yüksek değer Ekşi Kara çeşidine %0.2 SA 2-s uygulamasında 38.57 ± 0.38 SPAD değeri olarak kaydedilmiştir.

Arulbalachandran ve Mullainathan (2009)'a göre mikro ve makro mutantlar, mutagen dozlarının değerlendirilmesinde önemli bir rol oynar. Çalışmalarında, klorofil mutantlarından bazıları γ -ışınlarının farklı dozlarında gözlenmiş, bunlar klorina albino, ksanta ve viridis olarak kaydedilmiştir. Mutagenlerden EMS daha fazla sayıda klorofil ve morfolojik mutant sağlamış, bunu γ -ışınları izlemiştir.

Dahot ve ark. (2011), SA'nın sorgum tohumlarına etkilerini çimlenme oranı, sürgün ve kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlık, olgunlukta bitki boyu, toplam ve indirgen şeker, toplam protein ve klorofil içeriklerini %0.5 ve %1 SA uygulanmış M1 bitkilerinde test etmişlerdir. Kontrol bitkilerinde daha yüksek çimlenme oranı, kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlık gözlenmiş, ayrıca kontrolde toplam şeker ve klorofil

içeriğinin yüksek olduğunu belirlenmiştir. %1 SA uygulanan bitkilerde daha yüksek sürgün uzunluğu, olgunlukta bitki boyu, azalan şeker içerikleri, toplam protein içerikleri kaydedilmiştir. Sonuçta, sorgum için %0.5 SA uygulamasının bitki büyümesi için uygun bulunmazken %1 SA uygulamasının morfolojik ve fizyolojik karakterleri etkilemiştir.

Wani ve ark. (2011), bir alkile edici ajan olan EMS, bir baz analogu olan hidrazin hidrat (HZ) ve bir solunum inhibitörü olan SA tarafından indüklenen klorofil mutasyonlarının sıklığı ve spektrumunu maş fasulyesi çeşitleri PDM-11 ve NM-1'in M2 neslinde incelemişler ve geniş bir klorofil mutant yelpazesi belirlemişlerdir. Makulata, viridis ve virescent hariç tüm bu klorofil eksikliği olan mutantlar ölümcül olmuş, her iki çeşitte de klorin ve ardından Xantha türleri baskın bulunmuştur. EMS uygulamaları klorofil mutasyon sıklığını en yüksek düzeyde indüklemiş bunu HZ ve SA uygulamaları izlemiş, klorofil mutasyonlarının sıklığı doza bağımlı olup mutagen dozuyla birlikte artmıştır. Her iki çeşitteki etkinliğe dayalı olarak, mutagenlerin sırası HZ>SA>EMS şeklinde sıralanmıştır.

Chaudhari ve ark. (2015)'na göre mutagenler, bitkilerin iyileştirilmesinde kullanılabilecek yeni değişkenliklerin üretilmesinde önemli araçlar haline gelmiştir. *Psoralea corylifolia* L., IC 111228 tohumlarına 15 mM, 30 mM, 45 mM ve 60 mM EMS ve 4 ve 8 saat 1 mM, 2 mM, 3 mM ve 4 mM SA uygulanarak M1 ve M2 nesilleri tohum çimlenmesi, fide büyümesi, klorofil mutasyonları ve polen kısırlığı bakımından değerlendirilmiştir. EMS ve SA doz ve uygulama sürelerinin artması daha fazla fide hasarına, fide boyunda daha fazla azalmaya neden olmuştur. Her iki mutagenin artan dozları ile hayatta kalan bitki oranını önemli ölçüde azaltmıştır. Polen kısırlığı, artan mutagen dozlarıyla artmış ve EMS uygulananlarda SA'dan daha yüksek bulunmuştur. Puanlanan klorofil mutasyonlarının sıklığı, SA uygulanmış popülasyonda EMS uygulanan popülasyondan daha yüksek belirlenmiştir. Klorofil ve karotenoid içerikleri de her iki nesilde de daha yüksek mutagen dozlarında azalmıştır. SA, doza bağlı bir şekilde potansiyel olarak EMS'den daha etkili bir mutagen olarak belirlenmiştir.

Dewi ve ark. (2016) siyah pirinç tohumlarının çimlenmesi sırasında 2.5 mM SA uygulanmasıyla SA ve sitokinin kombine uygulamasının kontrole kıyasla klorofil içeriğini önemli ölçüde arttırdığını bildirmiştir.

4.6.5. Kloroplast sayıları

Yaptığımız çalışmada EMS ve SA uygulamalarının yaprak klorofil içeriklerine etkileri genotiplere ve uygulamalara göre farklılık göstermiştir. EMS uygulamalarında yaprak sayısının en düşük değeri Ekşi Kara çeşidi kontrolünde 19.97 ± 0.23 adet ve yüksek değeri Gök Üzüm çeşidinin %0.02 EMS 2-s uygulamasında 28.67 ± 2.08 adet olarak kaydedilmiştir. SA uygulamalarında ise en düşük değer Gök Üzüm çeşidine %0.1 SA 2-s uygulamasında 19.83 ± 1.76 adet ve en yüksek değer Gök Üzüm çeşidine %0.05 SA 2-s uygulamasında 28.67 ± 1.53 adet olarak tespit edilmiştir.

Darwish ve ark. (2020), iki domates çeşidinde SA ve EMS dozunun artmasıyla çimlenme yüzdesinin azaldığını 3mM ve 4mM SA'nın iki çeşitte de çimlenme oranını azalttığı, çimlenme oranının EMS dozundaki artışla birlikte azaldığını bildirmiştir. SA ve EMS'nin farklı konsantrasyonlarda *in vitro* ve *in vivo* uygulamalarda (ayçiçeği, zeytin, ananas, mısır, buğday, arpa, *Browallia speciosa*, yer fıstığı, bezelye, şeker otu, bahar dalı, çemen otu, *Gossypium hirsutum*) başarılı sonuçlar vermiştir. Dal ve yaprak sayısı, klorofil içeriği, taze vegetatif organların büyümesi, kök yaş ve kuru ağırlığı ve kök uzunluğu, tohum miktarı, bitki boyu, bitki başına dal sayısı konularında önemli gelişmeler bildirilmiştir. Ayrıca kallus oluşumunun teşviki, polen çimlenmesi, stoma sıklığı ve klorofil içeriğinin artırılmasında da etkili olmuştur. Bu çalışmalar, küçük alanlarda M1 mutant popülasyonlarında belirlenmiş olmakla birlikte gelecekteki mutasyon ıslahı araştırmalarına önemli ölçüde yardımcı olabilecektir.

Francis ve ark. (2022)'e göre mutasyon ıslahı, mahsulün iyileştirilmesi için önemli bir yaklaşımdır. Yararlı mutagen ve optimum dozunu belirlemek, başarılı bir mutasyon ıslahı programının önkoşuludur. Proso ATL 1 darı çeşidinde çeşitli EMS dozlarının optimum düzeyi, mutagenik etkinlik ve verimliliğini belirlemek için 10 ila 100 mM arasında on uygulama dozu, mutagenin M1 neslinde fide büyümesi ve hayatta kalmaya etkileri incelenmiştir. M2 neslindeki canlı mutant frekansına dayalı olarak, mutagenik etkinlik ve verimlilik belirlenmiştir. Büyümede yüzde 50 azalma (GR50) dozları için ortalama LD50 ve ortalama konsantrasyon, kontrole göre hayatta kalma yüzdesi ve sürgün uzunluğundaki azalmaya göre sırasıyla 41 mM ve 45 mM olarak belirlenmiştir. Mahsulde gelişmiş çeşitler geliştirmek için kullanılabilecek M2 neslinde geniş spektrumlu canlı mutantlar tanımlanmıştır.

Nair ve Gayathri (2022)'ye göre mutasyon ıslahı, değişkenlik yaratmak için önemli bir araçtır. EMS çok güçlü bir kimyasal mutagendir. Yemlik börülcede mutagen dozlarının optimizasyonu için farklı dozlarda EMS (%0.1, %0.2, %0.3, %0.4 ve %0.5) uygulanmış ve probit analiziyle öldürücü doz (LD50) değeri belirlenmiştir. Etkin dozlar

LD50 değerine göre sabitlenmiştir. M1 neslinin analiziyle etkili mutagen dozları ve uygulama yapılan brlcede fide sürgün ve kök uzunluğu, canlılık indeksi gibi çimlenme parametreleri ve bakla/bitki sayısı, bakla uzunluğu gibi nicel karakterler, tohum/bitki ve tohum verimi/bitki sayısı ve klorofil mutantlarının varlığı M1 neslinde incelenmiştir. Tüm biyometrik karakterler, mutant popülasyon arasında geniş çeşitlilik göstermiştir. Mutasyona uğramış tüm popülasyonlarda klorofil mutant bitkiler gözlenmiştir. Klorofil mutantları EMS uygulamalarında daha yüksek kaydedilmiştir. Genel olarak, mutagen konsantrasyonunun artmasıyla nicel parametrelerde bir azalma kaydedilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bağcılıkta pazar taleplerindeki dinamik değişimler ve küresel iklim değişikliği global ölçekte kullanılan asma anaçları ve üzüm çeşitlerinin uzun vadeli sürdürülebilirliği açısından sürekli geliştirmeyi gerektirmektedir. Günümüz ihtiyaçlarına yönelik asma anaç ve üzüm çeşitlerinin geliştirilmesinde mutasyon ıslahı ve özellikle poliploidi ıslahı konvansiyonel olarak kullanımda olan genotiplerin sahip oldukları kazanımları kaybetmeden ilave iyileştirme fırsatları sunabilecek potansiyel barındırmaktadır.

Yakın gelecekte beklenen ürün verimi ve kalitesi ile çevresel stres yönetimi üzerindeki baskıların artmasıyla, gen fonksiyonunu aydınlatmak ve fenotipleri artırmak için uyarılmış ve doğal mutasyon kullanımı önem kazanmaya devam edecektir.

Bu kapsamda çalışmamız için iki asma anacı (41B ve Fercal) ve iki geleneksel üzüm çeşidi (Ekşi Kara ve Gök Üzüm) seçilerek bunların nesillerinde poliploidiyi uyarmak amacıyla farklı türlerde etkinlikleri kanıtlanmış olan kimyasal mutagenler olarak Sodyum Azid (SA %0, %0.01, %0.05, %0.1, %0.2 dozları 2-s ve 4-s) ve Etil Metansülfonat (EMS %0, %0.01, %0.02, %0.5, 6-s ve 10-s) seçilerek kullanılmıştır. Seçilmiş asma anaçları ve üzüm çeşitlerinin çimlenmeleri katlanarak uyarılmış tohumlarına, mutagenler uygulanarak poliploidi uyarma etkinlikleri makroskobik, mikroskobik ve sitogenetik açıdan incelenmiştir.

Denemede her doz 20 adet katlanmış tohuma olmak üzere her asma genotipi için 300 adet olmak üzere toplamda 1200 adet tohuma mutagen uygulanmıştır.

Mutagenlerin LD50 değerleri genotipler için ayrı ayrı hesaplanmış, mutagenlere, uygulanan doz, uygulama süre ve asma genotiplerine göre farklılıklar belirlenmiştir.

Her iki mutagen uygulamaları sonucunda 39 Ekşi Kara, 48 Gök Üzüm, 78 41B ve 103 Fercal'de toplam 268 adet fide hayatta kalmıştır. Hayatta kalan asma fidelerinin erken gelişme döneminde ortalama yaprak kalınlığı, sürgün uzunluğu, yaprak boyutu, yaprak sayısı, klorofil içeriği, sürgün çapı, stoma yoğunluğu ve boyutları, kloroplast sayıları mutagenlere doz ve uygulama süresine ve genotiplere göre önemli farklılıklar kaydedilmiş olmakla birlikte varyans analizde ortaya çıkan önemli farklılıklar ve standart hatanın yüksek değerleri nihai poliploit genotipin tespitinde yeterli bulunmamıştır.

Çalışmamızda poliploidinin ön tespiti için en elverişli mikroskobik gözlem olarak kloroplast sayımları bulunmuştur. Makroskobik gözlemler, stoma boyutları ve

kloroplast sayımları sonucunda yapılan ön eleme sonucunda 8 Ekşi Kara, 17 Gök Üzüm, 9 adet 41 B ve 16 adet Fercal olmak üzere toplam 50 fide seçilerek, FC analiziyle poliploidi doğrulaması yapılmıştır.

Makroskobik, stoma ve kloroplast gözlemlerinde ortaya çıkan farklılıkların FC analizinde doğrulanamaması asma genotiplerinin genom tamir sürecinin hızı ve etkinliğine atfedilmiş, asma anaç ve çeşit genotiplerinin diğer odunsu çok yıllık türler gibi, mutagenik nesiller üretmek için inatçı olduğu kanıtlanmıştır.

FC analizi sonucunda sadece bir adet %0.05 SA 2-s uygulaması yapılmış Gök Üzüm fidesinde poliploidinin uyarılarak triploit veya yakın triploit fide olduğu tespit edilmiştir. FC analizinde miksoploidiye bağlı hataların giderilmesi bakımından kromozom sayımıyla doğrulama yapılmıştır. İlaveten seçilmiş triploit Gök Üzüm fidesinin yaprak klorofil içeriği, ebeveyn Gök Üzüm ve tetraploit Kyoho ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta seçilmiş fidenin yaprak klorofil içeriği ebeveyninden ve Kyoho'dan daha düşüktür. Bu triploit Gök Üzüm fidesinin kloroplast miktarı, ebeveyn Gök Üzüm'den daha yüksek fakat Kyoho'dan daha düşüktür.

FC analiziyle seçilmiş triploit fidenin kök ucu örneğinde yapılan kromozom sayımında 57 kromozom sayılmış ve triploit doğrulaması tekrarlanmıştır.

Bu çalışmamızdan elde edilen triploit *Vitis vinifera* L. cv Gök Üzüm fidesi, Sodium Azide'nin asma genotiplerinde mutant olarak kullanılarak poliploidinin uyarıldığı ilk verimli sonuçtur.

5.2. Öneriler

Daha sonraki asmada mutasyon ve poliploidi uyarımı çalışmaları için, bu çalışmamızda triploidi uyarımı sağladığı FC analizi ve kromozom sayımıyla doğrulanan SA %0.05 2-s uygulaması öncelikle önerilebilir.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ahmet BEYATLI
Uyruğu : T.C.

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Kerkük Lisesi	2009-2010
Üniversite	: Kerkük Üniversitesi	2013-2014
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi	2016-2017
Doktora	: Selçuk Üniversitesi	2017-2023

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI: Bağ Yetiştirme ve Islahı

YABANCI DİLLER: İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

Kara, Z., Sabır, A., Yazar, K., Doğan, O. ve Khaleel, A. J. K., 2017, Fertilization biology of ancient grapevine variety ‘Ekşi Kara’(Vitis vinifera L.), *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 31 (2), 92-97.

KAYNAKLAR

- Abd El-Latif, F., El-Gioushy, S., Islam, S. ve Zakry, T. A., 2018, Impact of papaya seed soaking in different BA, colchicine and EMS solutions on germination, growth and chromosomal behaviour, *Asian Journal of Biotechnology and Genetic Engineering*, 1 (1), 1-17.
- Acanda, Y., Martínez, Ó., González, M. V., Prado, M. J. ve Rey, M., 2015, Highly efficient *in vitro* tetraploid plant production via colchicine treatment using embryogenic suspension cultures in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Mencía), *PCTOC*, 123 (3), 547-555.
- Action, O., Raina, A., Ansari, S. B., Khursheed, S., Wani, M. R., Khan, S. ve Bhat, T. A., 2021, Mutagens, Their Types And Mechanism, *Mutagenesis, Cytotoxicity and Crop Improvement*, 11.
- Adam-Blondon, A.-F., Alaux, M., Pommier, C., Cantu, D., Cheng, Z.-M., Cramer, G. R., Davies, C., Delrot, S., Deluc, L. ve Di Gaspero, G., 2016, Towards an open grapevine information system, *Horticulture research*, 3 (1), 1-8.
- Adamu, A. ve Aliyu, H., 2007, Morphological effects of sodium azide on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill), *Science World Journal*, 2 (4).
- Ahloowalia, B., Maluszynski, M. ve Nichterlein, K., 2004, Global impact of mutation-derived varieties, *Euphytica*, 135 (2), 187-204.
- Ahmed, B. H., Haredy, M. H. ve Khelifa, Y. A., 2020, Effect of Chemical Mutagens on Some Morphological and Yield Components Traits of Wheat (*Triticum aestivum* L.), *Egyptian Journal of Agronomy*, 42 (2), 137-149.
- Akinyosoye, S., 2020, Effect of Sodium Azide (NaN₃) on Seed Germination and Callus Induction in Some Maize (*Zea mays* L.) Varieties, *Nigerian Journal of Seed Science (NJSS)*, 4 (2), 66-75.
- Aleza, P., Juárez, J., Cuenca, J., Ollitrault, P. ve Navarro, L., 2010, Recovery of citrus triploid hybrids by embryo rescue and flow cytometry from 2x × 2x sexual hybridisation and its application to extensive breeding programs, *Plant cell reports*, 29 (9), 1023-1034.
- Alleweldt, G. ve Possingham, J., 1988, Progress in grapevine breeding, *Theoretical and applied genetics*, 75 (5), 669-673.
- Ando, A. ve Tulmann Neto, A., 1979, A comparison of sodium azide mutagenicity in rice seeds with radiations and some alkylating compounds, *6th International congress of radiation research, Tokyo*.
- Ando, T., 1998, 'Mirei': A new seedless grape, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 67 (1), 63.
- Aradhya, M. K., Dangl, G. S., Prins, B. H., Boursiquot, J.-M., Walker, M. A., Meredith, C. P. ve Simon, C. J., 2003, Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L, *Genetics Research*, 81 (3), 179-192.
- Arulbalachandran, D. ve Mullainathan, L., 2009, Chlorophyll and morphological mutants of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) derived by gamma rays and EMS, *Journal of Phytology*, 1 (4).
- Aswandy, A. B. K., Rawaidah, N., Rodrigues, K. F. ve Eng, C. B., 2015, Evaluation of the mutagenic effect of ethyl methanesulfonate on hexokinase nuclear DNA locus of *Solanum lycopersicum*, *Proceeding of Int'l Conf. on Advances in Science, Engg., Technology & Natural Resources (ICASETNR-15)*.
- Auerbach, C. ve Robson, J., 1942, Experiments on the action of mustard gas in *Drosophila*, *Production of sterility and mutation. Report to Ministry of Supply*, W, 3979.

- Azuma, A., Udo, Y., Sato, A., Mitani, N., Kono, A., Ban, Y., Yakushiji, H., Koshita, Y. ve Kobayashi, S., 2011, Haplotype composition at the color locus is a major genetic determinant of skin color variation in *Vitis* × *labruscana* grapes, *Theoretical and Applied Genetics*, 122 (7), 1427-1438.
- Barba-Gonzalez, R., Miller, C. T., Ramanna, M. S. ve Van Tuyl, J. M., 2006, Nitrous oxide (N₂O) induces 2n gametes in sterile F₁ hybrids between Oriental × Asiatic lily (*Lilium*) hybrids and leads to intergenomic recombination, *Euphytica*, 148 (3), 303-309.
- Baselt, R., 2014, Encyclopedia of toxicology, Oxford University Press.
- Bashir, S., Wani, A. A. ve Nawchoo, I. A., 2013, Mutagenic sensitivity of Gamma rays, EMS and Sodium azide in *Trigonella foenumgraecum* L, *Science Research Reporter*, 3 (1), 20-26.
- Berger, H., Haas, F. L., Wyss, O. ve Stone, W. S., 1953, Effect of sodium azide on radiation damage and photoreactivation, *Journal of bacteriology*, 65 (5), 538-543.
- Bessho, H., Miyake, M. ve Kondo, M., 1999, Grape breeding in Yamanashi, Japan-present and future, *Eucarpia symposium on Fruit Breeding and Genetics* 538, 493-496.
- Bhat, T. A., Khan, A. ve Parveen, S., 2005, Comparative analysis of meiotic abnormalities induced by gamma rays, EMS and MMS in *Vicia faba* L, *J Indian Bot Soc*, 84, 45-48.
- Bhat, T. A., Sharma, M. ve Anis, M., 2007, Comparative analysis of mitotic aberrations induced by Diethyl sulphate (DES) and Sodium Azide (SA) in *Vicia faba* L. (Fabaceae), *Pak J Biol Sci*, 10 (5), 783-787.
- Blasco, M., Badenes, M. L. ve del Mar Naval, M., 2015, Colchicine-induced polyploidy in loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.), *PCTOC*, 120 (2), 453-461.
- Bouquet, A., 2011, Grapevines and viticulture, *Genetics, genomics, and breeding of grapes*, 2011, 1-29.
- Bukhari, R. ve Kour, H., 2019, Polyploidy in agriculture: With special reference to mulberry, *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 8 (3), 1795-1808.
- Burešová, V., 2017, Study of organization of hybrid and polyploid genomes Ph.D. Thesis Palacký University Olomouc, Faculty of Science and Institute of Experimental Botany, Olomouc, 86p.
- Cao, S., Hu, R., Wu, X., Sun, Y., Wu, B., Duan, H., Lin, H., Wu, M., Fang, L. ve Yu, X., 2020, Two chemical mutagens modulate the seed germination, growth, and phenotypic characteristics of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*), *Journal of Forestry Research*, 1-9.
- Cardone, M. F., D'Addabbo, P., Alkan, C., Bergamini, C., Catacchio, C. R., Anaclerio, F., Chiatante, G., Marra, A., Giannuzzi, G. ve Perniola, R., 2016, Inter-varietal structural variation in grapevine genomes, *The Plant Journal*, 88 (4), 648-661.
- Catalano, C., Abbate, L., Motisi, A., Crucitti, D., Cangelosi, V., Pisciotta, A., Di Lorenzo, R., Carimi, F. ve Carra, A., 2021, Autotetraploid emergence via somatic embryogenesis in *Vitis vinifera* induces marked morphological changes in shoots, mature leaves, and stomata, *Cells*, 10 (6), 1336.
- Chang, Y., Ji, X., Zhu, J. ve Hao, Y., 2010, Polyploidy induction of mutation by using colchicine on tube seedlings of Victoria grape, *X International Conference on Grapevine Breeding and Genetics* 1046, 265-270.
- Chaudhari, A. K., Verma, S. ve Chaudhary, B., 2015, Ethyl Methanesulphonate and Sodium Azide Effects on Seedling Growth and Chlorophyll Mutations in *Psoralea corylifolia* IC 111228, *Journal of Crop Improvement*, 29 (5), 602-618.

- Chaudhary, L., Sharma, R. ve Kumar, M., 2021, Estimation of LD50 and effect of sodium azide on germination and seedling parameters of different cultivars of *Cajanus cajan* (L.) Millspaugh, *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 13 (3), 279-285.
- Chen, D.-g., Zhou, X.-q., Chen, K., Chen, P.-l., Guo, J., Liu, C.-g. ve Chen, Y.-d., 2022, Fine-mapping and candidate gene analysis of a major locus controlling leaf thickness in rice (*Oryza sativa* L.), *Molecular Breeding*, 42 (2), 6.
- Chopra, V. ve Swaminathan, M., 1966, Mutagenic efficiency of individual and combined treatments of ethyl-methane sulfonate and hydroxyl amine in emmer wheat, *Indian J. Genet*, 26, 59-62.
- Chou, Y. M., Tzu-Yu, L. ve Okubo, H., 2013, Induction of polyploid *Phalaenopsis amabilis* by N₂O treatment, *J. Fac. Agr., Kyushu Univ*, 58 (1), 33-36.
- Chunyun, P., Guimei, Q., Xiaoning, T. ve Liying, Y., 1998, Preliminary report on grape-triploid breeding, *Journal of Shandong Agricultural University*, 29 (3), 299-302.
- Cipriani, G., Spadotto, A., Jurman, I., Di Gasparo, G., Crespan, M., Meneghetti, S., Frare, E., Vignani, R., Cresti, M. ve Morgante, M., 2010, The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin, *Theoretical and applied genetics*, 121 (8), 1569-1585.
- Creasy, G. L. ve Creasy, L. L., 2018, Grapes, Cabi, p.
- Dahot, M. U., Rind, E. ve Rafiq, M., 2011, Physical and biochemical analysis of sodium azide treated sorghum bicolor (L.) monech, *Pakistan Journal of Biotechnology*, 8 (2), 67-72.
- Dar, J. A., Beigh, Z. A. ve Wani, A. A., 2017, Polyploidy: Evolution and crop improvement, *Chromosome structure and aberrations*, 201-218.
- Darwish, H. S., Om-hashem, M., Abbas, M. S., Waziri, H. M. ve Awad, M. A., 2020, Induction of Tomato ring spot virus resistant plants using the chemical mutagens (NaN₃ and EMS).
- Daurova, A., Volkov, D., Daurov, D., Zhapar, K., Shamekova, M. K. ve Zhambakin, K. Z., 2020, Mutagen EMS treatment of microspore-derived embryos for rapeseed breeding (brassica napus), *News Natl Acad Sci KazakhSer Biol Med*, 4, 27-37.
- Deepthi, T. ve Remesh, K., 2016, Impact of EMS induction on morphological, anatomical and physiological traits of Bhindi *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, *Int. J. Recent Res. Life Sci.(IJRRLS)*, 3 (2), 4-11.
- Deh Sheikh, A. A. ve Moradnejad, M., 2014, Mutagenesis in olive (*Olea europaea* L.) calli caused by sodium azide and detection of mutants using ISSR and RAPD markers, *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89 (2), 153-158.
- Dewi, K., Meidiana, G., Sudjino, S. ve Suharyanto, S., 2016, Effects of sodium azide (NaN₃) and cytokinin on vegetative growth and yield of black rice plant (*Oryza sativa* L. 'Cempo Ireng'), *AIP Conference Proceedings*.
- Dewitte, A., Eeckhaut, T., Van Huylenbroeck, J. ve Van Bockstaele, E., 2010, Induction of 2n pollen formation in Begonia by trifluralin and N₂O treatments, *Euphytica*, 171 (2), 283-293.
- Dhakshanamoorthy, D., Selvaraj, R. ve Chidambaram, A., 2010, Physical and chemical mutagenesis in *Jatropha curcas* L. to induce variability in seed germination, growth and yield traits, *Rom. J. Biol. Plant Biol*, 55 (2), 113-125.

- Dhooghe, E., Van Laere, K., Eeckhaut, T., Leus, L. ve Van Huylenbroeck, J., 2011a, Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro*, *PCTOC*, 104 (3), 359-373.
- Dhooghe, E., Van Laere, K., Eeckhaut, T., Leus, L. ve Van Huylenbroeck, J., 2011b, Mitotic chromosome doubling of plant tissues *in vitro*, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104, 359-373.
- Di Gaspero, G. ve Cattonaro, F., 2010, Application of genomics to grapevine improvement, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16, 122-130.
- Diaz-Lara, A., Golino, D. ve Al Rwahnih, M., 2018, Genomic characterization of grapevine virus J, a novel virus identified in grapevine, *Archives of virology*, 163 (7), 1965-1967.
- Dlamini, P., Schultz-Viljoen, T. ve Ntuli, N., 2020, Morphological and physiological screening of ethyl methanesulfonate-treated sugarcane calli and plantlets for *in vitro* mannitol-induced osmotic stress tolerance, *PCBMB*, 107-120.
- Doğan, O., 2022, Azot protoksit ve orizalinin '41 B' ile 'Fercal' asma anaçlarında mutajenik etkileri., Doctora, *Selçuk Üniversitesi*, 130.
- Dolezel, J., Greilhuber, J. ve Suda, J., 2007, Flow cytometry with plant cells: analysis of genes, chromosomes and genomes, John Wiley & Sons, p.
- Dribnenki, J. ve Green, A., 1995, Linola™'947' low linolenic acid flax, *Canadian Journal of Plant Science*, 75 (1), 201-202.
- Dribnenki, J., McEachern, S., Chen, Y., Green, A. ve Rashid, K., 2005, 2126 low linolenic flax, *Canadian Journal of Plant Science*, 85 (1), 155-157.
- Dribnenki, J., McEachern, S., Chen, Y., Green, A. ve Rashid, K., 2007, 2149 solin (low linolenic flax), *Canadian Journal of Plant Science*, 87 (2), 297-299.
- Duchêne, E., Huard, F., Dumas, V., Schneider, C. ve Merdinoglu, D., 2010, The challenge of adapting grapevine varieties to climate change, *Climate research*, 41 (3), 193-204.
- Dyulgerova, B. ve Dyulgerov, N., 2020, Grain yield and yield related traits of sodium azide induced barley mutant lines, *Journal of Central European Agriculture*, 21 (1), 83-91.
- Eibach, R. ve Töpfer, R., 2015, Traditional grapevine breeding techniques, In: *Grapevine breeding programs for the wine industry*, Eds: Elsevier, p. 3-22.
- Eng, W.-H. ve Ho, W.-S., 2019, Polyploidization using colchicine in horticultural plants: a review, *Sci. Hortic.*, 246, 604-617.
- Eswaramoorthy, V., Kandasamy, T., Thiyagarajan, K., Vanniarajan, C. ve Jegadeesan, S., 2021, Effectiveness and efficiency of electron beam in comparison with gamma rays and ethyl methane sulfonate mutagens in cowpea, *Applied Radiation and Isotopes*, 171, 109640.
- Fahmy, O. ve Fahmy, M. J., 1957, Comparison of chemically and X-ray induced mutations in *Drosophila melanogaster*, *Nature*, 177, 996-997.
- Fischer, K., Rudloff, E., Roux, S. R., Dieterich, R., Wehling, P., Friedt, W. ve Ruge-Wehling, B., 2018, Generating genetic variation in narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) for plant architecture by ethyl methanesulfonate mutagenesis, *Plant breeding*, 137 (1), 73-80.
- Fitriani, D., 2017, Induksi Poliploidi Menggunakan Kolkisin Pada Anggrek *Dendrobium Taurinum* Lindl. Secara *In Vitro*, *Universitas Brawijaya*.
- Fontaine, F., Gramaje, D., Armengol, J., Smart, R., Nagy, Z. A., Borgo, M., Rego, C. ve Corio-Costet, M.-F., 2016, Grapevine trunk diseases. A review, OIV publications: hal-01604038.

- Forster, B. ve Shu, Q., 2012, Plant mutagenesis in crop improvement: basic terms and applications, *Plant mutation breeding and biotechnology*, 9-20.
- Francis, N., Ravikesavan, R., Iyanar, K., Raveendran, M., Chitdeshwari, T. ve Senthil, A., 2022, Dose Optimization, Mutagenic Effectiveness and Efficiency of EMS in Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.), *Madras Agricultural Journal*, 109 (march (1-3)), 1.
- Galet, P., 1979, A practical ampelography, Cornell University Press., p. 248.
- Ganai, F., Khan, A., Bhat, T., Parveen, S. ve Wani, N., 2005, Cytogenetic effects of methylmethane sulphonate (MMS) on two varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.), *J. Cytol. Genet*, 6, 97-102.
- Gao-Takai, M., Katayama-Ikegami, A., Nakano, S., Matsuda, K. ve Motosugi, H., 2017, Vegetative growth and fruit quality of 'Ruby Roman' grapevines grafted on two species of rootstock and their tetraploids, *The Horticulture Journal*, 86 (2), 171-182.
- Gaul, H., 1970, Mutagen effects observable in the first generation: plant injury and lethality.
- Gomez, D., Hernández, L., Martinez, J., Quiñones, J., Zevallos, B. E., Yabor, L. ve Lorenzo, J., 2019, Mutagenic effects of sodium azide on pineapple micropropagant growth and biochemical profile within temporary immersion bioreactors, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 92, 1-6.
- Greene, E. A., Codomo, C. A., Taylor, N. E., Henikoff, J. G., Till, B. J., Reynolds, S. H., Enns, L. C., Burtner, C., Johnson, J. E. ve Odden, A. R., 2003, Spectrum of chemically induced mutations from a large-scale reverse-genetic screen in *Arabidopsis*, *Genetics*, 164 (2), 731-740.
- Gruszka, D., Szarejko, I. ve Maluszynski, M., 2012, Sodium azide as a mutagen, *Plant mutation breeding and biotechnology*, 159-166.
- Gulfishan, M., Khan, A. H. ve Bhat, T. A., 2010, Studies on cytotoxicity induced by DES and SA in *Vicia faba* var. major, *Turkish Journal of Botany*, 34 (1), 31-37.
- Gulfishan, M., Khan, A. H. ve Jafri, I. F., 2011, Genotoxic Effects Induced by Methyl Methane Sulphonate in 2 Cultivars of *Capsicum annuum* L, *Cytologia*, 76 (4), 381-385.
- Gulfishan, M., Khan, A. H., Jafri, I. F. ve Bhat, T. A., 2012, Assessment of mutagenicity induced by MMS and DES in *Capsicum annuum* L, *Saudi journal of biological sciences*, 19 (2), 251-255.
- Gulfishan, M., Jafri, I. F., Khan, A. H. ve Bhat, T. A., 2013, Methyl methane sulphonate induced desynaptic mutants in *Capsicum annuum* L, *Chromosome Botany*, 8 (3), 59-62.
- Gulfishan, M., Bhat, T. A. ve Oves, M., 2015, Mutants as a genetic resource for future crop improvement, In: *Advances in plant breeding strategies: breeding, biotechnology and molecular tools*, Eds: Springer, p. 95-112.
- Güngör, H., Akbudak, M. A., Filiz, E., İlker, Y. ve Dumrupinar, Z., 2020, Sodyum azid (NaN_3) ile muamele edilen arpa mutantlarının genetik çeşitliliğinin ISSR markörler ile belirlenmesi, *Derim*, 37 (1), 27-32.
- Guo, R., Lin, L., Huang, G., Shi, X., Wei, R., Han, J., Zhou, S., Zhang, Y., Xie, T. ve Bai, X., 2022, Transcriptome Analysis of 'Kyoho' Grapevine Leaves Identifies Heat Response Genes Involved in the Transcriptional Regulation of Photosynthesis and Absciscic Acid, *Agronomy*, 12 (10), 2591.
- Guo, Y., Zhao, Y., Li, K., Liu, Z., Lin, H., Guo, X. ve Li, C., 2011, Embryo rescue of crosses between diploid and tetraploid grape cultivars and production of triploid plants, *African Journal of Biotechnology*, 10 (82), 19005-19010.

- Habib, S. H., Akanda, M. A. L., Roy, P. ve Kausar, H., 2021, Effect of different dosage of EMS on germination, survivability and morpho-physiological characteristics of sunflower seedling, *Helia*, 44 (75), 167-180.
- Hadebe, S. T., Modi, A. T. ve Shimelis, H. A., 2017, Determination of optimum ethylmethanesulfonate conditions for chemical mutagenesis of selected vernonia (*Centropalus pauciflorus*) accessions, *South African Journal of Plant and Soil*, 34 (4), 311-317.
- Hall, a. H., 2007, Cyanide and Related Compounds—Sodium Azide, In: Haddad and Winchester's Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose, Eds: Elsevier, p. 1309-1316.
- Hancock, J. F., 2008, Temperate fruit crop breeding: germplasm to genomics, Springer Science & Business Media, p.
- Hasegawa, H. ve Inoue, M., 1980, Mutagenic effect of sodium azide in barley, *Japanese Journal of Breeding*, 30 (1), 20-26.
- Hassan, N., Laskar, R. A., Raina, A. ve Khan, S., 2018, Maleic hydrazide induced variability in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) cultivars CO1 and Rmt-1, *Res Rev J Bot Sci*, 7 (1), 19-28.
- Hedrick, U. P., 1925, Systematic pomology, Macmillan, p.
- Hedrick, U. P., 2021, The grapes of New York, Good Press, p.
- Heo, J.-Y., Park, K.-S., Yun, H.-K. ve Park, S.-M., 2007, Degree of abortion and germination percentage in seeds derived from interploid crosses between diploid and tetraploid grape cultivars, *HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY*, 48 (2), 115-121.
- Heo, J.-Y. ve Park, S.-M., 2016, Variation in fruit characteristics of 3x progenies obtained from a cross between 4x and 2x grape cultivars, *Horticultural Science and Technology*, 34 (5), 761-770.
- Heo, J.-Y. ve Park, S.-M., 2017, 'Sujeong': A green seedless table grape cultivar, *HortScience*, 52 (3), 463-464.
- Heo, J. ve Park, S., 2015, Breeding of a new triploid seedless table grape cultivar 'Paradise', *Journal of the American Pomological Society*, 69 (3), 170-172.
- Hiramatsu, M., Wakana, A., Park, S. M. ve Fukudome, I., 2003, Production of triploid plants from crosses between diploid and tetraploid grapes (*Vitis* complex) through immature seed culture and subsequent embryo culture.
- <https://www.fao.org>, 2021, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>,
- Ibukun, E. O. ve Oluwaseyi, A. E., 2019, Effect of sodium azide on agro-morphological traits of four varieties of Kenaf (*Hibiscus cannabinus*), *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 8 (3), -.
- Ikhajiagbe, B. ve Omoregie, U. E., 2020, Growth, yield, genetic parameters and random amplified polymorphic DNA (RAPD) of five rice varieties treated with sodium azide and sown under different saline conditions, *Bulletin of the National Research Centre*, 44, 1-19.
- Iqbal, M. S., Jafri, A., Arshad, M. ve Ansari, M. I., 2019, Stress response due to sodium azide treatment inside *Nigella sativa* L. plant and its effect on antioxidative property, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 101171.
- Jafri, I. F., Khan, A. H. ve Gulfishan, M., 2011, Genotoxic effects of 5-bromouracil on cytomorphological characters of *Cichorium intybus* L., *African Journal of Biotechnology*, 10 (52), 10595-10599.

- Jafri, I. F., Khan, A. H., Sharma, M. ve Gulfishan, M., 2012, Comparative mutagenicity of EMS and HZ in *Hordeum vulgare* L. var. RD2052, *Chromosome Botany*, 7 (2), 79-83.
- Jahan, R., Ansari, S. B., Malik, S. ve Khan, S., 2020, Cytological aberrations in M2 morphological mutants of *Linum usitatissimum* (L.) induced by physical and chemical mutagens, *Plant Arch*, 20, 1343-1348.
- Janick, J. ve Moore, J. N., 1975, Advances in fruit breeding, (No Title).
- Jankowicz-Cieslak, J. ve Till, B. J., 2016, Chemical mutagenesis of seed and vegetatively propagated plants using EMS, *Current Protocols in Plant Biology*, 1 (4), 617-635.
- Jayaramachandran, M., Saravanan, S., Motilal, A., Prabhu, P., Hepziba, S. J., Swain, H. ve Boopathi, N. M., 2020, Genetic improvement of a neglected and underutilised oilseed crop: sesame (*Sesamum indicum* L.) through mutation breeding, *The Nucleus*, 63 (3), 293-302.
- Jeberson, M., Devi, Y., Singh, N., Sinha, B., Shashidhar, K. ve Sharma, P., 2020, Study of mutation induced by Sodium Azide in field pea (*Pisum sativum* L.), *Journal of Current Opinion in Crop Science*, 1 (1), 11-15.
- Ji, X.-h., Wang, B.-l., Wang, X.-d., Shi, X.-b., Liu, P.-p., Liu, F.-z. ve Wang, H.-b., 2019, Effects of different color paper bags on aroma development of Kyoho grape berries, *Journal of Integrative Agriculture*, 18 (1), 70-82.
- Johnson, L. ve Carroll, O., 1973, Organic acid and sugar contents of Scuppernong grapes during ripening, *Journal of food science*, 38 (1), 21-24.
- Joshi, M. P., Matsagar, K. A., Solanke, R. S., Wavhal, V. R., Jiwane, I. V., Dongre, S. V. ve Dhabe, A. S., 2019, Effect of mutagenesis on seed germination in two different varieties of cicer arie, *Think India Journal*, 22 (31), 100-108.
- Kanev, M. ve Muranlı, F. G., 2016, Flow sitometri ve kullanım alanları, *Sakarya University Journal of Science*, 20 (1), 33-38.
- Kangarasu, S., Ganeshram, S. ve Joel, A. J., 2014, Determination of lethal dose for gamma rays and ethyl methane sulphonate induced mutagenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz.), *International Journal of Scientific Research*, 3 (1), 1-6.
- Kara, Z., Sabır, A., Doğan, O. ve Eker, Ö., 2016, 'Gök Üzüm' (*Vitis vinifera* L.) çeşidinin ticari potansiyeli ve ampelografik özellikleri, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel*
- Kara, Z., Sabır, A., Yazar, K. ve Doğan, O., 2018, Konya ve Karaman'da bağcılık potansiyeli, tehditler, fırsatlar, *VI. KOP Bölgesel Kalkınma Sempozyumu-KOPBKS*.
- Kara, Z. ve Yazar, K., 2020, Bazı üzüm çeşitlerinde in vitro poliploidi uyarımı, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35 (3), 410-418.
- Kara, Z., Erboğa, M. ve Doğan, O., 2021, The Effects of Nitrogen Protoxide and Orizalin on Promotion of Polyploidy in Grapes, *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 35 (3), 244-248.
- Kara, Z. ve Yazar, K., 2022, Induction of polyploidy in grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedlings by in vivo colchicine applications, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 46 (2), 152-159.
- Kato, A. ve Birchler, J. A., 2006, Induction of tetraploid derivatives of maize inbred lines by nitrous oxide gas treatment, *J. Hered.*, 97 (1), 39-44.
- Khan, S., Al-Qurainy, F. ve Anwar, F., 2009, Sodium azide: a chemical mutagen for enhancement of agronomic traits of crop plants, *Environ. We Int. J. Sci. Tech*, 4, 1-21.

- Kharkwal, M., 1998, Induced mutations in chickpea (*Cicer arietinum* L.) I. comparative mutagenic effectiveness and efficiency of physical & chemical mutagens, *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 58 (2), 159-167.
- Kharkwal, M. ve Shu, Q., 2009, The role of induced mutations in world food security, *Induced plant mutations in the genomics era. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*, 33-38.
- Kharkwal, M., 2012, A brief history of plant mutagenesis, *Plant mutation breeding and biotechnology*, 21-30.
- Khursheed, S., Laskar, R. A., Raina, A., Amin, R. ve Khan, S., 2015, Comparative analysis of cytological abnormalities induced in *Vicia faba* L. genotypes using physical and chemical mutagenesis, *Chromosome Science*, 18 (3-4), 47-51.
- Khursheed, S., Raina, A. ve Khan, S., 2018a, Physiological response of two cultivars of faba bean using physical and chemical mutagenesis, *International Journal of Advance Research in Science and Engineering*, 7 (4), 897-905.
- Khursheed, S., Raina, A., Laskar, R. A. ve Khan, S., 2018b, Effect of gamma radiation and EMS on mutation rate: their effectiveness and efficiency in faba bean (*Vicia faba* L.), *Caryologia*, 71 (4), 397-404.
- Kidwell, M. G., 2005, Transposable elements, In: *The evolution of the genome*, Eds: Elsevier, p. 165-221.
- Kihara, H. ve Tsunewaki, K., 1960, Production of polyploid wheat by nitrous oxide, *Proc. Jpn. Acad.*, 36 (10), 658-663.
- Kitamura, S., Akutsu, M. ve Okazaki, K., 2009, Mechanism of action of nitrous oxide gas applied as a polyploidizing agent during meiosis in lilies, *Sex. Plant Reprod.*, 22 (1), 9-14.
- Klimenko, V., 2020, Mixoploidy of grape variety Aurora Magarach, *Uluslararası araştırma dergisi* (2-1 (92)), 130-134.
- Kochanová, Z., Razná, K., Zuriaga, E., Badenes, M. ve Brindza, J., 2012, Sodium azide induced morphological and molecular changes in Persimmon (*Diospyros Lotus* L.), *Agriculture*, 58 (2), 57.
- Kocsis, L., Tarczal, E. ve Molnár Kocsisné, G., 2014, Grape rootstock-scion interaction on root system development, *I International Symposium on Grapevine Roots* 1136, 27-32.
- Konzak, C. F., 2004, Methods for generating and identifying mutant polyploid plants, and uses therefor, Google Patents.
- Kuliev, V., 2011, Induced autotetraploid grape mutants, *Cytology and Genetics*, 45, 163-169.
- Kumar, A. ve Gupta, N., 2015, Applications of triploids in agriculture, In: *Plant Biology and Biotechnology*, Eds: Springer, p. 385-396.
- Lacombe, T., Boursiquot, J.-M., Laucou, V., Di Vecchi-Staraz, M., Péros, J.-P. ve This, P., 2013, Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.), *Theoretical and applied genetics*, 126 (2), 401-414.
- Laskar, R. A., Khan, S., Khursheed, S., Raina, A. ve Amin, R., 2015, Quantitative analysis of induced phenotypic diversity in chickpea using physical and chemical mutagenesis, *Journal of Agronomy*, 14 (3), 102.
- Laucou, V., Boursiquot, J., Lacombe, T., Bordenave, L., Decroocq, S. ve Ollat, N., 2008, Parentage of grapevine rootstock 'Fercal' finally elucidated, *Vitis*, 47 (3), 163-167.
- Lee, Y.-H., Park, W., Kim, K.-S., Jang, Y.-S., Lee, J.-E., Cha, Y.-L., Moon, Y.-H., Song, Y.-S. ve Lee, K., 2018, EMS-induced mutation of an endoplasmic

- reticulum oleate desaturase gene (FAD2-2) results in elevated oleic acid content in rapeseed (*Brassica napus* L.), *Euphytica*, 214 (2), 1-12.
- Li, J., Wang, X., Wang, X. ve Wang, Y., 2015, Embryo rescue technique and its applications for seedless breeding in grape, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120, 861-880.
- Liang, Z., Sang, M., Ma, A., Zhao, S., Zhong, G.-y. ve Li, S., 2011, Inheritance of sugar and acid contents in the ripe berries of a tetraploid× diploid grape cross population, *Euphytica*, 182, 251-259.
- Lin, J., Massonnet, M. ve Cantu, D., 2019, The genetic basis of grape and wine aroma, *Horticulture research*, 6 (1), 1-24.
- Liu, B., Xu, X.-Q., Cai, J., Lan, Y.-B., Zhu, B.-Q. ve Wang, J., 2015, The free and enzyme-released volatile compounds of distinctive *Vitis amurensis* var. Zuoshanyi grapes in China, *European Food Research and Technology*, 240, 985-997.
- Lobregat, G., Perilli, M. L. L., de Siqueira Neves, F. ve Campos, R. I., 2018, Fluctuating asymmetry, leaf thickness and herbivory in *Tibouchina granulosa*: an altitudinal gradient analysis, *Arthropod-plant interactions*, 12, 277-282.
- Lohaus, R. H., Zager, J. J., Kosma, D. K. ve Cushman, J. C., 2020, Characterization of Seed, Oil, and Fatty Acid Methyl Esters of an Ethyl Methanesulfonate Mutant of *Camelina sativa* with Reduced Seed-Coat Mucilage, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97 (2), 157-174.
- Lu, K., Kaeppler, S. M., Vogel, K., Arumuganathan, K. ve Lee, D., 1998, Nuclear DNA content and chromosome numbers in switchgrass, *Great Plains Research*, 269-280.
- Lu, Y., Dai, S., Gu, A., Liu, M., Wang, Y., Luo, S., Zhao, Y., Wang, S., Xuan, S. ve Chen, X., 2016, Microspore induced doubled haploids production from ethyl methanesulfonate (EMS) soaked flower buds is an efficient strategy for mutagenesis in chinese cabbage, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1780.
- Madani, H., Escrich, A., Hosseini, B., Sanchez-Muñoz, R., Khojasteh, A. ve Palazon, J., 2021, Effect of polyploidy induction on natural metabolite production in medicinal plants, *Biomolecules*, 11 (6), 899.
- Maluszynska, J., 2003, Cytogenetic tests for ploidy level analyses—chromosome counting, In: *Doubled haploid production in crop plants*, Eds: Springer, p. 391-395.
- Masoabi, M., Lloyd, J., Kossmann, J. ve van der Vyver, C., 2018, Ethyl Methanesulfonate Mutagenesis and In Vitro Polyethylene Glycol Selection for Drought Tolerance in Sugarcane (*Saccharum* spp.), *Sugar tech*, 20 (1), 50-59.
- Mba, C., Afza, R. ve Shu, Q., 2012, Mutagenic radiations: X-rays, ionizing particles and ultraviolet, *Plant mutation breeding and biotechnology*, 83-90.
- Mba, C., 2013, Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture, *Agronomy*, 3 (1), 200-231.
- Mehandjiev, A., Kosturkova, G. ve Mihov, M., 2001, Enrichment of *Pisum sativum* gene resources through combined use of physical and chemical mutagens, *Israel Journal of plant sciences*, 49 (4), 280-284.
- Mejlhede, N., Kyjovska, Z., Backes, G., Burhenne, K., Rasmussen, S. ve Jahoor, A., 2006, EcoTILLING for the identification of allelic variation in the powdery mildew resistance genes mlo and Mla of barley, *Plant Breeding*, 125 (5), 461-467.
- Mensah, J. ve Obadoni, B., 2007, Effects of sodium azide on yield parameters of groundnut (*Arachis hypogaea* L.), *African Journal of Biotechnology*, 6 (6).

- Micke, A., 1993, Durability of resistance in induced mutants, In: *Durability of Disease Resistance*, Eds: Springer, p. 336-336.
- Mirzaghaderi, G., 2010, Simple metaphase chromosome preparation from meristematic root tip cells of wheat for karyotyping or *in situ* hybridization, *Afr. J. Biotechnol.*, 9 (3).
- Misra, R., 1995, Multivariate analysis of genetic divergence in micromutants developed from blackgram variety T9, *Environ. Ecol*, 13, 508-512.
- Moghbel, N., Borujeni, M. K. ve Bernard, F., 2015, Colchicine effect on the DNA content and stomata size of *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* and *Carthamus tinctorius* L. cultured in vitro, *Journal of Genetic engineering and Biotechnology*, 13 (1), 1-6.
- Morton, L., 1979, *A Practical Ampelography* (Translated and Adapted From P. Galet), *Cornel University Pres, Ithaca and London*, 248.
- Münzbergová, Z., 2017, Colchicine application significantly affects plant performance in the second generation of synthetic polyploids and its effects vary between populations, *Ann bot*, 120 (2), 329-339.
- Murashige, R. ve Nakano, R., 1966, Tissue culture as a potential tool in obtaining polyploid plants, *Journal of Heredity*, 57 (4), 115-118.
- Mustapha Babayo, D., Adamu, Y., Aminu Idris, A. ve Zainab A, A., 2021, Mutagenic effects of sodium azide on some qualitative traits of maize (*Zea mays*).
- Muthusamy, A. ve Jayabalan, N., 2013, Variations in seed protein content of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) mutant lines by in vivo and in vitro mutagenesis, *Journal of environmental biology*, 34 (1), 11.
- Myles, S., Boyko, A. R., Owens, C. L., Brown, P. J., Grassi, F., Aradhya, M. K., Prins, B., Reynolds, A., Chia, J.-M. ve Ware, D., 2011, Genetic structure and domestication history of the grape, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (9), 3530-3535.
- Myles, S., 2013, Improving fruit and wine: what does genomics have to offer?, *Trends in Genetics*, 29 (4), 190-196.
- Nagahatenna, D. ve Peiris, S., 2008, Modification of plant architecture of *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br.(Iramusu) by *in vitro* colchicine treatment, *Tropical agricultural research*, 20, 234-242.
- Nair, A. S. ve Gayathri, G., 2022, Optimization of doses for Ethyl Methane Sulphonate (EMS) and analysis of M1 generation of fodder cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp].
- Neiva, I. P. ve Moura, M. F., 2021, Evaluation of mitotic activity in tapetal cells of grapevine (*Vitis* L.), *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49 (2), 11975.
- Nencheva, D., 2010, In vitro propagation of Chrysanthemum, In: *Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants*, Eds: Springer, p. 177-185.
- Nilan, R., Sideris, E., Kleinhofs, A., Sander, C. ve Konzak, C., 1973, Azide—a potent mutagen, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 17 (1), 142-144.
- Ochatt, S., Patat-Ochatt, E. ve Moessner, A., 2011, Ploidy level determination within the context of *in vitro* breeding, *PCTOC*, 104 (3), 329-341.
- Ogah, J., Musa, V., Memi, G., Na'inna, S. ve Akintonde, R., 2020, Morpho-stomata effect of sodium azide on two varieties of groundnut (*arachis hypogaea* l.), *Fjs*, 4 (1), 466-472.

- Okazaki, K., Kurimoto, K., Miyajima, I., Enami, A., Mizuochi, H., Matsumoto, Y. ve Ohya, H., 2005, Induction of 2n pollen in tulips by arresting the meiotic process with nitrous oxide gas, *Euphytica*, 143 (1), 101-114.
- Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H. A., Miah, G. ve Usman, M., 2016, Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30 (1), 1-16.
- Oldach, K., 2011, Mutagenesis, *Biology and breeding of food legumes*, 208-219.
- Omosun, G., Ekundayo, E. O., Okoro, I. A., Ojimelekw, P. C., Egbucha, K. C. ve Akanwa, F. E., 2022, Preliminary Study on the Effect of Different Concentrations of EMS on Two Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) Accessions, *African Scientist*, 22 (2).
- Osborn, M. ve Weber, K., 1980, Damage of cellular functions by trifluoperazine, a calmodulin-specific drug, *Experimental cell research*, 130 (2), 484-488.
- Özer, A., 2021, Bazi üzüm çeşitlerinde (*Vitis vinifera* L.) N₂O uygulamalarıyla ototetraploid teşvikî Doctora, *Selçuk Üniversitesi*, 127.
- Parisi, C., 2013, New plant breeding techniques: state of the art, potential and challenges.
- Park, S.-M., 2010, Effect of plant growth regulators on growth and quality of fruits in triploid hybrid grapes, *Horticultural Science and Technology Journal*, 28 (1), 1-7.
- Park, S., Hiramatsu, M. ve Wakana, A., 1999, Aneuploid plants derived from crosses with triploid grapes through immature seed culture and subsequent embryo culture, *Plant cell, tissue and organ culture*, 59, 125-133.
- Park, S., Wakana, A., Kim, J. ve Jeong, C., 2002, Male and female fertility in triploid grapes (*Vitis* complex) with special reference to the production of aneuploid plants, *VITIS-GEILWEILERHOF-*, 41 (1), 11-20.
- Park, Y.-S., Heo, J.-Y. ve Park, S.-M., 2016a, Production of hypo- and hypertetraploid seedlings from open-, self-, and cross-pollinated hypo- and hypertetraploid grape, *Hortic. Sci. Technol.*, 34 (5), 771-778.
- Park, Y.-S., Heo, J.-Y. ve Park, S.-M., 2016b, Production of hypo- and hypertetraploid seedlings from open-, self-, and cross-pollinated hypo- and hypertetraploid grape, *Horticultural Science and Technology*, 34 (5), 771-778.
- Park, Y.-S., Lim, S.-H. ve Heo, J.-Y., 2020, 'Hanareum' grape, *HortScience*, 55 (2), 275-276.
- Park, Y.-S., Lee, J.-C., Jeong, H.-N., Um, N.-Y. ve Heo, J.-Y., 2022, A red triploid seedless grape 'Red Dream', *HortScience*, 57 (6), 741-742.
- Park, Y., Heo, J., Um, N., Bang, S. ve Park, S., 2015a, Growth and fruit characteristics of hypo-, hyper-tetraploid grapes, *Korean Journal of Breeding Science*, 47 (3), 192-198.
- Park, Y., Heo, J., Um, N., Bang, S. ve Park, S., 2015b, A seedless table grape variety with high quality and large berries, 'sweet dream', *Korean Journal of Breeding Science*, 47 (4), 421-424.
- Park, Y. S., Kim, I. J. ve Park, S. M., 2010, Selection of hypo- and hyper-tetraploid seedlings from abnormal cotyledons seedlings obtained during crossing of tetraploid grapes (*Vitis* complexes), *Hortic. Sci. Technol.*, 28 (5), 810-817.
- Parveen, S., Anis, M., Bhat, T. ve Khan, A., 2006, Efficiency and effectiveness of physical and chemical mutagens in M2 generation of *Trigonella foenum-graceum* L, *J Cytol Genet*, 7, 1-4.

- Patel, G. ve Olmo, H., 1955, Cytogenetics of Vitis: I. The hybrid *V. vinifera* × *V. rotundifolia*, *American Journal of Botany*, 141-159.
- Patel, G. ve Olmo, H., 1957, Interspecific Triploid Hybrid in Grape: (with 10 figures), *Caryologia*, 9 (2), 340-352.
- Pathirana, R., 2011, Plant mutation breeding in agriculture, *Plant sciences reviews*, 6 (032), 107-126.
- Pei, M.-S., Liu, H.-N., Wei, T.-L., Yu, Y.-H. ve Guo, D.-L., 2021, Detection and characterization of genome-wide genetic variation associated with the early-ripening phenotype of grape mutants, *Scientia Horticulturae*, 285, 110195.
- Poni, S., Gatti, M., Palliotti, A., Dai, Z., Duchêne, E., Truong, T.-T., Ferrara, G., Matarrese, A. M. S., Gallotta, A. ve Bellincontro, A., 2018, Grapevine quality: A multiple choice issue, *Scientia horticulturae*, 234, 445-462.
- Pour, A. H., Tosun, M. ve Haliloğlu, K., 2021, Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) farklı süre ve dozlarda uygulanan etil metansülfonat (ems)'in çimlenme ve fide ile ilgili bazı karakterler üzerine etkileri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52 (2), 190-200.
- Priyadarshan, P. M., 2019, Plant Breeding: classical to modern, Springer, p. 570.
- Purente, N., Chen, B., Liu, X., Zhou, Y. ve He, M., 2020, Effect of ethyl methanesulfonate on induced morphological variation in M3 generation of *Chrysanthemum indicum* var. *aromaticum*, *HortScience*, 55 (7), 1099-1104.
- Qalby, N., Sjahril, R., Dachlan, A. ve Sakae, A., 2020, Colchicine induced polyploidy in Common Ice plant *Mesembryanthemum crystallinum* L., *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 012097.
- Radoglou, K. ve Jarvis, P., 1990, Effects of CO₂ enrichment on four poplar clones. II. Leaf surface properties, *Annals of Botany*, 65 (6), 627-632.
- Raina, A., Khursheed, S. ve Khan, S., 2018, Optimisation of mutagen doses for gamma rays and sodium azide in cowpea genotypes, *Trends Biosci*, 11 (13), 2386-2389.
- Rajdev, V., Mehendi, S., Prakash, S., Singh, A. ve Janeja, H. S., 2022, Mutagenic effect of Ethyl methane sulphonate (EMS) on Wheat (*Triticum aestivum* L.).
- Ramos-Madrigal, J., Runge, A. K. W., Bouby, L., Lacombe, T., Samaniego Castruita, J. A., Adam-Blondon, A.-F., Figueiral, I., Hallavant, C., Martínez-Zapater, J. M. ve Schaal, C., 2019, Palaeogenomic insights into the origins of French grapevine diversity, *Nature plants*, 5 (6), 595-603.
- Ramsey, J. ve Schemske, D. W., 1998, Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants, *Annual review of ecology and systematics*, 29 (1), 467-501.
- Ranel, C., 1989, The nature of spontaneous mutations, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 212 (1), 33-42.
- Rao, S., Kang, X., Li, J. ve Chen, J., 2019, Induction, identification and characterization of tetraploidy in *Lycium ruthenicum*, *Breeding science*, 69 (1), 160-168.
- Rapoport, I., 1966, Supermutagens: Peculiarities and mechanism of action of supermutagens. Publ. House, Nauka, Moscow USSR.
- Riaz, S., Pap, D., Uretsky, J., Laucou, V., Boursiquot, J.-M., Kocsis, L. ve Walker, M. A., 2019, Genetic diversity and parentage analysis of grape rootstocks, *Theoretical and applied genetics*, 132 (6), 1847-1860.
- Rime, J., Dinesh, M., Sankaran, M., Shivashankara, K., Rekha, A. ve Ravishankar, K., 2019, Evaluation and characterization of EMS derived mutant populations in mango, *Scientia Horticulturae*, 254, 55-60.
- Roslim, D. I. ve Fiatin, I., 2015, Lethal Dose 50 (Ld 50) Of Mungbean (*Vigna Radiata* L. Wilczek) Cultivar Kampar, *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, 47 (4).

- Ruiz, M., Oustric, J., Santini, J. ve Morillon, R., 2020, Synthetic polyploidy in grafted crops, *Frontiers in Plant Science*, 11, 540894.
- Rysbekova, A., Dyussibayeva, E., Seitkhozhayev, A., Zhirnova, I., Zhakenova, A., Yessenbekova, G., Bekenova, S. ve Yussayeva, D., 2020, Influence of sodium azide on morphological traits of Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) Genotypes.
- Salma, U., Kundu, S. ve Mandal, N., 2017, Artificial polyploidy in medicinal plants: advancement in the last two decades and impending prospects, *J Crop Sci Biotechnol*, 20 (1), 9-19.
- Sander, C. ve Muehlbauer, F., 1977, Mutagenic effects of sodium azide and gamma irradiation in Pisum, *Environmental and Experimental Botany*, 17 (1), 43-47.
- Saporta, R., San Pedro, T. ve Gisbert, C., 2016, Attempts at grapevine (*Vitis vinifera* L.) breeding through genetic transformation: the main limiting factors, *Vitis*, 55 (4), 173-186.
- Sarikhani, H. ve Wakana, A., 2006a, Effect of ploidy on parthenocarpy in grape cultivars, *IX International Conference on Grape Genetics and Breeding* 827, 433-438.
- Sarikhani, H. ve Wakana, A., 2006b, In Vitro Induction of Aneuploid Forms of Tetraploid Grapes by para-Fluorophynylalanine.
- Sattler, M. C., Carvalho, C. R. ve Clarindo, W. R., 2016, The polyploidy and its key role in plant breeding, *Planta*, 243, 281-296.
- Shannon, M. W., Borron, S. W., Burns, M. J., Haddad, L. M. ve Winchester, J. F., 2007, Haddad and Winchester's clinical management of poisoning and drug overdose, Saunders/Elsevier, p.
- Sharafi, S. S., Azadi, P., Jafarkhani, K. M., Abdossi, V. ve Eskandri, A., 2021, Evaluation of different growth hormones mediated callus induction and regeneration as well as the effect of colchicines, ethyl methanesulfonate (EMS) and gamma radiation on some traits of *Impatiens walleriana*, *Genetika*, 53 (1), 379-391.
- Sharamo, F. F., Shimelis, H., OlaOlorun, B. M., Korir, H., Indetie, A. H. ve Mashilo, J., 2021, Determining ethyl methane sulfonate-mediated (EMS) mutagenesis protocol for inducing high biomass yield in fodder barley (*Hordeum vulgare* L.), *Australian Journal of Crop Science*, 15 (7), 983-989.
- Sharma, M., Khan, A. H. ve Bhat, T. A., 2009, Assessment of mutagenicity of individual and combination treatments of gamma rays and MMS in broad bean (*Vicia faba* L.), *Cytologia*, 74 (2), 235-241.
- Shengjian, Z., Zijuan, G., Shuyun, Z., Xinzhong, Z. ve Licun, Z., 2005, The breeding of the new triploid grape cultivar 'Hongbiao seedless' with large berries and high quality, *Zhongguo Nong xue Tong bao= Chinese Agricultural Science Bulletin*, 21 (1), 230-232.
- Shi, H., Geng, B., Zhao, Y., Liu, Y., Huang, R., Zhao, P. ve Guo, Z., 2021, EMS-induced mutations in common vetch (*Vicia sativa* L.) and two mutants without anthocyanin accumulation showing increased cold tolerance, *Grassland Science*, 67 (2), 148-155.
- Shi, Q.-H., Liu, P., Liu, M.-J., Wang, J.-R. ve Xu, J., 2015, A novel method for rapid *in vivo* induction of homogeneous polyploids via calluses in a woody fruit tree (*Ziziphus jujuba* Mill.), *PCTOC*, 121 (2), 423-433.
- Shi, Y., Zhang, J., Wang, Y., Tang, D. ve Zhang, C., 2012, Study on breeding polyploidy grape by embryo rescue techniques, *Journal of Fruit Science*, 29 (2), 269-273.

- Shicheng, L., Peifang, J., Aili, J. ve Jun, L., 1998, Ovule culture to obtain triploid progeny from crosses between seedless cultivars and tetraploid grapes, *Shanghai Nongye Xuebao*, 14 (4), 13-17.
- Shu, Q.-Y., Forster, B. P., Nakagawa, H. ve Nakagawa, H., 2012, Plant mutation breeding and biotechnology, Cabi, p.
- Si-Hong, K., Joon-Ho, K., Young-Sik, P. ve Jae-Yun, H., 2020, In vitro embryo rescue for the production of hypotetraploids after cross between hypotetraploid and tetraploid grape cultivars, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48 (1), 503-508.
- Si-Hong, K., Jeong, S.-H. ve Jae-Yun, H., 2021, Incidence of 14 grapevine viruses in Korean vineyards, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49 (4).
- Singh, H., Verma, P., Lal, S. K. ve Khar, A., 2021, Optimization of EMS mutagen dose for short day onion, *Indian Journal of Horticulture*, 78 (1), 35-40.
- SK, M. Y., Prabakaran, S. ve Suresh, S., 2020, Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutations in M1 generation of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9 (2), 1545-1547.
- Snyder, E., 1937, Grape development and improvement, *Grape development and improvement*.
- Sofia, S., Reddy, D., Reddy, K., Latha, P. ve Reddy, B. R., 2020, Effect of gamma rays, ethyl methane sulphonate and sodium azide on seedling traits, fertility and varietal sensitivity in Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek), *IJCS*, 8 (4), 1109-1114.
- Spence, R. K., 1965, The influence of sodium azide on the biological effects of ionizing radiation in moist barley seeds, *Washington State University*.
- Srivastava, P., Marker, S., Pandey, P. ve Tiwari, D., 2011, Mutagenic effects of sodium azide on the growth and yield characteristics in wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.), *Asian Journal of Plant Sciences*, 10 (3), 190-201.
- Stebbins, G. L., 1950, Variation and evolution in plants Columbia biological series.
- Stebbins, G. L., 1971, Chromosomal evolution in higher plants, *Chromosomal evolution in higher plants*.
- Strauss, B. ve Wahl, R., 1964, The presence of breaks in the deoxyribonucleic acid of *Bacillus subtilis* treated in vivo with the alkylating agent, methylmethanesulfonate, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Specialized Section on Nucleic Acids and Related Subjects*, 80 (1), 116-126.
- Su, J., Wang, X., Wang, J. ve Guo, Q., 2012, Research progress of triploid plant breeding, *South China Agriculture*, 6, 78-80.
- Sugihara, N., Higashigawa, T., Aramoto, D. ve Kato, A., 2013, Haploid plants carrying a sodium azide-induced mutation (*fdr1*) produce fertile pollen grains due to first division restitution (FDR) in maize (*Zea mays* L.), *Theoretical and applied genetics*, 126 (12), 2931-2941.
- Sugiyarti, A., 2020, Pengaruh Variasi Lama Perendaman Kolkisin Terhadap Pertumbuhan, Morfologi, dan Anatomi Protocorm *Phalaenopsis bellina* (RCHB. F.) Christenson.
- Sun, L., Zhang, G.-j., Yan, A.-l. ve Xu, H.-y., 2011a, The study of triploid progenies crossed between different ploidy grapes, *African Journal of Biotechnology*, 10 (32), 5967-5971.
- Sun, Q., Gates, M. J., Lavin, E. H., Acree, T. E. ve Sacks, G. L., 2011b, Comparison of odor-active compounds in grapes and wines from *Vitis vinifera* and non-foxy American grape species, *Journal of agricultural and food chemistry*, 59 (19), 10657-10664.

- Szarejko, I., Szurman-Zubrzycka, M., Nawrot, M., Marzec, M., Gruszka, D., Kurowska, M., Chmielewska, B., Zbieszczak, J., Jelonek, J. ve Maluszynski, M., 2017, Creation of a TILLING population in barley after chemical mutagenesis with sodium azide and MNU, In: *Biotechnologies for plant mutation breeding*, Eds: Springer, Cham, p. 91-111.
- Tabasum, A., Cheema, A. A., Hameed, A., Rashid, M. ve Ashraf, M., 2011, Radio sensitivity of rice genotypes to gamma radiations based on seedling traits and physiological indices, *Pak. J. Bot*, 43 (2), 1211-1222.
- Thomas, H., 1993, Chromosome manipulation and polyploidy, *Plant breeding: principles and prospects*, 79-92.
- Thomas, T. D. ve Chaturvedi, R., 2008, Endosperm culture: a novel method for triploid plant production, *PCTOC*, 93 (1), 1-14.
- Trojak-Goluch, A., Kawka-Lipińska, M., Wielgusz, K. ve Praczyk, M., 2021, Polyploidy in industrial crops: Applications and perspectives in plant breeding, *Agronomy*, 11 (12), 2574.
- Tuna, M., 2014, Flow sitometri ve tarımsal araştırmalarda kullanımı. II, *Flow Sitometri ve Tarımsal Araştırmalarda Kullanımı Eğitim Programı Notları*, Tekirdağ, 16-17.
- Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K. ve Pleijel, H., 2007, Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings, *Photosynthesis research*, 91, 37-46.
- Unan, R., Deligoz, I., Al-Khatib, K. ve Mennan, H., 2021, Protocol for ethyl methanesulphonate (EMS) mutagenesis application in rice, *Open Research Europe*, 1 (19), 19.
- Uzun, H., 1996, Studies on the yield and quality characteristics of some table grape cultivars grafted on Fercal grape rootstock, *Akdeniz University, Journal of Faculty of Agriculture (Turkey)*.
- Veleminsky, J., Rosichan, J., Juříček, M., Kleinhofs, A., Nilan, R. ve Gichner, T., 1987, Interaction of the mutagenic metabolite of sodium azide, synthesized in vitro, with DNA of barley embryos, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 181 (1), 73-79.
- Vinithashri, G., Manonmani, S., Anand, G., Meena, S., Bhuvaneswari, K. ve JohnJoel, A., 2020, Mutagenic effectiveness and efficiency of sodium azide in rice varieties, *Electronic Journal of Plant Breeding*, 11 (01), 197-203.
- Vrána, J., Cápál, P., Bednářová, M. ve Doležel, J., 2014, Flow cytometry in plant research: a success story, In: *Applied plant cell biology*, Eds: Springer, p. 395-430.
- Vwioko, E. D., El-Esawi, M. A., Imoni, M. E., Al-Ghamdi, A. A., Ali, H. M., El-Sheekh, M. M., Abdeldaym, E. A. ve Al-Dosary, M. A., 2019, Sodium azide priming enhances waterlogging stress tolerance in okra (*Abelmoschus esculentus* L.), *Agronomy*, 9 (11), 679.
- Wakana, A., Hiramatsu, M., Park, S. M., Hanada, N., Fukudome, I. ve Yasukochi, K., 2003, Seed abortion in crosses between diploid and tetraploid grapes (*Vitis vinifera* and *V. complex*) and recovery of triploid plants through embryo culture.
- Wakana, A., Park, S. M., Hiramatsu, M., Hanada, N., Fukudome, I. ve Yasukochi, K., 2005, Characteristics of seedless berries of triploid hybrid grapes (*Vitis complex*) from reciprocal crosses between diploid'Muscat Bailey A'and tetraploid'Red Pearl'.

- Wakana, A., Fukudome, I., Hanada, N., Hiramatsu, M., Sakai, K. ve Kajiwara, K., 2008, 'Bea-Kei', a new triploid seedless grape cultivar derived from a 'Muscat Bailey A'×'Kyoho'cross.
- Wang, C.-S., Lo, K.-L. ve Wang, A. Z., 2019, Sodium azide mutagenesis generated diverse and broad spectrum blast resistance mutants in rice, *Euphytica*, 215 (9), 1-11.
- Wang, J. ve Luca, V. D., 2005, The biosynthesis and regulation of biosynthesis of Concord grape fruit esters, including 'foxy' methylantranilate, *The Plant Journal*, 44 (4), 606-619.
- Wang, L., Zhang, B., Li, J., Yang, X. ve Ren, Z., 2014, Ethyl methanesulfonate (EMS)-mediated mutagenesis of cucumber (*Cucumis sativus* L.), *Agricultural Sciences*, 2014.
- Wang, X., Cheng, Z.-M., Zhi, S. ve Xu, F., 2016, Breeding triploid plants: a review, *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 52 (2), 41-54.
- Wani, M. R., Khan, S. ve Kozgar, M. I., 2011, Induced chlorophyll mutations. I. Mutagenic effectiveness and efficiency of EMS, HZ and SA in mungbean, *Frontiers of Agriculture in China*, 5, 514-518.
- Wannajindaporn, A., Poolsawat, O., Chaowiset, W. ve Tantasawat, P., 2014, Evaluation of genetic variability in in vitro sodium azide-induced *Dendrobium* 'Earsakul' mutants, *Genet Mol Res*, 13 (3), 5333.
- Weldemichael, M. Y., Baryatsion, Y. T., Sbhatu, D. B., Gebresamuel Abraha, G., Juhar, H. M., Kassa, A. B., Baraki Sibhatu, F., Gebremedhn, H. M., Gebrelibanos, T. S. ve Mebrahtu Mossa, M., 2021, Effect of Sodium Azide on Quantitative and Qualitative Stem Traits in the M2 Generation of Ethiopian Sesame (*Sesamum indicum* L.) Genotypes, *The Scientific World Journal*, 2021.
- Wessler, S. R., 2006, Transposable elements and the evolution of eukaryotic genomes, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (47), 17600-17601.
- Witt, T. W., Ulloa, M., Pelletier, M. G., Mendu, V. ve Ritchie, G. L., 2018, Exploring ethyl methanesulfonate (EMS) treated cotton (*Gossypium hirsutum* L.) to improve drought tolerance, *Euphytica*, 214 (7), 123.
- Xie, X., Agüero, C. B., Wang, Y. ve Walker, M. A., 2015a, In vitro induction of tetraploids in *Vitis* × *Muscadinia* hybrids, *PCTOC*, 122 (3), 675-683.
- Xie, X., Agüero, C. B., Wang, Y. ve Walker, M. A., 2015b, In vitro induction of tetraploids in *Vitis* × *Muscadinia* hybrids, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 122, 675-683.
- Xu, C., Zhang, Y., Cao, L. ve Lu, J., 2010, Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China, *Food Chemistry*, 119 (4), 1557-1565.
- Xu, Z. ve Zhou, G., 2008, Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass, *Journal of experimental botany*, 59 (12), 3317-3325.
- Yabor, L. ve Lorenzo, J. C., 2019, Mutagenic effects of sodium azide on pineapple micropropagant growth and biochemical profile within temporary immersion bioreactors.
- Yadav, P., Meena, H., Meena, P., Kumar, A., Gupta, R., Jambhulkar, S., Rani, R. ve Singh, D., 2016, Determination of LD50 of ethyl methanesulfonate (EMS) for induction of mutations in rapeseed-mustard, *Journal of Oilseed Brassica*, 1 (1), 77-82.
- Yadav, S. S., McNeil, D. ve Stevenson, P. C., 2007, Lentil: An ancient crop for modern times, Springer, p.

- Yamada, M. ve Sato, A., 2016, Advances in table grape breeding in Japan, *Breeding science*, 66 (1), 34-45.
- Yang, S., Fresnedo-Ramírez, J., Sun, Q., Manns, D. C., Sacks, G. L., Mansfield, A. K., Luby, J. J., Londo, J. P., Reisch, B. I. ve Cadle-Davidson, L. E., 2016, Next generation mapping of enological traits in an F2 interspecific grapevine hybrid family, *PLoS One*, 11 (3), e0149560.
- Yong, W. T. L., Aswandy, A. K., Cheong, B. E. ve Rodrigues, K. F., 2021, Mutagenic effects of ethyl methanesulfonate on nine protein coding genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.), *Scientia Horticulturae*, 276, 109739.
- Younis, A., Hwang, Y.-J. ve Lim, K.-B., 2014, Exploitation of induced 2n-gametes for plant breeding, *Plant cell reports*, 33 (2), 215-223.
- Yuan, S.-x., Liu, Y.-m., Fang, Z.-y., Yang, L.-m., Zhuang, M., Zhang, Y.-y. ve Sun, P.-t., 2009, Study on the relationship between the ploidy level of microspore-derived plants and the number of chloroplast in stomatal guard cells in *Brassica oleracea*, *Agricultural Sciences in China*, 8 (8), 939-946.
- Zaland, W., Sakai, K., Mizunoe, Y., Ozaki, Y. ve Wakana, A., 2020, In vitro induction of hexaploid forms and generation of hexaploid forms from induced mixoploids in triploid grape cultivars (*Vitis vinifera* complex), *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 65 (2), 215-221.
- Zeilinga, A. ve Schouten, H., 1968, Polyploidy in garden tulips. II. The production of tetraploids, *Euphytica*, 17 (2), 303-310.
- Zhao, S., Zhang, X., Guo, Z. ve Ma, A., 2006, Characteristics of new triploid seedless table grape cultivar 'Champion Seedless' released in China, *IX International Conference on Grape Genetics and Breeding* 827, 451-456.
- Zhao, Y., Cheng, H., Wu, Y., Wu, Y. ve Li, Y., 2011, Germplasm development of triploid grapevine and rapid identification of chromosome ploidy, *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (6), 1161-1166.
- Zhou, J., Guo, F., Fu, J., Xiao, Y. ve Wu, J., 2020, In vitro polyploid induction using colchicine for *Zingiber officinale* Roscoe cv. 'Fengtou' ginger, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 142, 87-94.
- Zhou, Y., Massonnet, M., Sanjak, J. S., Cantu, D. ve Gaut, B. S., 2017, Evolutionary genomics of grape (*Vitis vinifera* ssp. *vinifera*) domestication, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114 (44), 11715-11720.
- Zlesak, D. C., Thill, C. A. ve Anderson, N. O., 2005, Trifluralin-mediated polyploidization of *Rosa chinensis* minima (Sims) Voss seedlings, *Euphytica*, 141, 281-290.
- Zyprian, E., Eibach, R., Trapp, O., Schwander, F. ve Toepfer, R., 2018, Grapevine breeding under climate change: applicability of a molecular marker linked to veraison, *Vitis*, 57 (3), 119-123.