

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



***CANNABİS SATİVA* BİTKİSİNDE YÜKSEK KANNABİDİOL (CBD) İÇEREN
HİBRİT POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Enes GÜLMEZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MAYIS 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



***CANNABIS SATIVA* BİTKİSİNDE YÜKSEK KANNABİDİOL (CBD) İÇEREN
HİBRİT POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Enes GÜLMEZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MAYIS 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***CANNABIS SATIVA* BİTKİSİNDE YÜKSEK KANNABİDİOL (CBD) İÇEREN
HİBRİT POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Enes GÜLMEZ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez TÜBİTAK tarafından 219Z312 no'lu proje ile desteklenmiştir.

MAYIS 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***CANNABIS SATIVA* BİTKİSİNDE YÜKSEK KANNABİDİOL (CBD) İÇEREN
HİBRİT POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Enes GÜLMEZ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 08/05/2023 tarihinde jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ (Danışman)
Prof. Dr. Mahmut KAPLAN
Prof. Dr. Nedim MUTLU

ÖZET

***CANNABIS SATIVA* BİTKİSİNDE YÜKSEK KANNABİDİOL (CBD) İÇEREN HİBRİT POTANSİYELİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Enes GÜLMEZ

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

Mayıs 2023; 57 sayfa

Günümüzde medikal başta olmak üzere lif üretimi, tohumu üretimi ve endüstriyel alanlarda çoklu kullanımları sebebiyle dikkatli üzerine çeken kenevir bitkisi; ülkemizde de yasal izinler doğrultusunda belli alanlarda lif, tohum, sap ve benzeri amaçlar için yetiştirilmektedir. Dişi bitkilerin çiçek demetleri öncü olacak şekilde kenevir bitkisi içeriğinde bulunan kannabinoidler, terpenler ve fenolik bileşikler gibi sekonder metabolitler nedeniyle ilaç endüstrisinde önemli bir bitkisel materyal haline gelmiştir. Bu bileşenlerden kannabinoidler; psikoaktif ve psikoaktif olmayan bileşikler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Kanser hastalarında, kannabinoidlerin iştah uyarma, ağrı ve mide bulantısını hafifletme etkileri bilinmektedir. Kannabinoidlerin konsantrasyonunda bitkinin yetiştirilmesi sırasındaki çevresel etkilerin, genetik alt yapısının ve uygulanan ekstraksiyon ve analiz yöntemleri önemli rol oynamaktadır. Kenevir bitkisinde başlıca delta-9-tetrahidrokanabidiol (Δ^9 -THC), kanabidiol (CBD), kanabinol (CBN) kanabikromen (CBC), kanabigerol (CBG), kanabidiolik asit, kanabidivarin (CBDV) ve tetrahidrokanabivarin (THCV) olmak üzere 90'dan fazla kannabinoid bulunmasına rağmen medikal ve endüstriyel anlamda en yaygın kullanılanı CBD'dür. Bu çalışmada, CBD bakımından zengin olan bir kenevir genotipi ile CBD bakımından zengin olmayan bir kenevir genotipinin resiprokal melezlenmesi sonucunda oluşan hibritlerde yüksek CBD için hibrit potansiyelinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Güvenli serada kontrollü şartlar altında sonbahar döneminde temin edilen genotipler yetiştirilmiştir. Numunelerdeki kannabinoid miktarlarının tanımlanabilmesi için, dinamik maserasyon ekstraksiyon yöntemi ve yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre; en yüksek CBD miktarı içeren bitki 49509,17 ppm ile yüksek CBD içeren ebeveynin sitoplazmasına sahip olan hibrit olarak bulunmuştur. CBD miktarının ortalaması bakımından resiprokal melezler yüksek CBD içeren ebeveyn hattını geçememişlerdir. Yüksek CBD içeren ebeveynin sitoplazmasına sahip olan hibrit 15501,05 ppm CBD miktarı ortalaması ile 11836,92 ppm CBD miktarı ortalaması bulunan resiprokal hibritini geçmiştir. Resiprokal hibritlerin kannabinoid kemotipi bakımından yüksek CBD içeren ebeveyninden farklı olmadığı belirlenmiştir. Bu tez çalışması kapsamında üretilen verilerin, özellikle son zamanlarda eczacılık sektöründe popüler hale gelen CBD'ün ıslah çalışmaları açısından akademik ve endüstriyel düzeydeki çalışmalara katkılar sağlaması beklenmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Hibrit, Kannabidiol, Kemotip, Kenevir,

JÜRİ: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

Prof. Dr. Mahmut KAPLAN

Prof. Dr. Nedim MUTLU



ABSTRACT

EVALUATION OF HIGH CANNABIDIOL (CBD) HYBRID POTENTIAL IN *CANNABIS SATIVA*

Enes GÜLMEZ

MSc Thesis in Agriculture Biotechnology Department

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

May 2023; 57 pages

Today, the cannabis plant, which attracts attention due to its multiple uses in fiber production, seed production and industrial fields, especially in medical fields, is grown for fiber, seed, stem and similar purposes in certain areas in line with legal permissions in our country. The cannabis plant, with the flower bunches of female plants being the pioneer, has become an important plant material in the pharmaceutical industry due to secondary metabolites such as cannabinoids, terpenes and phenolic compounds. Among these components, cannabinoids are divided into two as psychoactive and non-psychoactive compounds. In cancer patients, cannabinoids are known to stimulate appetite, relieve pain and nausea. The concentration of cannabinoids is influenced by environmental influences during the cultivation of the plant, its genetic background and the extraction and analysis methods used. Although there are more than 90 cannabinoids in the cannabis plant, mainly delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN), cannabichromene (CBC), cannabigerol (CBG), cannabidiolic acid, cannabidivarin (CBDV) and tetrahydrocannabivarin (THCV), CBD is the most widely used medically and industrially. In this study, it was aimed to evaluate the hybrid potential for high CBD in hybrids resulting from the reciprocal crossing of a CBD-rich cannabis genotype and a non-CBD-rich cannabis genotype. Genotypes obtained in the fall were grown under controlled conditions in a secure greenhouse. Dynamic maceration extraction method and high performance liquid chromatography (HPLC) were used to identify cannabinoid amounts in the samples. According to the results obtained; the plant with the highest CBD content was found to be the hybrid with the cytoplasm of the parent containing high CBD with 49509.17 ppm. In terms of the average CBD content, the reciprocal hybrids could not exceed the parental line containing high CBD. The hybrid with the cytoplasm of the parent containing high CBD surpassed the reciprocal hybrid with the mean CBD content of 15501.05 ppm and the mean CBD content of 11836.92 ppm. It was determined that the reciprocal hybrids did not differ from the high CBD parent in terms of cannabinoid chemotype. It is expected that the data produced within the scope of this thesis study will contribute to academic and industrial studies in terms of breeding studies of CBD, which has recently become popular in the pharmaceutical sector.

KEYWORDS: Hybrid, Cannabidiol, Chemotype, Hemp,

COMMITTEE: Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ

Prof. Dr. Mahmut KAPLAN

Prof. Dr. Nedim MUTLU



ÖNSÖZ

Tez konumu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurup ve yüksek lisans çalışmasının her aşamasında her türlü bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. Mehmet Fatih CENGİZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu zorlu tez sürecinde benden bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Nedim MUTLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecinin zorlu zamanları dışında hayatında getirmiş olduğu zorlu şartlarda her zaman destek olan, gülmenin ve keyifli bir zaman geçirmenin ne kadar kıymetli olduğu her daim hatırlatan laboratuvar ve ofis arkadaşlarıma teşekkür ederim. Teorik ve pratik bilgilerini tez sürecince benimle paylaşan Alparslan KARABENİZ, Mariem BOUALİ ve Mustafa Hamza AL BAYATİ'ye ayrıca teşekkür ederim.

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca her konuda maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen, bugün bu tezi hazırlamakta en büyük yardımcılarım olan sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kenevirin Tarihçesi.....	1
1.2. Kenevirin Sistematiği.....	2
1.3. Kenevirin Morfolojisi ve Anatomisi	4
1.3.1. Kenevirin Morfolojisi.....	5
1.3.1.1. Tüyler (Trikomlar)	7
1.3.1.1.1. Salgı Tüyleri (Glandüler Trikomlar)	8
1.3.1.1.2. Örtü tüyleri (Non-glandular Trikomlar)	10
1.3.2. Kenevirin Anatomisi	10
1.4. Kenevirin Genetiği ve Islahı	11
1.4.1. Kannabinoidler	12
1.4.1.1. Kannabinoid Miktarı	12
1.4.1.2. Kannabinoid Kalitesi.....	12
1.4.1.3. Kannabinoid Genetiği	13
1.4.1.4. Kannabinoid Biyosentezi	14
1.4.1.4.1. Geranil Difosfatın Biyosentezi	15
1.4.1.4.2. Olivetolik Asit Sentezi	16
1.4.1.4.3. Tetrahidrokannabinolik Asit (THCA) Sentezi	16
1.4.1.4.4. Kannabinolik Asit (CBDA) Sentezi	17
1.4.2. Kenevir Islahı	17
1.4.3. Kannabinoidlerin Ekstraksiyon Yöntemleri.....	18
1.4.3.1. Dinamik Maserasyon	19
1.4.4. Kannabinoidlerin Tanımlama Yöntemleri	19
2. KAYNAK TARAMASI	21
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1. Kullanılan Bitki çeşitleri ve Ekim Koşulları.....	26

3.1.1.	Melezlemeler.....	27
3.	Kullanılan Materyaller	28
3.3.	DNA Ekstraksiyonu	28
3.4.	Markör Analizi	29
3.5.	Jel Elektrophorezi	30
3.6.	Agronomik Gözlemler	31
3.7.	Kannabidol (CBD)'ün Ekstraksiyonu ve Tanımlanması	31
3.8.	Verilerin Analizi.....	33
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1.	İlk Çiçek Görölme Zamanı	34
4.	Erkek Dişi Oranı ve Cinsiyet Belirlemek İçin Markör sonucu.....	34
4.3.	Gövde ve Kök Boğazı Kalınlığı.....	35
4.4.	Bitki Uzunluğu ve Nod Aralığı.....	37
4.5.	Biyokütle ve Çiçek Demeti Ağırlığı	39
4.6.	Yan Dal Sayısı	41
4.7.	Bin Tohum Ağırlığı.....	42
4.8.	CBD Miktarı ve %THC/CBD Oranı	44
5.	SONUÇLAR.....	47
6.	KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ		

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Cannabis sativa* Bitkisinde Yüksek Kannabidiol (CBD) İçeren Hibrit Potansiyelinin Değerlendirilmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

...../...../20....

Öğrencinin Adı Soyadı

İmzası

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C : santigrat

µL : mikrolitre

dk : dakika

g : gram

kg : kilogram

mL : mililitre

rpm : dakikadaki devir sayısı

sn : saniye

Kısaltmalar

Bç : baz çifti

CBD : kannabidiol

CBG : kannabigerol

CTAB: cetyl trimethylammonium bromide

DNA : deoksirino nükleik asit

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid

GC : gaz kromatografisi

HPLC: yüksek performanslı sıvı kromatografisi

LOD : tespit sınırı

LOQ : ölçüt sınırı

PCR : polimeraz zincir reaksiyonu

SD : standart sapma

THC : tetrahidrokannabinol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kenevirin tarihsel/coğrafik dağılımı.....	2
Şekil 1.2. Proje kapsamında serada yetiştirilen bir kenevir bitkisi	3
Şekil 1.3. Tez kapsamında yetiştirilen kenevir bitkisinin dış görünüşü	4
Şekil 1.4. Proje kapsamında serada yetiştirilen bir kenevir bitkisi	6
Şekil 1.5. Kenevir bitkisinde yaprak ve braktelerdeki tüyler.....	8
Şekil 1.6. Kenevirde salgı ve örtü tüylerinin SEM görünümü.....	9
Şekil 1.7. Kannabinoid biyosentez yolu.	15
Şekil 1.8. Kannabigerolik asit (CBGA) biyosentezi.....	16
Şekil 1.9. Kannabinoidlerin biyosentezi	17
Şekil 3.1. Son sezonda seradaki kenevir bitkileri	27
Şekil 4.1. Bir genotipte cinsiyet belirlemek için kullandığımız primerin örnek jel görüntüsü.....	35
Şekil 4.2. Araziden sökülen genotiplerden örnekler.....	38
Şekil 4.3. Genotiplerin üst kısımlarında alınan çiçek demeti örnekleri.....	41
Şekil 4.4. Genotiplerin tohumları.....	43
Şekil 4.5. Kannabinoid kromatogramları.....	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Kenevirin taksonomik sınıflandırılması	3
Çizelge 3.1. Resiprokal Melezleme sonucu oluşan F ₁ 'lerin isimleri	27
Çizelge 3.2. Denemeler kapsamında kullanılan alet ve ekipmanlar	28
Çizelge 3.3. Cinsiyet belirleme primeri	29
Çizelge 3.4. PCR karşımı için gerekli olan bileşenler	30
Çizelge 3.5. PCR Döngüsü	30
Çizelge 3.6. HPLC cihazı analitik koşulları	32
Çizelge 3.7. Kannabinoidlerin bazı yöntem doğrulaması sonuçları	33
Çizelge 4.1. İlk Çiçek görülme zamanı ortalaması	34
Çizelge 4.2. Genotiplerde erkek dişi bitki oranı	35
Çizelge 4.3. Genotiplerin kök boğazı ve gövde kalınlığı ortalaması	36
Çizelge 4.4. Ebeveyn ve hibritlere ait gövde kalınlıklarına ilişkin varyans analizi	36
Çizelge 4.5. Kenevir genotiplerin ve hibritlerin bitki boyu ortalaması ve nod aralığı ortalaması	37
Çizelge 4.6. Genotiplerin ve hibritlere ait bitki boyu uzunluklarına ilişkin varyans analizi	37
Çizelge 4.7. Genotiplerin ve hibritlere ait nod aralığına ilişkin varyans analizi	38
Çizelge 4.8. Genotiplerin, biyokütle ve çiçek demeti ağırlığının ortalaması	39
Çizelge 4.9. Genotiplerin ve hibritlere ait biokütleyle ilişkin varyans analizi	40
Çizelge 4.10. Genotip ve hibritlere ait çiçek demeti ağırlığına ilişkin varyans analizi ..	40
Çizelge 4.11. Genotiplerin bitki başına yan dal sayısı ortalaması	41
Çizelge 4.12. Genotip ve hibritlere ait bitki başına yan dal sayısına ilişkin varyans analizi	42
Çizelge 4.13. Bin tohum ağırlığının ortalaması	42

Çizelge 4.14. Genotip ve hibritlere ait bin tohum ağırlığının ortalamasına ilişkin varyans analizi.....	43
Çizelge 4.15. Genotiplerimizin ortalama CBD miktarı ve % THC/CBD oranı.....	44
Çizelge 4.16. Genotip ve hibritlere ait kannabidiol miktarı ortalamasına ilişkin varyans analizi.....	44
Çizelge 4.17. Genotip ve hibritlere ait %THC/CBD ortalamasına ilişkin varyans analizi	44



1. GİRİŞ

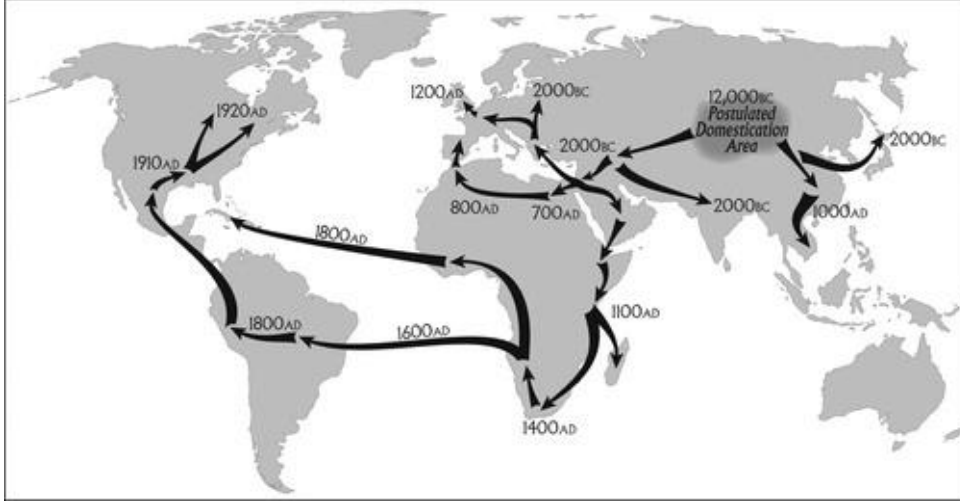
1.1. Kenevirin Tarihçesi

Tıbbi uygulamalarda kullanılmak üzere çok eski zamanlardan itibaren kenevirin kültüre alındığı bilinmektedir (Hand ve ark., 2016).

Kenevir kökeni Orta ve Doğu Asya olup, Asya bölgesinde geniş bir yayılma alanına sahiptir (Schultes, 1973; Mert, 2009). Kenevir yetiştiriciliğinin ilk kanıtı, M.Ö. 4000 yılına ait olduğu belirlenen polen kalıntısı Çin'in Pan-po isimli arkeolojik köyünde bulunmuştur (Li, 1974; Hand ve ark., 2016). Pan-po'lular, kenevir bitkisini sıtma, romatizma ve gut gibi 100'den fazla hastalığı iyileştiriciliğinin yanı sıra yüksek doz kullanımında ruhlarla iletişime geçildiğini kabul etmişlerdir. Çin tıbbının kurucusu ve cerrahı olan Hua-tu, ameliyattan önce hastalarını uyuşturmak için kenevir ve şarap kullanmıştır (Mikuriya, 1969; Hand ve ark., 2016). Çin'de artan bu kenevir kullanımı Batıya doğru yayılarak Hindistan'a ulaşmıştır (Touw, 1981; Zuardi, 2006).

Hintliler tarafından kullanılan bir tıp sistemi olan Ayurveda ilk kurulduğunda kenevirin kalitesi ve kullanımı ile ilgili bir sözlük hazırlayarak burada keneviri ruhları uyaran ve konuşmayı yavaşlatan bir madde olarak tanımlamışlardır (Kuddus ve ark., 2013). Kenevir dini uygulamalara entegre edilmiş ve kısa zamanda kabul görmüştür. Hinduizm'de kutsal bitkiler arasına girmiş ve yapraklarının arasında bir melek yaşadığına inanılmıştır (Hand ve ark., 2016).

Sonraki zamanlarda kenevir kullanımı dünyaya yayılmaya devam ederek birçok kültür tarafından kabul görmüştür. İran tıbbında kenevirin hoşnutluk etkisi ve onu takip eden huzursuzluk etkisi olmak üzere iki fazlı etkisinden bahsedildiği bilinmektedir. İbn-i Sina Batı tıbbında keneviri gut hastalığı için bir tedavi olarak kaydetmiş; baş ağrısı, ödem ve bulaşıcı hastalıklar için kullanılmasını önermiştir (Mahdizadeh ve ark., 2015). Arap tıbbında ise epilepsi tedavisinde etkili bir materyal olarak kullanılmıştır (Lozano, 2001). Arap tüccarlar tarafından sıtma, astım ve dizanteri tedavisinde kullanılması için Afrika'ya getirilmiştir. 1500'lü yıllarda köle tacirleri tarafından kenevir Afrika kıtasından Brezilya'ya getirilerek Amerika kıtasına ulaşmıştır (Hand ve ark., 2016). Şekil 1.1'de kenevir bitkisinin yıllar içindeki coğrafi dağılımı gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Kenevirin tarihsel/coğrafik dağılımı; B.C: milattan önce, A.D: milattan sonra (Warf, 2014)

Anadolu’da ise kenevir yetiştiriciliğinin M.Ö. 1500’lü yıllarda yapıldığı bilinmektedir. Osmanlı İmparatorluğu döneminde Tire ve Kastamonu çevrelerinde ordu ve donanmanın ip ihtiyacını karşılamak için kenevir yetiştiriciliğine önem verilmiştir (Mert, 2009).

Kenevir birkaç tetrahidrokannabidiol (THC) ve kannabinoid izomerlerinden oluşan çok sayıda farklı kimyasal bileşiklerden oluşan bir bitkidir. Kannabiol ve kannabidioller anestezi üzerine en büyük etkisi olan bileşiklerdir (Turner ve ark., 1979).

Kenevir bitkisi düşük su ihtiyacı, kuraklığa ve zararlılara karşı olan direnci, lifleri ve fitokimyasalları nedeniyle tercih edilmesine ve tekrar kullanımının canlanmasına neden olmuştur. Günümüzde dünya genelinde kenevir yaygın olarak yetiştirilmekte ve psikoaktif özellikleri bilinmektedir. Kenevir bitkisi, gelişmiş ülkelerin birçoğunun önemli bir ihracat ürünü haline gelmiştir (G. Potter ve Bouchard, 2011).

1.2. Kenevirin Sistematigi

Kenevir (*Cannabis L.*) *Cannabaceae* familyasına ait bir bitkidir. İlk olarak 1753 yılında İsveç’li botanikçi ve taksonomist Carl Linnaeus tarafından *Cannabaceae* familyası ve *Cannabis* cinsi olarak tanımlanmıştır (Hazekamp ve Verpoorte, 2006). Bitkinin tür sayısı politipik mi (çoklu tür) yoksa monotipik (tek tür) olup polimorfik mi olduğu tartışmalı konular arasında yerini almıştır. Birçok kaynakta kenevir cinsi: *C. sativa*, *C. indica Lam.* ve *C. ruderalis Janisch* olmak üzere 3 adet taksondan oluştuğunu belirtilmektedir (Schultes, 1973; Emboden, 1974). Kenevirin monotipik bir cins olduğu yani 1 türden (*C. sativa*) oluştuğu yaygın olarak kabul görülmektedir (Beutler ve Marderosian, 1978; Hazekamp ve Verpoorte, 2006). Kenevirin taksonomik sınıflandırılması Çizelge 1.1.’de ve proje kapsamında yetiştirilen bir kenevir bitkisine ait görsel şekil 1.2.’de sunulmaktadır.

Çizelge 1.1. Kenevirin taksonomik sınıflandırılması

Alem	Plantae
Alt alem	Tracheobionta
Üst şube	Spermatophyta
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Hamamelididae
Takım	Urticales
Aile	<i>Cannabaceae</i>
Cins	<i>Cannabis</i>

**Şekil 1.2.** Proje kapsamında serada yetiştirilen bir kenevir bitkisi

Taksonomideki bu anlaşmazlıklar keneviri kimyasal profillerine göre ayırma yol açmıştır. Kimyasal profildeki kenevirin 3 fenotipe ayrımı ise; ilaç tipi, ara tip ve lif tipi olarak belirtilmiştir. Fenotip 1 (ilaç tipi) profilde D9-Tetrahidrokanabinol (THC) >

%0,5 ve kannabidiol (CBD) < %0,5; fenotip 2 (ara tip) profilde ana kannabinoid olarak CBD iken THC'nin ise farklı konsantrasyonlarda bulunur; ve fenotip 3 (lif tipi) ise düşük THC (< %0,5) içeriğine sahip profil olarak sınıflandırılır (Haze Kamp ve ark., 2016; Piomelli ve Russo, 2016). Kenevirin genellikle ana bileşenleri CBD veya kannabigerol (CBG) gibi psikoaktif olmayan kannabinoidler içerir. (De Backer ve ark., 2009; Galal ve ark., 2009). Farklı büyüme aşamalarında bitkinin farklı kısımlarında bulunan kannabinoidlerin miktarı çevresel faktörlerden etkilenmesine rağmen (Bócsa ve ark., 1997), çoğu popülasyonda CBD:THC oranlarının dağılımı genetik olarak kontrol altındadır (De Meijer ve ark., 2003). Keneviri sınıflandırırken farklı tür indeksler kullanılır: $[THC+CBN]/CBD > 1$ ilaç tipi, <1 oranı ise lif tipini gösterir (indeks 1); $THC > CBD$ ilaç tipi belirtirken, $THC < \%1$ ve $CBD > THC$ lif türünü belirtir (indeks 2); ve THC/CBD veya $CBN/CBD > 1$ ilaç tipini, THC/CBD ve $CBN/CBD < 1$ lif tipini (indeks 3) belirtir (Stefanidou ve ark., 1998; Ross ve ark., 2000; de Oliveira ve ark., 2006).

Birden fazla çalışmada *Cannabis* cinsi birçok alt tür halinde verilmiştir (*C. sativa* subsp. *sativa*, *C. sativa* subsp. *indica*, *C. sativa* subsp. *ruderalis*, *C. sativa* subsp. *kafiristanca* ve *C. sativa* subsp. *spontanea*) (Ernest Small, 2016). *Cannabis*'in alt türlere ayrılması morfolojik ve kimyasal olarak çok kolay değildir. *C. sativa* isminin tüm alt türler için kullanılması daha uygun olacaktır (Fidan ve Karaismailoğlu, 2020).

1.3. Kenevirin Morfolojisi ve Anatomisi

Genellikle dioik bitki olarak görülen fakat liflerinden dolayı monoik çeşitlerin kültür formları da geliştirilmiş olan kenevir, doğal ortamında tohumdan yayılır (Ernest Small ve Cronquist, 1976). Şekil 1.3.'de proje kapsamında yetiştirilen kenevir bitkisinin dişi ve erkek bitkileri sunulmaktadır.



Şekil 1.3. Tez kapsamında yetiştirilen kenevir bitkisinin dış görünüşü **a)** erkek kenevir bitkisi **b)** dişi kenevir bitkisi

Gün uzunluğunun artmasıyla beraber vejetatif büyüme hızı artan kenevir, kısa günlerin başlamasıyla çiçeklenme evresine geçiş yapar (Robert C Clarke ve Watson, 2007). Bitkinin yaşam süresi her ne kadar 4-6 ay olsa da (Robert C Clarke, 1999) sıcaklık, hormonal kontrol, fotoperiyot ve stres gibi faktörlerin değişkenliği bitkinin yaşam süresini arttırabilir ya da kısaltabilmektedir (Cosentino ve ark., 2012; Faux ve ark., 2013; Razumova ve ark., 2016).

Kannabinoidlerin sentezinin ve depolandığı yer salgı tüyleri bir diğer adıyla glandüler trikomlardır (Mahlberg ve Kim, 2004). Genellikle dişi bitkilerde kannabinoid miktarının erkeklerden fazla olma sebeplerinden en önemlisi bünyesinde bulundurdıkları glandüler trikomların daha fazla olmasıdır (Faagri ve ark., 1989).

1.3.1. Kenevirin Morfolojisi

Kuzey ılıman enlemlerde doğal olarak yetişen kenevir buradaki iklim şartlarına uyum sağlamış olması sıcaklığa, neme ve yeterli güneş ışığını karşılayabilmesi ile ilişkilendirilmiştir (Robert C Clarke ve Merlin, 2016). Kenevir yetişmiş olduğu ortama, genetik yapısına göre morfolojik özellikleri, kannabinoid miktarı ve diğer kimyasal içeriği farklılık göstermektedir. Bitkinin en üst yapraklarındaki kannabinoid sentez miktarı alt yapraklara göre daha yüksektir (Pacifico ve ark., 2008).

Kenevirin yaprak şekli, yaprak sapı üzerinde tek bir noktadan çıkan elsi yapısıyla tanınabilirliğini sağlamaktadır. Yaprak sayısı ve büyüklüğü bitkinin yetiştiği koşula ve çeşide bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bitkideki yaprak düzenlemesi, gövde üzerinde gelişen üstteki yapraklar almaçlı, alttakiler ise genellikle karşılıklı şeklindedir. 3-9 parçalı (loblu) yapraklarda elsi damarlanma görülürken en genç yapraklar bazen lobsuz olabilmektedir (Jiang ve ark., 2006). Kenarları dişli ve mızrak şeklinde olan loblar; 3-20 cm uzunluğunda ve 1,8 cm genişliğindedir. Yaprak sapı ise orta oluk ile silindirik bir yapıya sahip olup 7 cm uzunluğundadır (Raman ve ark., 2017). Fidelerde ise ilk yaprak çifti 1 yaprakçıklı, ikinci ve üçüncü çiftler sırasıyla üç ve beş yaprakçıklıdır (D. Potter, 2009). Şekilde 1.4.'de proje kapsamında serada yetiştirilen dişi bir kenevir bitkisi gösterilmektedir.



Şekil 1.4. Proje kapsamında serada yetiştirilen bir kenevir bitkisi

Bitki boyu, gövde çağı bitkinin yetiştiği ortam, yetiştirilme tarzı ve genetiğine göre farklılık gösterir (Srivastava ve Yadav, 2013). Tohumların sık ekilmesi uzun ince bir gövdeye, yan dalların ince ve az, seyrek ekimde ise kalın bir gövdeyle birlikte daha fazla yan dalla geliştiği gözlemlenmiştir (Fike, 2016). Dişi kenevir bitkisinin gövde kalınlığı erkek bitkilere göre daha fazladır. Bunun sebebinin ise dişi bitkilerin yaşam süreleri erkeklere göre daha fazla olması, bitkide daha güçlü floem lif hücreleriyle birlikte daha fazla sekonder lif demetlerinin oluşumuna sebebiyet vermiştir. Oransal olarak bakıldığında ise erkek kenevir bitkilerinde primer floem liflerinin fazlalığı, erkek bitkilerden yüksek kalite lif sağlamaktadır (Ernest Small, 2016).

Soluk yeşil renkli olan erkek çiçekler gevşek salkımlı halde bulunur. Her çiçek beş tepal, beş erkek organ ve ince bir çiçek sapından oluşur. Tepaller oval-dikdörtgen yapılı, 2-4 cm uzunluğunda, sarımsı veya beyazımsı-yeşil rengindedirler. Erkek organlar zayıf filament ve dikdörtgen, yeşilimsi anterlerden oluşan sarkık bir yapıya sahiptirler (Tettey, 2009).

Koyu yeşil renkte olan dişi çiçekler sapsızdırlar. Çiçekler dallarında üst taraflarında yoğun bir şekilde bulunurlar. Her dişi çiçek iki uzun tüylü stigma ile biten bir stilusa sahip ovül çevreleyen bir periant ve brakteden oluşur (Ernest Small, 2016).

Erkek bitkilerdeki çiçeklerin etrafında bulunan yapraklar, polen dökülmesinden sonra canlılığı yitirirken, dişi bitkilerdeki çiçekler ise tohum olgunluğu boyunca canlılığı devam etmektedir (Faux ve ark., 2013; Razumova ve ark., 2016).

Genellikle benekli bir yapıya sahip olan kenevir tohumun yapısı onu memeli ve diğer otçullara karşı kamufle etmesini sağlayarak doğada çoğalmasına yardımcı olmaktadır (Ernest Small, 2016). Yabani kenevir tohumları, kültür çeşitlerine göre daha küçük olması, soğuk şartlar altında belli bir süre kaldıktan sonra daha iyi çimlendiğinden soğuklama dönemine ihtiyaç duymaktadır (Ernest Small ve Brookes, 2012; Zhang ve ark., 2018). Kültüre edilmiş tohumlar, yabancı çeşitlerin aksine soğuklamaya ihtiyacı yoktur, sulama yeterli görülmüştür (E Small ve ark., 2003). Tohumlar yaklaşık olarak 3-8 hafta olgunlaşır ve uygun koşullar altında 3-7 içinde çimlenirler. Genellikle 4-6 aylık yaşam döngüsüne sahip olan kenevir bitkisi, yaklaşık olarak 500 grama kadar tohum üretebilir (Robert C Clarke ve Watson, 2007).

Kenevir bitkisinin en karakteristik özelliklerinden biri de yüzeyinde bulunan tüyleri, bir diğer adıyla trikomlardır. Trikollar, glandüler trikollar (salgı yapan) ve non-glandüler trikollar (salgı yapmayan) olmak üzere iki ana tipte ayrılır.

1.3.1.1. Tüyler (Trikollar)

Bitkilerin bulunduğu çevre şartlarına olan uyumunu artırması, dış etkenlere (patojen, hayvan vb.) karşı fiziksel bir bariyer olması, aşırı sıcaklık ve ultraviyole radyasyona karşı korumada işlevselliğe sahip olan tüyler, bitkinin epidermal hücrelerinden köken alan çeşitli yapı ve şekillerde görülebilmektedir (Werker, 2000). Salgı tüyleri bitkinin türüne has olan bazı metabolitlerin salgılanmasına ve depolanmasına olanak sağlayan hücrelerin varlığı ile karakterize edilmiştir. Kenevir bitkisini de değerli kılan kannabinoidler, salgı tüylerinin boşluğunda birikmektedirler (Kim ve Mahlberg, 1997).

Kenevir bitkisindeki tüy tipleri, salgı yapan ve salgı yapmayan (örtü tüyler) olmak üzere temel olarak 2 adettir. Kannabinoidlerin sentezi ve depolanması konusunda birincil yapılar salgı tüyleridir (Namlı ve ark., 2020). Proje kapsamında serada yetiştirdiğimiz çiçeklenme dönemindeki dişi kenevir bitkisinin yaprak ve braktelerdeki tüyleri şekil 1.5.'de sunulmaktadır.



Şekil 1.5. Kenevir bitkisinde yaprak ve braktelerdeki tüyler

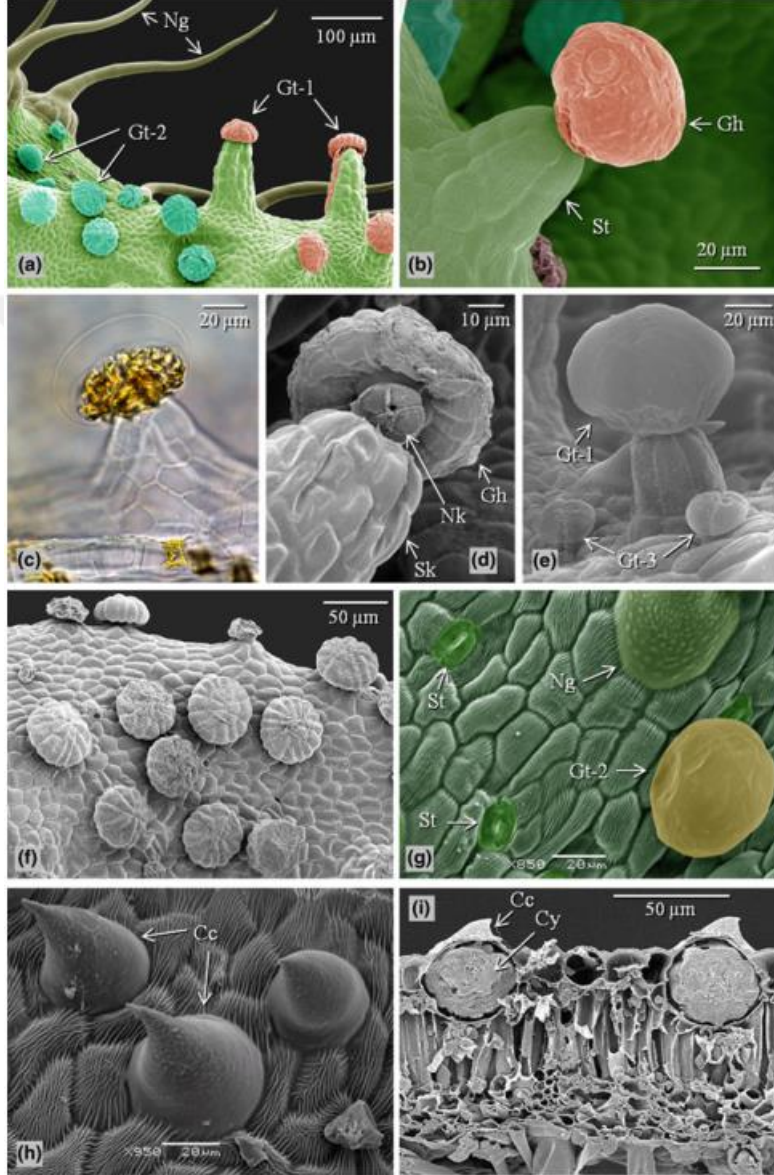
1.3.1.1.1. Salgı Tüyleri (Glandüler Trikomlar)

Kenevir bitkisinde salgı tüyleri kannabinoidlerin sentezlenmesi ve depolanması için birincil yapılardır. Kenevir bitkisinde üç çeşit salgı tüyleri vardır. Bunlar; baş ve sap ihtiva eden salgı tüyü, kapitat sapsız salgı tüyü ve soğanlı salgı tüyüdür (Hammond ve Mahlberg, 1973, 1977).

- **Baş ve sap ihtiva eden salgı tüyü (Capitate-stalked glandular trichome):** Genellikle 50-70 μm çapında büyük bir küresel kafaya ve 100-200 μm 'lik çok hücreli bir sapa sahiptir. THC miktarı yüksek olan hatlar daha büyük glandüler kafalara sahiptir (Ernest Small ve Naraine, 2016). Bu salgı tüyleri pistilli bitkilerin braktelerinde bol miktarda bulunur ve yaşlı braktelerin en dikkat çeken özelliği konumundadır (Hammond ve Mahlberg, 1977).
- **Kapitat sapsız salgı tüyü (Capitate-sessile glandular trichome):** Çiçek yaprağı gelişiminin erken aşamalarında en göze çarpan tiptir. Daha çok alt yaprak yüzeylerinde, yaprak saplarında ve genç gövdelerde bulunur (Raman ve ark., 2017). 30-50 μm büyüklüğünde bir küresel kafadan oluşurken, sapsız görünmelerine rağmen tek hücre yüksekliğinde 2-4 hücre kalınlığında çok kısa bir sapa sahiptir (Hammond ve Mahlberg, 1973; Dayanandan ve Kaufman, 1976).
- **Soğanlı salgı tüyü (Bolbous glandular trichome):** Kenevir bitkisinde bulunan en küçük glandüler trikom türüdür. 1-2 hücreli bir sapa ve 1-4

hücreli bir kafaya sahiptirler. Boyutları genellikle 10-20 μm çapında ve 15-30 μm yüksekliğindedir (Hammond ve Mahlberg, 1973; Dayanandan ve Kaufman, 1976).

Şekil 1.6.'da kenevir bitkisinin gövde ve yapraklarında bulunan tüylerin SEM görünümü sunulmaktadır.



Şekil 1.6. Kenevirde salgı ve örtü tüylerinin SEM görünümü; **a)** bir brakte parçasında salgı ve örtü tüyleri; **b-d)** baş ve sap ihtiva eden salgı tüyü; **c)** salgı tüyü ve kutiküler membran; **d)** 4 hücreden oluşan salgı tüyünün başın hafifçe kırılmış boynu; **e)** baş ve sap ihtiva eden salgı tüyü ve iki tane soğanlı salgı tüyü; **f)** kapitat sapsız salgı tüyleri; **h)** sistolit örtü tüyleri; **i)** sistolit kristallerini gösteren kesit görünüşte sistolit örtü tüyleri. *Gh* glandüler kafa, *Gt-1* baş ve sap ihtiva eden salgı tüyü, *Gt-2* kapitat sapsız salgı tüyü, *Gt-3* soğanlı salgı tüyü, *Ng* örtü tüyü, *Nk* boyun, *Sk* sap, *St* stoma (Raman ve ark., 2017).

Baş ve sap ihtiva eden salgı tüyü ve kapitat sapsız salgı tüyünün küresel kafası epidermis hücrelerinden geliştirilen sekiz hücreden oluşur. Bu hücreler 30 µm çapında ve yaklaşık 15 µm yüksekliğinde bit hücresel disk oluşturmaktadır. (Raman ve ark., 2017).

1.3.1.1.2. Örtü tüyleri (Non-glandular Trikomlar)

Örtü tüyleri gövdelerde, yapraklarda, yaprak saplarında, kulakçıklarda, braktelerde ve tepallerde bulunurlar. Örtü tüyleri iki çeşittir:

1. Yaklaşık olarak 50-125 µm uzunluğunda ve 60-140 µm çapında büyük bir tabana sahip olan kısa ve daha büyük sistolit içeren konik tüylerdir. Bu tüyler yaprağın üst yüzeyinde bulunur. Bu tüylerin tabanı etrafında yaklaşık 15-20 epidermis hücre daire oluşturur. Geniş tabanları ve kısa sivri uçları ile bu tüyler pençe gibi görünür (Raman ve ark., 2017).
2. Gövdelerde, yaprağın alt yüzeyinde, tepaller ve yaprak saplarında bulunan yaklaşık 250-370 µm uzunluğunda, daha uzun ve ince tüylerdir (Raman ve ark., 2017).

Çoğunlukla yaprağın üst yüzeyinde bulunan örtü tüyü tipi, kalsiyum karbonat içermektedir. Yaprakların çiğnenmesini rahatsız edici hale getirmesi sayesinde otoburlar tarafında yenilmesini önler (Ernest Small, 2016).

1.3.2. Kenevirin Anatomisi

Kenevirin genel morfolojisi, fide anatomisi, odun yapısı, gövde şekli hakkındaki ilk bilimsel veriler Tippo (1938), Hayward (1939) ve Nassonov (1940)'un yapmış olduğu çalışmalarla literatüre kazandırılmıştır.

Shimomura ve ark. (1967), *C. sativa* ve *C. indica* arasındaki ayrımı trikom üzerine dikkat çekerek yaprak ve çiçek yaprağı anatomisinde ayrım yapmıştır. Anderson (1974) ise kenevirin odun yapısı inceleyerek, *C. sativa* ile *C. indica* arasında anatomik farklılıklar bulmuştur.

Kenevir gövdesin epidermis hücrelerinden köken alan çok sayıda tüy bulunur. Lif demetleri, kenevir gövdesinin sahip olduğu girintili çıkıntılı yapıya destek sağlayan yapıdır. Gövde yapısında, primer floem, sekonder floem ve ksilem olmak üzere ekonomik değere sahip üç çeşit lif hücresi vardır. Hücre duvarlarında lignin miktarının artması, canlı olan lif hücrelerinin bitkinin olgunlaşmasına bağlı olarak canlılık özelliğini kaybetmesiyle ilişkilendirilmiştir (Namlı ve ark., 2020). Primer lif demetlerin sekonder lif demetlerinden daha yüksek kalitede olduğu; primer lif demetlerinin çok genç gövdelerde görülürken (Van Dam ve Gorshkova, 2003; Hernandez ve ark., 2007), sekonder lif demetlerinin genç kenevir bitkisinin gövdesinde görülmediği veya sadece tabanında ince bir tabaka halinde bulunduğu saptanmıştır (Amaducci ve ark., 2005; Hernandez ve ark., 2007; Amaducci ve ark., 2008).

Kenevir yaprağı damarlanmanın belirgin olduğu ve ince bir yaprak ayasına sahiptir. Stomalar alt epidermiste çoktur ve üst epidermiste bulunmaz. Yaprığın üst yüzeyinde örtü tüyü olan sistolit tüyleri yer alırken, alt yüzeyinde ise salgı ve örtü tüylerinin yoğunluğu fazladır. Bu tüylerin bulunmuş olduğu epidermis tek sıralı hücrelerden oluşur. Yaprak sapı, yaprak üst tarafında bir oluğa sahiptir. Tek katmanlı epidermis yapısı, salgı ve örtü tüyleri vardır (Hayward, 1939; Raman ve ark., 2017).

Kazık kök yapısına sahip olan kenevirde, primer kök yapısı; tek katmanlı bir epidermis ve bir hipodermis tabakası görülmektedir. Geniş bir alanı kaplayan korteksten sonra tek katmanlı endodermis ve çok katmanlı hücreden oluşan periskl bulunur (Hayward, 1939).

1.4. Kenevirin Genetiği ve Islahı

İnsanların, kenevirin bitkisinden yararlanmaya başlaması milattan önceki yıllara dayanır. Avrasya topraklarından çıkıp tüm Dünya'ya yayılan bu bitki, insanların farklı alanlarına hizmet etmiştir. Gövde kısımlarından elde edilen lifler ile kıyafet, kilim veya otomotiv gibi sektörlerle hizmet ederken, tohumunda bulunan aminoasitler ile gıda tüketiminde de var olmuştur. Fakat insanlar kenevirin hastalıklar karşısında bir çözüm olabileceğini gördüğü zaman farklı rahatsızlıklar için kullanmaya başlamışlardır. Kenevirin popülaritesini arttıran ve insanların ona kötü bir gözle bakmasını sağlayan olgu ise uyuşturucu amacıyla da kullanılabilir olmasıdır. İnsanoğlu bunu fark ettiği zaman kenevirin psikoaktif özelliğini artırmaya yönelik çalışmalar hız kazanmış ve bu kapsamda en yüksek aktif bileşene sahip bitkiyi elde etme hedefine başvurmuştur.

Bilimin ilerlemesi ile kenevirin içindeki etken maddelerin ve özellikleri bilinmesi, ıslah çalışmaları da yön vermiştir. THC'un psikoaktif özelliğinin olması, CBD gibi kenevirin diğer kannabinoidlerin ise psikoaktif özelliğinin olmaması ve bunun aksine kanser, epilepsi ve parkinson gibi birçok hastalık için tedavi sürecinde etkili olabileceğini gösteren çalışmalar sonucunda ilaç firmalarının dikkatini üzerine çekmiştir.

Yüksek CBD içeriği olan hatların üretilmesi için kenevirin genetik yapısı, kannabinoidlerin üretiminde etkili olan genlerin bilinmesi ıslah çalışmalarında önemli role sahiptir.

Diploid bir tür olan kenevir ($2n=20$), genellikle dioik bir bitkidir (Hirata, 1924). Erkekler için heterogametik, dişiler için homojenik olan kenevirin genomu 9 otozom ve bir çift cinsiyet kromozomundan oluşur (A. Koç ve ark., 2020). Y kromozomunun X kromozomundan uzun olmasından kaynaklı dişi (1636 Mbp) ve erkek (1683 Mb) bitkilerinin genom büyüklüğü karşılaştırıldığında 47 Mbp bir fark çıkmaktadır (Sakamoto ve ark., 1998).

Heteromorfik cinsiyet kromozomlarına sahip rağmen, muhtemelen Y kromozomu erkek üretkenliği için gerekli olan genleri bulundurmamaktadır (Vyskot ve Hobza, 2015).

Dioik kenevirlerde cinsiyeti belirlenmesinde, X kromozomu ile otozom dengesi rol aldığı düşünülmektedir (Westergaard, 1958; Ainsworth, 2000).

Kenevir bitkisinde kannabinoidler asit (kannabidiolik asit (CBDA)) olarak salgı tüylerinde sentezlenir ve depolanırlar. Dekarbosilasyon işlemine maruz kalan kannabinoidlerin asit formları (CBDA), nötr formlarına (CBD) dönüşürler (De Meijer ve ark., 2003). Kenevirin sistematığı başlığının altında anlatıldığı gibi kenevirin içinde bulundurduğu kannabinoidlerin birbiriyle olan oranı ile ilaç tipi, lif tipi veya ara tip olarak belirlenen kannabinoid profilleri (kematip) oluşturulmaktadır.

1.4.1. Kannabinoidler

Salgı tüylerinde sentezlenen kannabinoidler, salgı tüylerinin baş kısmını oluşturan disk hücreleri ile kütikül arasında salgı boşluğunda depolanırlar (Kim ve Mahlberg, 1997; Happyana ve ark., 2013). Ayrıca disk hücreleri THCA sentez gibi enzimleri salgı boşluğuna salgılar (Sirikantamas ve ark., 2005). Kannabinoid içeriği miktar ve kalite bakımından farklılık göstermektedir. Miktar ve kalitenin farklı kalıtım şekilleri vardır. Kannabinoid miktarı (kuru ağırlık yüzdesi) poligeniktir ve çevresel faktörlerden etkilenir. Kannabinoid kalitesi (kannabinoid profili) büyük ölçüde genetikdir (Grassi ve McPartland, 2017).

1.4.1.1. Kannabinoid Miktarı

Kannabinoid miktarı, hasat edilen kenevir materyalindeki kannabinoidlerin kuru ağırlık yüzdesi olarak hesaplanır. Birçok genden ve çevresel faktörlerden etkilenebilir. Genler, kenevirin kannabinoid profilini ve kannabinoid üreten mekanizmayı (örneğin, salgı tüylerinin yoğunluğunu, tüylerin kafalarının boyutlarını) belirler. Bir başka genetik faktör ise cinsiyettir; dişi çiçekler, erkek çiçeklerden daha fazla kannabinoid üretirler. Fotoperiyot, ışık miktarı ve kalitesi, sıcaklık ve besin maddeleri ise çevresel faktörler olarak sınıflandırılmaktadır (Grassi ve McPartland, 2017).

1.4.1.2. Kannabinoid Kalitesi

Kannabinoid profili veya kemotip olarakta adlandırılan kannabinoid kalitesi, THC/CBD (kuru ağırlıktaki THC yüzdesi / kuru ağırlıktaki CBD yüzdesi) olarak hesaplanır. Kannabinoid miktarı gibi çevresel faktörlerden etkilenmeyen bu oran, farklı koşullar altında yetiştirilen bitkilerin karşılaştırılmasına olanak sağlar (Grassi ve McPartland, 2017).

Fetterman ve ark. (1971), 9 kenevir çeşidi üzerine yapılan çalışmada (THC+CBN) /CBD oranını kullanarak bitkileri iki gruba ayırmıştır. Oran >1 ise ilaç tipi, oran <1 ise lif tipi olarak gruplamıştır. Çeşitlerin kimyasal fenotipi, bitki yaşı, cinsiyeti, bitki kısmı (çiçekler, yapraklar), yıl veya büyüme yeri ne olursa olsun kannabinoid miktarlarının aksine, oran bitkilerde sabit kalmıştır.

Hemphill ve ark. (1980)'nın yapmış olduğu toplam 12 adet ilaç ve lif tipi kenevir bitkisinde; vejetatif yapraklar, çiçek brakteleri ve bitkinin cinsiyetine göre THC ve CBD miktarlarının değişkenlik gösterdiği, buna karşılık kannabinoid profilinin sabit kaldığını bulmuşlardır.

İlaç, orta ve lif tipi olarak ayrılan kenevirin kemotipiyle alakalı diğer çalışmalara kenevirin sistematigi bölümünde de değinilmiştir. De Meijer ve ark. (2003), çalışmasında kannabinoid kalitesinin genetik olarak aktarıldığını bulmuşlardır.

1.4.1.3. Kannabinoid Genetiği

De Meijer ve ark. (2003), kemotipin, iki alelli B lokusu tarafından kontrol edildiğini bulmuştur. Bu alellerden, B_T aleli THCA sentazı kodlar iken B_D aleli ise CBDA sentazı kodlar. B_D alel bakımından homozigot bitkilerde CBD miktarı yüksek iken THC'ü çok az veya yoktur. Eşit miktarda THC ve CBD üreten bitkiler B_T/B_D genotipine sahiptir (De Meijer, 2014). De Meijer'in modeline göre bu aleller kodominanttır.

Yotoriyama ve ark. (1980) ıslah çalışmasında, THCA baskın erkekler ile CBDA baskın dişileri melezlemişlerdir. Elde edilen bulgulara göre; F₂ popülasyonunda THC yüksek bitkiler, THC-CBD eşit bitkiler ve CBD yüksek bitkilerinden oluştuğu sonucuna varılmıştır. Yotoriyama ıslah çalışması sonucunda kodominant alel kalıtımını önermiştir.

Campbell ve ark. (2020)'nın daha önceden yayımlanan iki çalışmanın (De Meijer ve ark., 2003; Staginnus ve ark., 2014) verilerini kullanarak yapmış oldukları istatistiksel çalışma sonucunda; CBDA ekspresyonunun en az bir majör ve birkaç minör gen ile gen ile kontrol edildiğini, kannabinoidlerin sadece poligenik ve basit eklemeli gen kalıtım modelinden daha kompleks bir kalıtım modeline sahip olduğunu, kannabinoid konsantrasyonların da birden fazla genin yanı sıra mitokondri veya kloroplast genomunun da etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir.

Kojoma ve ark. (2006) yapmış olduğu çalışmada ilaç tipi (yüksek THC) ve lif tipi (düşük THC) kenevir çeşitlerinden elde edilen THCA sentaz dizi analizlerinde, yüksek THC çeşitlerinde THCA sentaz dizisinin, düşük THC çeşitlerindeki THCA sentaz dizisine kıyasla 37 major farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Van Bakel ve ark. (2011) çalışmasında, THCA ve CBDA sentaz genleri için birden fazla genin yanı sıra, premature durdurma kodonları ve çerçeve kayması ile psödogenlerin varlığını belirtmişlerdir.

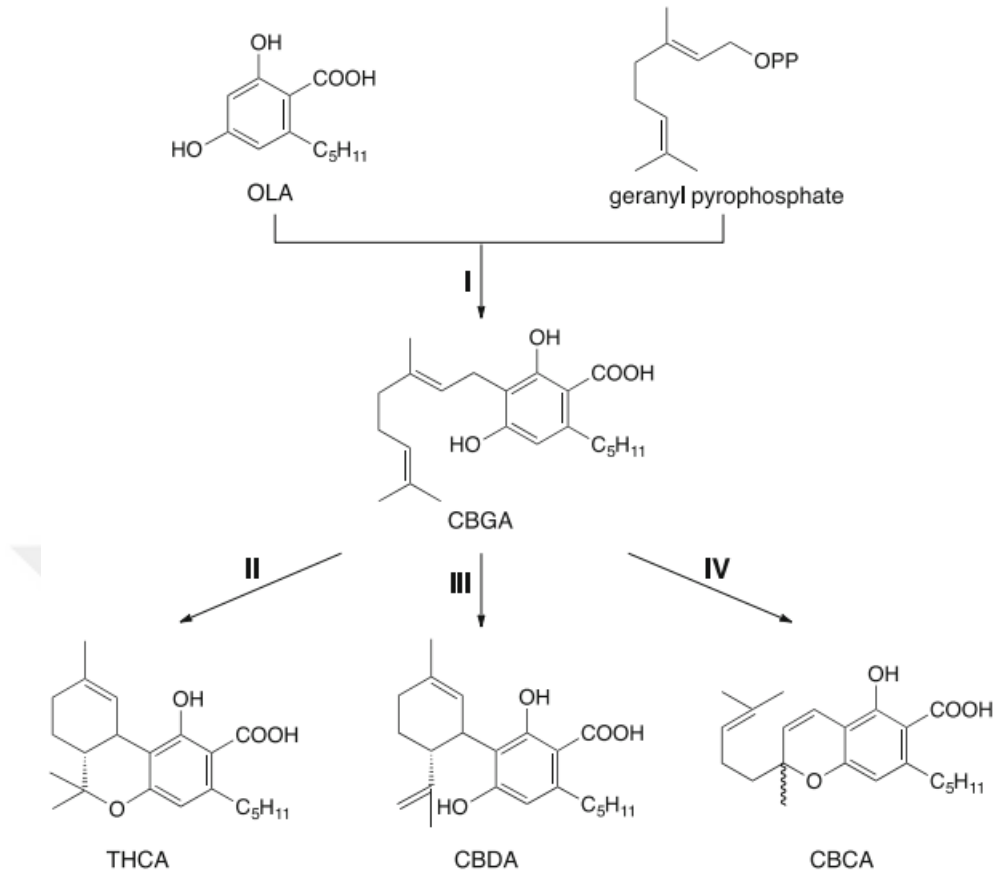
Muntendam ve ark. (2012), sentaz enzimleri ve bunlara karşılık gelen ürünler arasında güçlü bir ilişki bulamamıştır. THCAS (THCA sentaz) gen ekspresyonu ile THC üretimi arasındaki negatif korelasyonu, çiçek gelişimi sırasında ve sonraki aşamalarda THC konsantrasyonu yükselirken THCAS gen ekspresyon seviyesi azalmıştır (Richins ve ark., 2018; Liu ve ark., 2021).

Apicella ve ark. (2022) çalışmasında, THCA sentaz enzimi ile yüksek THC seviyesi arasında anlamlı bir sonuç olmadığını, dişi çiçek gelişiminin orta aşamalarında kannabinoid biyosentez genlerinin ifadelerinin ve çiçekler geliştikçe kannabinoid birikiminin istikrarlı bir şekilde arttığını belirtmişlerdir.

1.4.1.4. Kannabinoid Biyosentezi

Kannabinoidler, alkil rezorsinol (olivetol veya olivetolik asit (OA)) ve monoterpen parçalarını içeren ikincil metabolitlerdir. Kenevir örneklerinden çok sayıda kannabinoid izole edilmiş ve bunların farmakolojik özellikleri detaylı bir şekilde araştırılmıştır (ElSohly ve Slade, 2005; Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008). Psikoaktif özelliği ile bilinen THC'ün, kemoterapinin neden olduğu mide bulantısını giderme (Guzman, 2003), multipl skleroz ile ilişkili kas kasılmalarını baskılama (Baker ve ark., 2003) gibi çeşitli terapötik aktiviteler sergilediği gösterilmiştir. THC, memelilerin beyinde ve bağışıklık sistemindeki hücrelerde eksprese edilen iki kannabinoid (CB1 ve CB2) reseptörüne bağlanır (Matsuda ve ark., 1990; Munro ve ark., 1993). THC'nün izomeri olan CBD, güçlü bir antioksidatif ve anti-enflamatuar ajandır, akut ve kronik nörodejenerasyon vakalarında nörolojik koruma sağlar (Hampson ve ark., 1998; Lastres-Becker ve ark., 2005).

Kannabinoidler, karboksik grubu içerip içermemeleri göre nötr kannabinoidler ve kannabinoid asitleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Sentezlenen kannabinoidler, kannabinoid asitleri olarak biriktirilir ve dekarboksilasyon işlemi ile nötr formları elde edilir (Yamauchi ve ark., 1967; Kimura ve Okamoto, 1970). Şekil 1.7.'de kannabinoid biyosentez yolağı gösterilmektedir.



Şekil 1.7. Kannabinoid biyosentez yolu.

Bu yolaktaki (Şekil 1.7.) biyosentez enzimleri şunlardır: geranil-pirofosfat:olivetolat geraniltransferaz (I), THCA sentaz (II), CBDA sentaz (III), ve kannabikromenik asit (CBCA) sentaz (IV). OLA, olivetolik asit; CBGA, kannabigerolik asit (Sirikantaramas ve Taura, 2017).

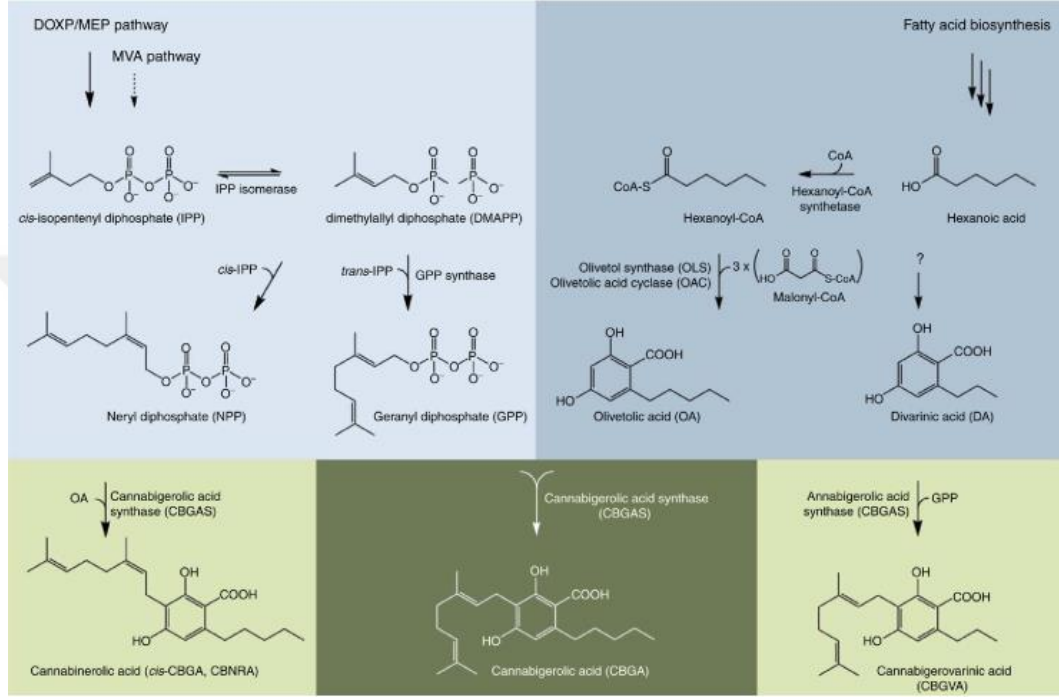
CBGA, bir preniltransferaz yoluyla olivetolik asidin (OLA) geranil pirofosfat (GPP) ile alkillenmesiyle sentezlenir. THCA, CBDA ve CBCA sırasıyla THCA sentaz, CBDA sentaz ve CBCA sentaz enzimleriyle CBGA'dan biyosentezlenir.

1.4.1.4.1. Geranil Difosfatın Biyosentezi

Kannabinoidlerin monoterpen kısmı geranil difosfat (GPP)'den üretilir. İzopentenil difosfat (IPP) ve dimetilallil difosfat (DMAPP), GPP'nin öncüleri olup %98'den daha büyük bir oranda, MEP (mevalonat olmayan yolak) yolağıyla sentezlenir (Aytekin, 2020). Stout ve ark. (2012), MEP yolağının plastidlerde lokalize olduğunu göstermiştir. Geranil difosfat sentaz enzimi tarafından katalizlenmesiyle GPP oluşmaktadır (Burke ve ark., 1999).

1.4.1.4.2. Olivetolik Asit Sentezi

Kannabinoidlerin alkil rezorsinol kısmı, poliketit yolağından sentezlenen olivetolik asit (OA)'dan gelir. Olivetolik asit, hegzanoil-CoA ile üç malonil-CoA'dan sentezlenir. Bu sentezleme sırasında olivetol sentaz ve olivetolik asit sentaz enzimlerini reaksiyona girer (Sirikantaramas ve Taura, 2017; Aytekin, 2020). Şekil 1.8'de kenevir bitkisinde CBGA biyosentez yolağı gösterilmektedir.



Şekil 1.8. Kannabigerolik asit (CBGA) biyosentezi.

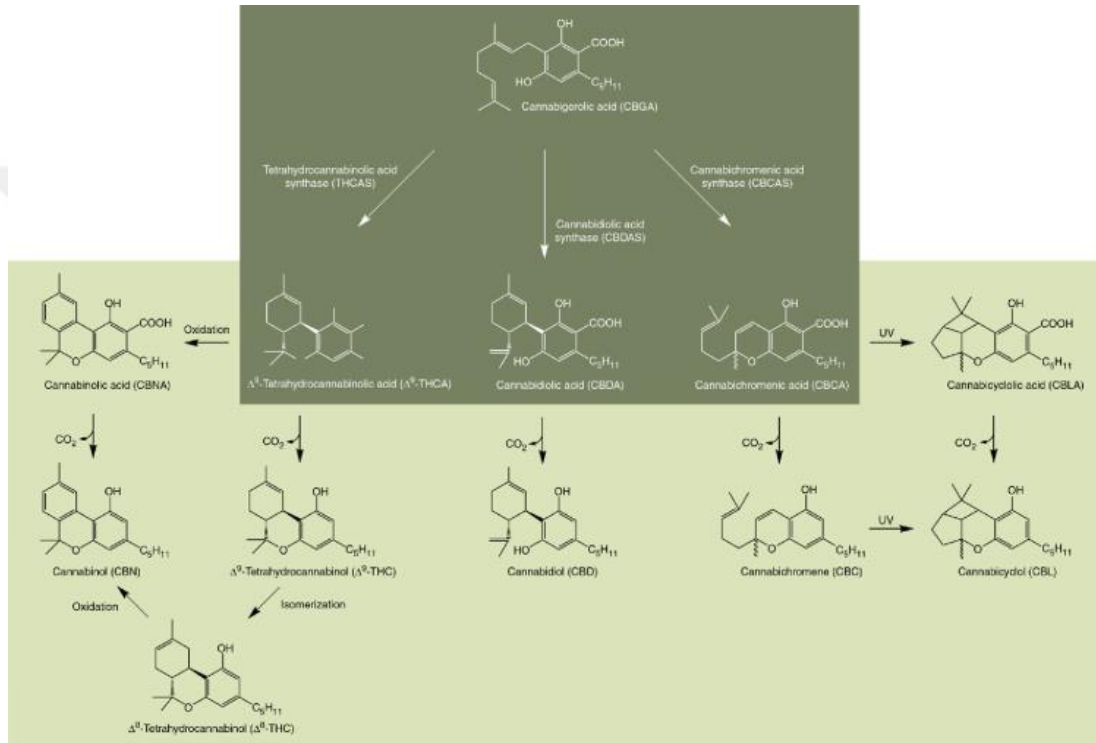
Şekil 1.8. gösterilen öncü sentez yolları açık mavi (GPP) ve mavi (OA) zeminleri üzerindeki gösterilirken, ana ara ürün olan CBGA koyu yeşil zemin üzerinde, minör ürünler ise açık yeşil üzerinde gösterilmektedir (Degenhardt ve ark., 2017).

1.4.1.4.3. Tetrahidrokannabinolik Asit (THCA) Sentezi

THCA ilaç tipi kenevirin ana bileşenidir. THCA'nın, THCA sentaz enzimi ile CBGA'den biyosentezlenir. THCA sentaz, pH 5.5-6.0 arasında en yüksek aktiviteye sahip monomerik bir enzimdir. (Taura ve ark., 1995).

THCA sentaz dizisinin, Acem lalesi (*Eschscholzia californica*)'nin berberine bridge enzimi (BBE) ile benzerlikleri görülmüştür (Taura ve ark., 1995). THCA sentazın en tipi özelliği, His114 ve Cys176'dan FAD koenzimine kovalent bağlıdır (Sirikantaramas ve ark., 2004; Shoyama ve ark., 2012). İlaç tipi ve lif tipi kenevir bitkilerindeki THCA sentaz dizileri karşılaştırıldığında, 37 aminoasidin değişik olduğu görülmüştür. Bu farklılığın, lif tipi bitkilerdeki THCA sentaz aktivitesinin az olmasının nedeni gibi görünmektedir (Kojoma ve ark., 2006).

THC, kenevir bitkisinin salgı tüylerinin salgı boşluğunda depolanmaktadır (Kim ve Mahlberg, 1997). Salgı tüylerinin salgı hücrelerinin sadece metabolitleri değil, aynı zamanda THCA sentaz, CBDA sentaz gibi enzimleri de salgılamaktadır. THCA sentaz salgı boşluğuna salınan ilk enzimdir (Sirikantaramas ve ark., 2005). THCA sentaz enzimi, CBGA'nin oksidasyonu sırasında THCA'nin yanı sıra hidrojen peroksit üretir (Sirikantaramas ve ark., 2004). Yüksek konsantrasyonda THC üretimi sonucunda toksik miktarda hidrojen peroksit birikimi, hücre hasarını yapabileceği için salgı boşluğu gibi hücre dışı bir kısımda sentezlediğine inanılmaktadır (Sirikantaramas ve Taura, 2017). Şekil 1.9.'da kannabinoidlerin biyosentezi gösterilmektedir.



Şekil 1.9. Kannabinoidlerin biyosentezi (Degenhardt ve ark., 2017).

1.4.1.4.4. Kannabinolik Asit (CBDA) Sentezi

CBDA lif tipi kenevirin baskın bileşenidir. CBDA'nin öncüsü olan CBGA'nin CBDA sentaz enzimiyle oksidasyonu sonucu oluşur (Taura ve ark., 1996). CBDA sentaz için optimum pH 5.0'dır (Aytekin, 2020). CBDA sentaz reaksiyon mekanizmasının, THCA sentaz ile benzer olduğu düşünülmektedir (Taura ve ark., 2007).

1.4.2. Kenevir Islahı

Tek yıllık bir C3 bitkisi olan kenevir, üreticinin ve tüketicinin istekleri doğrultusunda yıllar boyunca hedeflere ulaşmak için ıslah programlarına tabii tutulmuştur. Genellikle dioik olan kenevir, yabancı tozlamayla devamlı heterozigotik

yapı oluşturarak sürekli değişim gösterir. Bundan dolayı, ıslah çalışmalarında kenevirin tozlaşmasının kontrol altına alınması önemli unsurlardan biridir (A. Koç ve ark., 2020).

Yabancı tozlanan bir tür olan kenevir, aşağıda belirtilen 3 aşamadan oluşan bir ıslah yaklaşımını gerektirmektedir (Posselt, 2010):

- Amaca uygun bir popülasyon oluşturmak ve bitkideki doğal varyasyonu araştırmak,
- Seleksiyon yoluyla farklı ebeveyn hatlar oluşturmak,
- Kültür çeşitlerini geliştirmek ve test etmek.

Mevcut kenevir çeşitleri; Standart “açık tozlaşmış” çeşitler ve ıslah yoluyla elde edilmesi sonucu oluşturularak geliştirilmiştir. Kenevir ıslahında kullanılan bazı yöntemler aşağıda sunulmaktadır (A. Koç ve ark., 2020):

- Toptan/Toplu/Kitlesel Seleksiyon
- Teksel Seleksiyon
- Marker Destekli Seleksiyon
- Yarı Kardeş Aile Seleksiyon
- Hibrit Islahı
- Geriye Melezleme Islahı
- Resiprokal Melezleme
- Poliploidi Islahı

Endüstriyel kenevir yetiştiren İtalyan çiftçiler, arzu edilen fenotiplere sahip birçok bitkiyi toptan/toplu/kitlesel seleksiyon yöntemini kullanarak seçilimi gerçekleştirmiştir. Bu seleksiyon süreci; Ferrara, Bologna, Modena, Rovigo ve Carmagnola gibi geldikleri ilin adını taşıyan yerel çeşitlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur (Grassi ve McPartland, 2017).

Dewey (1927), Ferrara’yı Çin yerel çeşitlerinden biri olan Kymington ile melezlenmesi sonucu Ferramington çeşidini geliştirmiştir. Hirata (1927), monoik kenevir üzerine ilk çalışmaları yapmıştır. Neuer and Sengbusch (1943), monoik özelliğini sabitleyip, lif içeriğini de arttırmıştır. Bunun sonucunda Fibrimon çeşidi geliştirilmiştir.

1.4.3. Kannabinoidlerin Ekstraksiyon Yöntemleri

Kenevir bitkisini ilaç sanayisi için bir hayli dikkat çekici haline getiren kannabinoidler, bitkinin çiçek, yaprak ve gövde kısımlarında değişik konsantrasyonlarda bulunur ve elde edilmesi için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Pellati ve ark., 2018).

Ekstraksiyon işlemi, bitkinin sahip olduğu aktif maddelerin elde edilmesindeki ilk aşamadır ve bu işlem elde edilmesi istenen maddenin konsantrasyonu üzerinde doğrudan

ve kritik bir etkiye sahiptir. Teknolojik gelişmeler sayesinde hızlı, ekonomik, güvenilir ve uygulanabilir ekstraksiyon yöntemleriyle birlikte kromatografi ve spektrometrik analiz yöntemleri gelişmiş ve bitkilerdeki aktif maddelerin elde edilmesi daha kolay hale gelmiştir. Bitkinin genetik yapısı ve çevresel etkiler direkt olarak elde edilecek biyoaktif maddeyi etkilemektedir (Azmir ve ark., 2013).

Bitkideki var olan bütün kannabinoid miktarını ekstraksiyon yönteminde elde etmek için kullanılacak olan çözücü, çözücü miktarı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresi gibi koşullar önemli bir yere sahiptir. Kannabinoidlerin polar yapısı nedeniyle etanol (EtOH) ve metanol (MeOH) gibi alkoller ve daha az polar çözücüler olan hekzan, aseton gibi uygun olan çözücüler tercih edilmektedir (Brighenti ve ark., 2017; Baranauskaite ve ark., 2020).

Kenevir bitkisinde bulunan kannabinoidleri ekstrakte edebilmek için kullanılan teknikler bazıları şunlardır:

- Dinamik maserasyon
- Ultrason destekli ekstraksiyon tekniği
- Süperkritik akışkan karbondioksit ekstraksiyon tekniği
- Zeytinyağı ekstraksiyon tekniği

1.4.3.1. Dinamik Maserasyon

Geleneksel bir ekstraksiyon yöntemi olan dinamik maserasyon, uygun polaritede bir çözücü kullanılarak karıştırma veya çalkalama şeklinde uygulanmaktadır. Çalkama işlemi yüzey alanındaki difüzyonu arttırarak ekstraksiyonu kolaylaştırmaktadır. Bu teknik özel bir ekipman gerektirmemesinden sebep ekonomi olmasıyla genellikle uçucu yağlar ve biyoaktif bileşikler elde edilmesinde yaygın olarak kullanılır. Kullanılan çözücülerin pahalı olması, uzun süreli ve yüksek miktarlarda kullanılması toksik ve çevresel etkileri yöntemin dezavantajıdır (Azmir ve ark., 2013). Dinamik maserasyon yönteminin uygulanmasında genellikle farklı polaritelere sahip aseton, hekzan, metanol, etanol, asetonitri, dikloromenta, etil asetat ve su gibi çözücüler laboratuvar ortamında, vorteks, karıştırıcı ve rotator gibi ekipmanlarla endüstriyel alanda ise sanayi tipi karıştırıcılar kullanılarak yapılmaktadır (Brighenti ve ark., 2017; Baranauskaite ve ark., 2020).

1.4.4. Kannabinoidlerin Tanımlama Yöntemleri

Kenevir bitkisinde bulunan kannabinoidlerin miktarını belirlemek için kullanılan başlıca yöntemler; yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC) ve bu sistemlere eklenebilen kütle spektrometresi (MS) tekniğidir.

GC, kannabinoidlerin miktarlarını belirleme de hızlı ve yüksek doğruluk sağlamasının yanında, enjeksiyon portunun yüksek sıcaklığından dolayı kannabinoidler

dekarboksile olabilmekte ve cihazın asidik ile nötr kannabinoidler arasındaki farkı tanımlayamaması dezavantajıdır. Fakat HPLC yönteminde asidik ve nötr kannabinoidleri cihaz tanımlayabilmektedir (Citti ve ark., 2016; Zivovinic ve ark., 2018; Deidda ve ark., 2019). Tespit sınırı (LOD), analitik bir metodla doğru bir şekilde ölçülebilen en düşük analit konsantrasyonudur. Ölçüt sınırı (LOQ), analitik bir metotta raporlanabilir düzeyde tespit edilen en düşük değerdir.



2. KAYNAK TARAMASI

Son zamanlarda özellikle medikal anlamda ilgileri üzerine toplayan *Cannabaceae* familyasından *Cannabis sativa*, ülkemizde bölgelere göre kendir, çetene, kendirik veya kınnap olarak bilinen bitkinin latince adıdır. Kenevir tıbbi ve endüstriyel alanlarda çoklu kullanımları nedeniyle günümüzde büyük ilgi gören bir tarımsal bitki türüdür (Kovalchuk ve ark., 2020). Kenevir bitkisi; liflik, tohumluk (doymamış yağ asitleri bakımından zengin) ve dişi çiçek salkımlarındaki kannabinoidler, terpenler ve fenolik bileşikler gibi (psikotropik veya psikofarmasötik etkileri olan bileşikler) sekonder metabolitler nedeni ile ilaç sanayisi için de uzun yıllardır kullanılmaktadır.

Kannabinoidler grubunda psikoaktif ve non-psikoaktif olmak üzere 90'dan fazla aktif madde tanımlamakla birlikte, en bilinen aktif maddeler Δ^9 -THC, CBD, kanabinol (CBN), CBC, CBG, kanabidivarin (CBDV) ve tetrahidrokanabivarin (THCV)'dir. THC psikoaktif niteliği olan tek kannabinoid'dir (Pisanti ve ark., 2017). CBD psikoaktif olmayan en yaygın kannabinoidlerden biridir. Kenevir bitkisinin çiçek ve tohum yatağı kısmında bulunan aktif maddelerin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda çiçek kısmında CBD miktarının tohum yatağına kıyasla oldukça yüksek düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir (Hädener ve ark., 2019).

Kanser hastalarında, kannabinoidler öncelikle ağrıyı ve mide bulantısını hafifletmek ve iştahı uyarmak için palyatif bakımın bir parçası olarak kullanılmaktadır. CBD psikoaktif niteliği bulunmayan, son zamanlarda özellikle epilepsi hastalığının tedavisinde sentetik kimyasallara karşı alternatif etken madde olarak gündemde olan ve kanser hücre hatları üzerinde yapılan çalışmalarda antitümör etkisi gösterilmiş önemli bir bitki sekonder metabolittir (De Petrocellis ve ark., 2013; Solinas ve ark., 2013; Gonçalves ve ark., 2019).

Bir bitkiden aktif maddelerinin elde edilmesinde ekstraksiyon metodolojisi ve analiz yöntemleri önemli rol oynamaktadır. Elde edilecek aktif maddenin konsantrasyonunda bitkinin genetik yapısı ile çevresel faktörlerinin etkilerinin yanı sıra ekstraksiyon ve analiz yöntemi de etkilidir (Azmir ve ark., 2013).

Kenevir bitkisindeki kannabinoidler çiçek, yaprak, gövde, kök ve tohum gibi bitkinin farklı kısımlarında farklı konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Kannabinoidlerin bu kısımlardan elde edilmesi için farklı ekstraksiyonlar yöntemleri kullanılmaktadır (Pellati ve ark., 2018).

Kenevir bitkisinin içindeki kannabinoidlerin bilimsel çıktıların ışığı altında tedavi amacıyla kullanılabileceği gösterilmiştir (Cascio ve ark., 2017). Kannabinoid içeriği zengin kenevir çeşitleri oluşturulması için çiçek morfolojisinin bilinmesi ve daha da önemlisi bitkinin çiçek başlangıcından önce cinsiyetinin belirlenebilmesi önemli unsurlar arasındadır.

Gerard (1597) keneviri ilk olarak dioik olarak tanımlamıştır, ancak monoik ve hermafrodit bitkilerin olduğu da bulunmuştur (Ernest Small ve Cronquist, 1976; Robert Connell Clarke, 1981; Ming ve ark., 2011). Tüm bu çiçek tip varyantlarının lif çeşitlerinde çok sık olduğu bilinmektedir (Ernest Small ve Cronquist, 1976). Ayrıca bu bitki eşeyssel dimorfizm gösterir, erkek bireyler genellikle dişilerden daha kısa bir ürün döngüsü ve daha uzun bir boy ile karakterize edilir (Fidan ve Karaismailoğlu, 2020).

Kenevir bitkisi üreme sistemi, allogami (yabancı dölleme) ve anemofili (rüzgarile meydana gelen tozlaşma) ile karakterize edilir ve bu sebepten dolayı, açık tozlaşma, gelişmiş ve vahşi popülasyonlar arasında belirli bir derecede hibritleşmeden sorumludur. Bu nedenle, Schultes'e göre, yerel kenevir türleri her on yılda bir genotip olarak değişmiştir (Schultes 1970).

Cinsiyet belirleme, yeni kenevir çeşitlerinin yetiştirilmesinde temel sorunlardan birini temsil eder, çünkü erkek ve dişi çiçekler görünür ve ayırt edilebilir olduğunda, ancak çiçeklenme başlangıcında değerlendirilebilir.

Aksoy (2021), çalışmasında incelemiş olduğu genotipler arasında dişi bitki oranı Finola genotipinde %45.13 iken Uso-31 genotipinde %7,95 oranında bildirmiştir. Çalışmada en yüksek dişi bitki oranına Narlısaray (%79,32), en düşük dişi bitki oranına ise Futura-75 (%6,90) çeşidinde gözlemlenmiştir. Paslı (2021), 2019 yılı çalışmasına ait bitki materyallerinden Narlı-8 (%68,03) en fazla erkek bitki oranına sahipken, Futura-75 ise (%73,47) en fazla dişi bitki oranına sahip olan çeşit olarak bildirmiştir. Gün (2019), Nisan ayında yapmış olduğu ekimler sonucunda %60,26 ile en fazla dişi bitki oranına TR31595 çeşidi, en düşük bitki oranı için ise TR82217 (%22,42) çeşidini bildirmiştir.

Kenevir bitkisinde cinsiyeti belirlemek için yayımlanan birkaç sekans vardır. Bu sekanslar; MADC1, MADC2, MADC3, MADC4, MADC5 ve MADC6 dizileridir (Sakamoto ve ark., 1995; Mandolino ve ark., 1999; Törjék ve ark., 2002; Sakamoto ve ark., 2005). Punja ve Holmes (Punja ve Holmes, 2020) yaptıkları çalışmada dişi bitkiler için 540 bant, erkek bitkiler için ise 390 bant veya 540 ile 390 olarak bant gösterilmiştir. 540 bç bandının MADC2 ile %86 sekans benzerliği verirken, 390 bç bandının MADC2 ile %100 sekans benzerliği gösterdiği tespit edilmiştir.

Gün (2019), Nisan ayında yapmış olduğu ekim sonucunda Uso-31, Ferimon, Santhica-27 yabancı çeşitlerinin sırasıyla dişi çiçeklenme gün sayıları 57, 55 ve 55'tir. Çalışmasında yerli çeşitlerimizde Omu_can_8 45 gün ile en erkenci, TR47274 ise 118 gün ile en geç çiçeklenen çeşitler olmuştur. Aksoy (2021), çalışması sonucunda Uso-31, Ferimon-12, Santhica-27 sırasıyla çiçeklenme süreleri 38, 57, 51 gün olarak bildirmiştir. Çalışmada en geç çiçeklenen çeşit olarak Narlısaray (71 gün), en erkenci çeşit ise Finola (28 gün) olmuştur.

Koçer (2022), sap kalınlığı için yapmış olduğu çalışma neticesinde; Van 18,71 mm ve Maltepe-3 16,19 mm çalışmada en kalın sap kalınlığına sahip çeşitler olarak bulunmuştur. Maltepe-4 13,35 mm ve Narlısaray 13,35 mm çalışmadaki sap kalınlığı en ince çıkan çeşitler olarak bildirmiştir. Aksoy (2021), Narlısaray çeşidini 8,11 mm ile çalışmasındaki sap kalınlığı en büyük çeşit olarak bildirirken, Finola çeşidi ise 3,14 mm ile sap kalınlığı bakımından en ince çeşit olarak bildirmiştir. Gün (2019), çalışmasındaki yabancı çeşitlerin sap kalınlıklarını inceden uzana doğru; Ferimon-12 (0,54 mm), Uso-31 (0,64 mm), Santhica-17 (0,64 mm) olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada yerel çeşitlerde 1,58 ile TR67263 sap kalınlığı en yüksek çıkan çeşit olarak belirtmiştir. Paslı (2021), 2019 yılı çalışması için sap kalınlığı en fazla olan çeşidi 8,016 mm ile Narlı-8, en az olan çeşidi ise 6,360 mm ile Fedora-17 olduğunu belirtmiştir. 2020 yılı çalışmasında ise, Narlı-7'nin 12 mm ile sap kalınlığı en fazla, Narlı-12'nin ise 9,23 mm ile en ince genotip olduğunu bildirmiştir.

Aksoy (2021), çalışmasında en yüksek bitki boyunu Santhica-17 (1,63 m), en kısa bitki boyunu ise Finola (0,53 m) çeşitlerinde ölçtüğünü belirtmiştir. Yerli çeşit olan Narlısaray için ise 1,54 m olduğunu belirtmiştir. Koçer (2022), Narlısaray için bitki boyunu 277,78 cm belirtirken, çalışmasında yabancı çeşitler için en uzun bitkinin Futura-75 (207,33 cm), en kısasının ise Uso-31 (135,42 cm) olduğunu belirtmiştir. Gün (2019), bitki boyu için en kısa bitkinin yerel çeşitle arasında TR48445 (59,90 cm), yabancı çeşitler arasında Santhica-17 (138,5 cm) çeşidinden elde etmiştir. Paslı (2021), 2019 yılı için Futura-75'in 121 cm, en uzun bitkinin 153,4 cm ile Narlı-8, en kısa bitkinin Fedora-17'nin 117,47 cm olarak ölçmüştür. Çalışmanın devamı olan 2020 yılı ölçümlerinde en uzun bitki boyunu 295,1 cm ile Narlı-7, en kısa bitki boyunu 252,8 cm ile Santhica-27 olduğunu bildirmiştir.

Koçer (2022), monoik çeşitlerde biyokütle verimlerini 400 ile 2178 kg/da arasında değişkenlikle belirlemiştir. En yüksek biyokütle verimini Futura-75 (2178 kg/da), en düşük çeşidi ise Uso-31 (400 kg/da) olarak elde ettiğini bildirmiştir. Aynı çalışmada dioik bitkiler için; biyokütle verimleri 21885,33 ile 4713,33 kg/da arasında değiştiğini, en yüksek biyokütle verimini Narlısaray (4713,33 kg/da) elde ederken, Kavacık-3 için en düşük değeri elde etmişlerdir (2185,33 kg/da).

Şakar (2022) yapmış olduğu çalışmada 20 cm sıra arası ve 100 tohum/m² ekim yaptığında 11,8 ile en fazla ortalama yan dal sayısı, 20 cm sıra arası ve 200 tohum/m² ekim yaptığında 9,8 ile en az ortalama yan dal sayısı elde etmiştir. Çalışmasında sıra arası x tohum sayısı interaksyonu uygulamaları bakımından dişi bitkilerin yan dal sayısının istatistiksel olarak önemsiz olduğunu belirtmiştir. Fakat dişi bitkiler için artan sıra arası mesafe ve m² başına düşen daha az tohum sayısı ile dişi bitkilerin daha fazla dallandığını gözlemlemiştir. Koçer (2022), monoik bitkilerde yan dal sayısı bakımından en yüksek Uso-31 (8,75) çeşidinden elde ederken, Ferimon çeşidinde en düşük değeri (7,13) gözlemlemiştir. Dioik dişi bitkilerde en yüksek 14,83 yan dal sayısı ile Van çeşidini, en

düşük ise 7,85 ile Maltepe-4 çeşidi olduğunu belirtmiştir. Narlısaray çeşidi için dişi bitkilerde yan dal sayısı için 8,67 adet elde etmiştir.

Gün (2019), bin tohum ağırlığında yerel çeşitlerde en az ağırlığı 11,68 gram ile TR50196 genotipinde, en yüksek ağırlığı ise 22,48 gram ile TR 15171 genotipinden elde etmiştir. Yabancı çeşitlerde ise Uso-31'de 13,45 gram, Ferimon-12'de 16,68 gram ve Santhica-27'de 14,1 gram olarak elde etmiştir. Paslı (2021) çalışmasında 2019 yılı için bitkilerin bin tane ağırlığı bakımından en verimli 16,65 gram ile Narlı-12, en düşük ağırlığa sahip olan çeşit ise Futura-75 olarak gözlemlemiştir. Çalışmanın 2020 yılı için ölçümlerde bin tohum ağırlığı için en ağır 20,978 gram ile Narlı-14, en hafif olanı ise 12,689 gram ile Santhica-27 çeşidi olduğu belirtmiştir. Schultz ve ark. (2020) çalışmasında bin tohum ağırlıkları için Uso-31'de 16,00 gram ve Fedora-12'de 15,00 gram olarak belirlemişlerdir. Aksoy (2021), kenevir genotiplerinin ortalama bin tohum ağırlığının için en yüksek Fedora-17 (14,59 g), en düşük Finola (7,82 g) tespit ederken Narlısaray çeşidi için 14,48 gram olarak belirtmiştir. Koçer (2022) Tokat'ta yapmış olduğu çalışmada bin tane tohum için en ağır Maltepe-2 (19,2 g), en hafif olanının ise Uso-31 (15,3) belirtken Narlısaray çeşidi için 18,5 gram olduğunu tespit etmiştir.

Bouali (2021) yapmış Ferimon çeşidi üzerine çalışmasında, dinamik maserasyon tekniğinde çözücü olarak etanol kullanarak CBD miktarı için 5304,53 ppm elde etmiştir. CBD miktarı; çeşidin genetik yapısına, çevre şartlarına ve bakım koşullarına göre değişiklik gösterir. Aksoy (2021) yapmış olduğu çalışmada % THC/CBD oranı en yüksek Finola (%0,090) çeşidi, en düşük ise Futura (%0,018) çeşidi olduğunu tespit etmiştir. Çalışmadaki Narlısaray çeşidinin %THC/CBD oranı %0,047, Fedora-12 çeşidini ise %0,02 olarak elde edilmiştir. Paslı (2021) çalışmasında %THC/CBD oranı en yüksek değer Narlı-12 (%0,075), en düşük değer ise Fedora-17 (%0,02) tespit etmiştir.

Hibridizasyon, farklı türlerin bireyleri veya aynı türden genetik olarak farklı bireyler arasında melezleşme sürecidir. Heterozis, homozigot bireylere göre bitkilerin çevresel faktörlerden daha az etkilenmesini sağlar. Heterozis (veya hibrit canlılık), hem modern lif hem de ilaç tipi çeşitlerin geliştirilmesini amaçlayan ıslah programları için itici bir faktör olmuştur. Heterotik etki genellikle, iki farklı soy ve/veya antagonist genotipin (yani lokusların çoğunda antagonist gen formları için yüksek homozigotluk gösteren ana hatların kullanılması) çaprazlanmasıyla üretilen yüksek oranda heterozigot bitkilerle kendini gösterir (Allaby, 2022; Anonim, 2022b).

Heterozigot avantajı, iki farklı ebeveyn arasındaki çaprazlamada, melezlerde görülen üstün uyum gücüdür. Bir heterozigot, her ebeveynden bir alel alan iki farklı alelli olan bir organizmadır. Uyum gücü, hayatta kalma ve yavru verme anlamına gelir. Heterozigot avantajı ise belirli bir gen için heterozigot olan bir organizmanın üstün uyum gücünü kastedir. Heterozigot avantajını açıklayan iki farklı hipotezi vardır. Birinci hipoteze göre soy içi melezleme de iki ebeveyn her biri, bir veya daha fazla özellik için homozigot resesiftir ve her birinin uyum gücü azaltılmıştır. Hibridizasyon her özellik için

dominant bir alelle sahip olan heterozigot yavrular yaratır, böylece uyum gücünü ve canlılığını arttırır. Bu hipotezde, heterozigotlar homozigot resesif koşuldan üstündür, ancak homozigot baskın koşuldan üstün değildir. Diğer hipotez ise, heterozigotun iki homozigottan üstün olmasıdır. Bu genellikle aşırı dominant hipotezi olarak adlandırılır. Mısırdaki melez gücü, normal dominant yerine aşırı dominanttan kaynaklanmaktadır. Aşırı dominantlık, gen havuzunda zararlı resesif alellerin çekinik kalmasını açıklamaya yardımcı olabilir (Anonim, 2022a).

CBD üzerine yapılan ve yapılmakta olan çalışmalar neticesinde sağlık kısmındaki değerinin anlaşılması sonucunda, kanunlar çerçevesinde tıbbi kenevirin kullanımı bazı ülkelerde yasallaştırılmıştır. Bu tezin başarıya ulaşması neticesinde kenevir ıslahında tıbbi kenevir yetiştirmek için hangi bitkisel materyalin anne hat olacağına ışık tutacaktır. Bu çalışma kenevir endüstrisinde yüksek CBD içeren hibrit adayları için anne genotipinin seçiminde yardımcı olacaktır. Bu tez kapsamında CBD içeriği farklı olan iki lif tipi kenevir genotipi resiprokal melezlenmiştir. Ebeveyn hatlar ve resiprokal melezler aynı serada yetiştirilerek morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Hasat edilen bitkilerde CBD düzeylerinin belirlenmesi için bitkilere ekstraksiyon işlemi uygulanmış ve ardından ve HPLC cihazında analiz edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Bitki çeşitleri ve Ekim Koşulları

Proje kapsamında “Bilimsel Amaçlı Kenevir Yetiştiriciliği İzin Belgesi” için gerekli belgeler hazırlanarak yasal mercilere müracaat edilmiş ve Antalya Valiliği tarafından verilen izin belgesi kapsamında Antalya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü gözetiminde kenevir yetiştiriciliği yapılmıştır. Sunulan tez çalışması için kullanılan kenevir materyallerinin yetiştirilmesi amacıyla resmî kurumlardan, üniversitelerden ve araştırma merkezlerinden tohumlar tedarik edilmiştir. Temin edilen bu tohumlar kontrollü şartlar altındaki ekimleri Antalya İli, Konyaaltı İlçesi, Pınarbaşı Mahallesi, Dumlupınar Bulvarında bulunan Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Venlo tipi ve 24 saat kamera ile kayıt altına alınabilme imkanına sahip olan 100 m²’lik akıllı sera alanında gerçekleştirilmiştir. Deneme Tesadüf Blokları deneme desenine göre üç tekerrürlü şekilde yürütülmüştür. Yetiştirilen materyaller hasat olgunluğuna eriştiklerinde toplanılmış ve kannabinoid profilleri açısından analiz edilmişlerdir. Bu kapsamda en yüksek CBD içeriğine sahip olan genotip (YG) tespit edilmiş ve bu materyalle Narlısaray (NS) çeşidi denemeler kapsamında kullanılmıştır.

Bu tezin arazi çalışmaları iki başarılı sezonla tamamlanmıştır (sonbahar ve ilkbahar, 2021-2022). Bitkilerin ilgili sezonlardaki seraya ekim tarihleri; Haziran 2021 ve Kasım 2021 olarak belirlenmiştir. Ekim yapılmadan önce deneme alanı sürülmüş, tasfiye yapılmış, taban gübresi uygulanmış ve ardından kenevir fideleri sıra üzerinde aralarında 40 cm olacak şekilde el ile dikimi yapılmıştır. Denemeler kapsamında kullanılan kenevir bitkilerinin yetiştirildiği seraya ait bir görsel Şekil 3.1’de sunulmaktadır.



Şekil 3.1. Son sezonda seradaki kenevir bitkileri

Damlama sulama yöntemiyle sulanan sera, hava duruma bağlı olarak gerektiği zamanlarda sulanmıştır. Her iki sulamanın birinde 2 kg/da dozunda 18-18-18+ME NPK kompoze gübre uygulanmıştır.

Tozlama işlemleri serada bulunan havalandırma fanlarının oluşturmuş olduğu hava akımı sayesinde açık tozlama şeklinde gerçekleştirilmiştir. Genotipler için kullanılan kısaltmalar Çizelge 3.1.'de sunulmaktadır.

Çizelge 3.1. Resiprokal Melezleme sonucu oluşan F_1 'lerin isimleri

Dişi Olarak Kullanılan Genotip	Erkek Olarak Kullanılan Genotip	Oluşan Bireyin İsmi
NS	YG	NSYG
YG	NS	YGNS

3.1.1. Melezlemeler

Eylül 2021 tarihinde yapılan ekimde, YG çeşidi yarı kardeş aile seleksiyonu, dişi bitkinin belli olduğu fakat aile arasında hangi erkek bitkiden polen aldığı bilinmeyen seleksiyon yöntemi, ile ekilen bitkiler arasında çevresel şartlara en uygun, agronomik olarak en iyi bitkiden tohumlar elde edilmiştir.

Haziran 2021 yılında yapılan ekimde, bir önceki sezon YG çeşidinden aldığımız tohumlardan çimlenen dişi bitkileri NS çeşidinin erkekleri hava akımı sayesinde tozlamıştır. Farklı bir serada NS çeşidinin dişilerini ise bir önceki sezon YG çeşidinden aldığımız tohumlardan çimlenen erkek bitkiler hava akımı sayesinde tozlamıştır.

3. Kullanılan Materyaller

Bu tez çalışmasında kullanılan alet ve ekipmanlar Çizelge 3.2.'de verilmiştir. Ayrıca ekstraksiyon yönteminde, çözeltileri hazırlamada ve kromatografik analizler sırasında kullanılan etanol, asetonitril ve asetik asit analit saflıkta olup Merck (Darmstadt, Almanya) isimli firmadan temin edilmiştir.

Çizelge 3.2. Denemeler kapsamında kullanılan alet ve ekipmanlar

Materyal	Marka, Model, Şehir, Ülke
HPLC cihazı	Agilent, 1200 Infinity, Santa Clara, ABD
Ultrasaf su sistemi	MES, MP Minipure, BASIC M UP, Ankara, Türkiye
Ultrasonik banyo	ISOLAB, 621.06.003, Eschau, Almanya
Ultrasonik prob	SONICS VIBRA, CELL VCX 750, Newtown, ABD
Hassas terazi	Ohaus Pioneer, PX224/E, Nänikon, İsviçre
Laboratuvar tipi öğütücü	IKA, MF10 Basic, Staufen, Almanya
Su banyosu	Mikrotest, DT107, Ankara, Türkiye
Polimeraz Zincir Reaksiyonu	Biorad, T100, California, ABD
Jel Elektrofrez	Biorad, PowerPac, Colifornia, ABD
Tissue lyser	Restch, Qiagen, Newtown, ABD
Santrifüj	Rotina 420R, Hettich, Tuttlingen, Almanya

3.3. DNA Ekstraksiyonu

Son dönem dikim yapılan toplam 260 kenevir bitkisinin genç yaprağından izole edilen DNA'lar moleküler analizler için kullanılmıştır. DNA izolasyon işlemi CTAB protokolüne göre tissue lyser cihazının yardımıyla yapılmıştır. CTAB tampon çözeltisi;

2% CTAB, 2% PVP, 10 mM Tris HCl (pH=8), 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl ve 0,2% β -mercaptoethanol göre hazırlanmıştır.

Taze kenevir yapraklarının bulunduğu tüplere demir bilyeler konulmuştur. Her tüpe 150 μ L CTAB çözeltisi eklenmiştir. Tüplerin kapakları kapatılıp tissue lyser cihazında ezme işlemi gerçekleştirildi. 4000 rpm'de yaklaşık 15 saniye santrifüjlenmiştir. Ezilen örneklerin üzerine 300 μ L CTAB çözeltisi eklenerek yaklaşık 1 saat 65 °C'de sıcak su banyosuna bırakılıp inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan alınan örnekler 24:1 oranında klorofom-izoamil alkol çözeltisinden 450 μ L eklenip 4000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiştir. Oluşan iki fazla çözeltinin üst kısmı alınarak yeni tüplere aktarılmıştır (yaklaşık 200 μ L). Yeni tüplere aktarılan üst faz kadar izopropanol eklenmiştir ve -20 °C'de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün -20 °C'dan alınan örnekler 4000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında tüplerdeki sıvı kısım dökülmüş ve tüplere 70%'lik etanolden 300 μ L eklenmiştir. Örnekler 4000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Etanol yıkama işlemi bir kez daha yapıldıktan sonra, tüplerde bulunan etanol dikkatlice dökülüp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan tüplere 150 μ L sterilize su eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 gün bekletildikten sonra 4 °C'ye kaldırılmıştır.

3.4. Markör Analizi

Punja and Holmes (2020) çalışmasındaki kenevir için cinsiyet belirleme primeri ve PCR koşullarında minör değişikliklerle bitkiler taranmıştır. Sunulan tez kapsamında kenevir bitkisinde cinsiyet belirleme primeri Çizelge 3.3.'te sunulmaktadır.

Çizelge 3.3. Cinsiyet belirleme primeri

Primer İsmi	Sekans Bilgisi (5' - 3')
SFU1	GTGACGTAGGTAGAGTTGAA
SFU2	GTGACGTAGGCTATGAGAG

Solis BioDyne firmasının 5x Hot FIREPol® Blend Master Mix kullanılmış ve PCR karşımı hazırlanarak cihaza konulmuştur.

Cinsiyet belirleme analizlerinde kullanılan PCR bileşenleri Çizelge 3.4.'te sunulmaktadır.

Çizelge 3.4. PCR karşımı için gerekli olan bileşenler

Bileşenler	Miktar
DNA	3 µL
5x Hot FIREPol Blend® Master Mix	1,5 µL
SFU1	0,32 µL
SFU2	0,32 µL
H ₂ O	5,2 µL
Toplam	10,34 µL

Cinsiyet belirleme için kullanılan PCR döngüsü Çizelge 3.5.'te sunulmaktadır.

Çizelge 3.5. PCR Döngüsü

Bileşenler	Süre	Döngü sayısı
94 °C	13 dk	
95 °C	30 sn	39
50 °C	30 sn	39
72 °C	45 sn	39
72 °C	10 dk	
4 °C	∞	

3.5. Jel Elektroforezi

PCR ürünlerini UV altında görüntüleyebilmek için %1,5'luk jel (400 ml TBE tampon çözeltisi, 6 g agaroz, 8 µL etidyum bromid) kullanılmıştır. Jelin hazırlanması için kullanılan TBE tampon çözeltisi; 108 g tris, 55 g borik asit ve 7.5 g EDTA'nın 1000 ml saf suda çözülürerek 10X'lik stok çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözelti üzerine 19 L saf su eklenerek 0,5X'lik seyreltilmiş çözelti hali ile kullanılmıştır. PCR ürünlerinin üzerine 3 µL yükleme boyası (15 ml gliserol, 35 ml saf su ve 0,05 g bromofenol blue) eklendi ve jele yüklemesi yapıldı. Ürünler 100 V elektrik akımı ile

yaklaşık 3 saat 0,5X'lik TBE tampon çözeltisinin içerisinde koşturuldu. Her jelin ilk kuyucuklarına 3 µL 100 bp'lik DNA Ladder (Solis BioDyne) yüklenmiştir. Jel görüntülenmesi Minilumi, DNR Bio-Imaging Systems markalı cihazda yapılmıştır.

3.6. Agronomik Gözlemler

Sıra üzerinde aralarında 40 cm aralıklarla dikilen kenevir fidelerinin gözlemleri bitki büyümesi ve gelişimine uygun aşamalarda kaydedilmiştir.

Fenotipik olarak cinsiyet karakterizasyonu, bitkilerinin ilk çiçeğini belirginleştirdiği tarihi ve fenotipik olarak dişi ya da erkek olduğu not edilmiştir. Yaklaşık olarak 6 ay sonra hasat zamanı gelen bitkilerinin ortalama nod uzunluğu; ilk nod ile son nod aralığının uzunluğunun, nod sayısına bölünerek bulunmuştur. Hasat zamanı gelen bitkilerin, toprak üstü uzunluğu, kök boğazı çapı, gövde kalınlığı ölçülmüştür. Sökülen bitkilerin; toprak üstü biyokütlesi, dal sayısı ve çiçek biyokütlesi ölçülmüştür.

3.7. CBD'ün Ekstraksiyonu ve Tanımlanması

Bitkilerdeki CBD'ün ekstrakte edilmesi ve tanımlanması çalışmaları kapsamında Bouali (2021) tarafından bildirilen majör kannabinoidlerin optimizasyonu için gerçekleştirilen ekstraksiyon ve tanımlanma yöntemi kullanılmıştır.

- Serada kurutulan kenevir örnekleri, laboratuvar tipi öğütme cihazı kullanılarak öğütülmüş ve ardından laboratuvar tipi eleme cihazı kullanılarak parçacık çapları eşit numuneler elde edilmiştir. Elde edilen numuneler 50 ml santrifüj tüpleri içinde karanlık ortamda oda koşulları altında muhafaza edilmiştir.
- Her örnekten 0,25 gram tartılmış ve cam tüplere aktarılmıştır.
- Cam tüplere aktarılan numuneler, 142,50°C'de 59 dakika etüv içinde dekarboksilasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.
- Dekarboksilasyon işlemi sonrası, her bir numunemiz üzerine 10 ml etanol eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında ultrasonikatore yerleştirilmiştir.
- İşlem sonucunda, örneklerimiz filtre kâğıt üzerinden süzülerek cam şişeye aktarılmıştır. Cam tüplerin kenarında kalan örneklere 10 ml etanol eklenmiş olup aynı kâğıt filtre üzerinde kendi cam şişelerine süzülmesi sağlanmıştır.
- Elde edilen filtrat 0,45 µm filtreden geçirilmiştir ve temizlenmiş ekstraktan 400 µL HPLC vialine alınmıştır ve üzerine 600 µL metanol eklenerek HPLC cihazına yerleştirilmiştir.

CBD'nin tanımlanması kapsamında, HPLC cihazının analitik koşulları Çizelge 3.6.'da sunulmaktadır.

Çizelge 3.6. HPLC cihazı analitik koşulları

Dedektör	Diode Array Detector (DAD)
Kolon	ODS3 Intersil (4.6x250 mm) 5µm
Akış oranı	1,5 mL/dak
Kolon sıcaklığı	35°C
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Dalga boyu	210 nm
Hareketli faz	%0.1 (v/v) asetik asit içeren asetonitril (A), %0.1 (v/v) asetik asit içeren su (B)
Hareketli faz profili	%65 A, %35 B

HPLC için hareketli fazların hazırlanması;

- Mobil faz A %0,1 (v/v) asetik asit içeren asetonitril: 1 litre asetonitril içinde 1 mililitre asetik asit.
- Mobil faz B %0,1 (v/v) asetik asit içeren su: 1 litre ddH₂O içinde 1 mililitre asetik asit.

Kannabionoidlerin doğrulaması sonuçları Çizelge 3.7.'de sunulmaktadır.

Çizelge 3.7. Kannabinoidlerin bazı yöntem doğrulaması sonuçları (Bouali, 2021).

Kannabinoid	Kısaltma	Doğrusal aralık (mg/L)	Kalibrasyon denklemi	r^2	Çıkış zamanı (dak)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	RSD (%)
Kannabidivarin	CBDV	0,51-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,007123 x + 0,4899$	1,00	6,19	0,15	0,51	3,44
Kannabidiolik asit	CBDA	0,85-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,01549 x + 0,4085$	1,00	8,58	0,26	0,85	2,86
Kannabigerolik asit	CBGA	0,48-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,01453 x + 0,4865$	1,00	9,35	0,14	0,48	2,22
Kannabigerol	CBG	0,23-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,008251 x + 0,1675$	1,00	10,06	0,07	0,23	1,28
Kannabidiol	CBD	0,10-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,008534 x + 0,1583$	1,00	10,46	0,03	0,10	0,56
Kannabinol	CBN	0,55-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,01171 x - 0,0531$	1,00	16,59	0,16	0,55	3,24
Delta 9 Tetrahidrokannabinol	Δ^9 -THC	0,63-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,008033 x - 0,0332$	1,00	21,24	0,19	0,63	3,76
Delta 8 Tetrahidrokannabinol	Δ^8 -THC	0,59-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,008983 x - 0,0262$	1,00	22,34	0,18	0,59	3,54
Kannabikromen	CBCRA	1,09-250,00	$y = 0,0000 x^2 + 0,01783 x + 0,0159$	1,00	29,75	0,33	1,09	5,50
Tetrahidrokabinolik asit	THCA	0,85-250,00	$y = 0,000001 x^2 + 0,01629 x + 0,7539$	1,00	30,20	0,25	0,85	3,73

3.8. Verilerin Analizi

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Tesadüf Parseller Deneme Desenine göre SPSS bilgisayar programı ile varyans analizine tabi tutulmuştur. Farklılıkları karşılaştırmak için LSD veya Dunnet T3 testleri tercih edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. İlk Çiçek Görülme Zamanı

Denemede kullanılan ebeveynler ve hibritler arasında fidelerin şaşırtılması sonucunda ilk çiçek görülme zamanı (Çizelge 4.1.) 17 gün ile NS genotipi en erkenci olmuştur. En geç ise 33 gün ile YGNS (YG x NS)) diye adlandırılan hibrit çeşidi olmuştur. Diğerlerinde ise YG 26 gün, NSYG (NS x YG) 23 gün olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. İlk Çiçek görülme zamanı ortalaması

Genotip	Tohum ekim zamanı	Fidelerin şaşırtılma tarihi	İlk çiçek görülme zamanı ortalaması (tarih)	İlk çiçek görülme zamanı ortalaması (gün)
NS	05.11.21	24.11.21	11.12.21	17
YG			20.12.21	26
NSYG			17.12.21	23
YGNS			27.12.21	33

Çalışmalar kapsamında yetiştirilen bitkilerin ekim tarihi ve seraya fide halinde dikim yapılmasından, çevresel faktörlerin değişiminden ve bitkinin stres altında olması kaynaklı diğer yapılan çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan Welch ve Brown-Forsythe testleri sonucunda genotipler arasında ilk çiçek görülme zamanı için fark bulunmuştur ($p<0,05$). Dunnett T3 testi; YG genotipinin her iki hibrit içinde arasında ilk çiçek görülme zamanı için aralarında önemli derece fark bulunmadığını göstermektedir. NS genotipi ile YG genotipi arasında fark bulunmamıştır ($p<0,05$). Fakat iki hibrit için arasında ilk çiçek görülme tarihi için bir fark vardır ($p<0,05$). YGNS hibritinin, NSYG hibritiyle aralarında ilk çiçek görülme tarihi için önemli düzeyinde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$).

4. Erkek Dişi Oranı ve Cinsiyet Belirlemek İçin Markör Sonucu

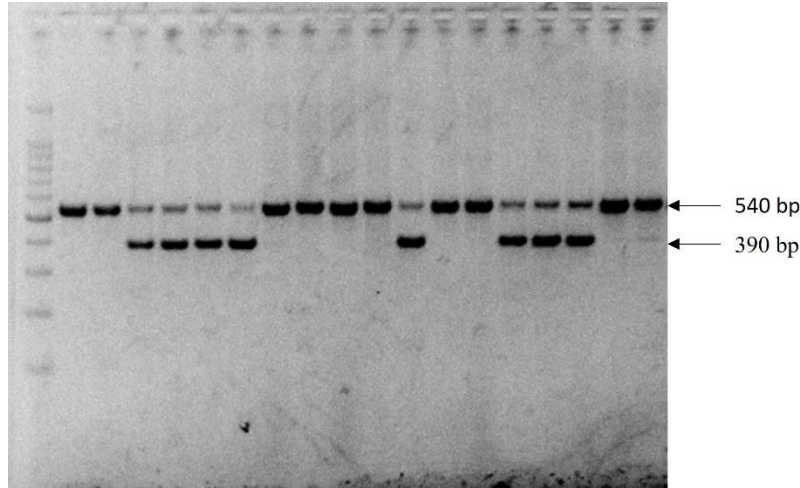
Ebeveyn ve hibrit genotiplerde dişi oranı en yüksek YG olurken, en düşük dişi oranı %30,4 ile NSYG genotipi olmuştur. NS ve YGNS genotipi sırasıyla %39,9 ve %34,8 oranında dişi bitki bulundurmaktadır (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Genotiplerde erkek dişi bitki oranı

Genotip	Erkek bitki oranı (%)	Dişi bitki oranı (%)
NS	39,1	60,9
YG	30,4	69,6
NSYG	39,8	60,2
YGNS	34,8	65,2

Kenevir bitkisindeki erkek/dişi oranının farklılığı genotip farklılık olmasının yanında, çevre şartlarının kenevir bitkisinde cinsiyeti etki ettiği bilinmektedir (Glawe ve de Jong, 2005).

Punja and Holmes (2020), kenevir için MADC2 geninden geliştirmiş olduğu primer, dişi kenevir için 540 bp'da, erkek için 390 bp veya 390 bp ve 540 bp ile jelde ayırt edilebileceğini belirtmiştir. Tez çalışması kapsamında bu primer kullanarak alınan sonuçlar, arazideki fenotiple uyumlu olarak bulunmuştur. Antalya'da sera ve düzenli bakım koşullarında, denemelerde kullanılan genotipler ve resiprokal hibritleri için bu primeri kullanarak cinsiyet ayrımı yapılabilmektedir.

**Şekil 4.1.** Bir genotipte cinsiyet belirlemek için kullandığımız primerin örnek jel görüntüsü

4.3. Gövde ve Kök Boğazı Kalınlığı

Antalya sera koşullarında sonbahar sezonunda yetiştirilen ebeveyn ve hibritler bitkilerimizden en kalın kalın gövde ortalamasına sahip olan genotip NSYG hibriti, en

kalın kök boğazı ortalamasına sahip olan genotip ise NS çeşidi olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Genotiplerin kök boğazı ve gövde kalınlığı ortalaması

Genotip	Kök Boğazı kalınlığı ortalaması (mm)	Kök Boğazı kalınlığı ortalaması standart sapma	Gövde kalınlığı ortalaması (mm)	Gövde kalınlığı ortalaması standart sapma
NS	10,2625	±4,623	4,0125	±1,4090
YG	8,5167	±2,724	3,5083	±0,5534
NSYG	10,1538	±3,975	4,6108	±1,1992
YGNS	9,7239	±4,234	4,2845	±1,1049

Çizelge 4.4. Ebeveyn ve hibritlere ait gövde kalınlıklarına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	16,095	5,365	4,423*
Tekerrür	2	18,981	9,490	7,823*
Hata	6	191,661	1,213	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Varyans analiz tablosuna göre, gövde kalınlığı bakımından genotipler arasında fark vardır (Çizelge 4.4.). LSD sonuçlarına göre; NS çeşidinin, NSYG hibritiyle arasında gövde kalınlığı bakımından anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). YG genotipinin; NSYG hibriti ile arasında ciddi, YGNS hibriti ile arasında anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$).

Kök boğazı kalınlığı bakımından varyans analize göre genotipler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Bitkinin yetiştirme şartları, sıcaklık, dikim aralığı, bakım koşulları kenevir bitkisinde sap kalınlığını etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Sonbahar

mevsiminde dikim yapılması, dikim aralığının sıra üzeri 40 cm olması gibi çevresel ve uygulama farklılıklarından kaynaklı denemelerde, diğer çalışmalara göre sap kalınlığı bakımından farklılık tespit edilmiştir.

4.4. Bitki Uzunluğu ve Nod Aralığı

Bitkilerin boyu, kök boğazından başlayarak en uç noktaya kadar ölçülmüştür. Genotipler arasında bitki boyu en uzun olan 78,77 cm ile YGNS hibriti, en kısa olanı ise 71,58 cm ile YG genotipi olmuştur (Çizelge 4.5.). Ortalama nod aralığı bakımından genotipler ve hibritler karşılaştırıldığında ise NS genotipi 10,7 ile en uzun nod aralığına sahipken, YG 6,35 ile en kısa nod aralığına sahip olan genotip olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Kenevir genotiplerin ve hibritlerin bitki boyu ortalaması (cm) ve nod aralığı ortalaması (cm)

Genotip	Bitki boyu (cm)	Bitki boyu SD	Nod aralığı (cm)	Nod aralığı SD
NS	74,52	±19,526	10,7	±2,309
YG	71,58	±20,385	6,35	±2,292
NSYG	76,48	±20,048	9,19	±2,366
YGNS	78,77	±16,195	7,38	±1,915

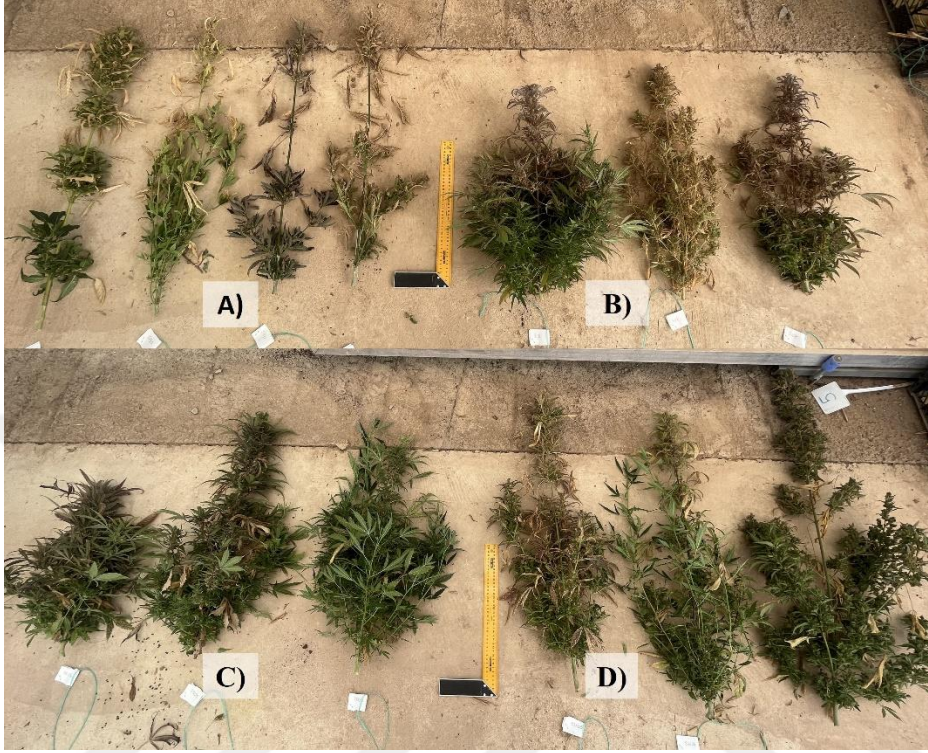
Çizelge 4.6. Genotiplerin ve hibritlere ait bitki boyu uzunluklarına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	788,876	262,959	0,811
Tekerrür	2	4956,161	2478,080	7,639*
Hata	6	70070,460	324,400	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Genotipler arasında varyans analiz sonuçları (Çizelge 4.6.) bitki boyu ortalamaları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Fakat tekerrür arası anlamlı

bir fark vardır ($p<0,05$), bu da tekerrürler arasında çevresel faktörlerden kaynaklı bunlardan biri yeterince güneş ışığı almamaktan kaynaklı bitki boylarında farklılık olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2. Araziden sökülen genotiplerden örnekler; A) NS, B) YG, C) YG x NS hibriti, D) NS x YG hibriti

Çizelge 4.7. Genotiplerin ve hibritlere ait nod aralığına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	335,486	111,829	31,125**
Tekerrür	2	264,441	132,220	36,800**
Hata	6	776,069	3,593	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Varyans analizi sonucu (Çizelge 4.7.) genotipler arasında nod ortalamaları bakımından çok önemli bir fark vardır. Tekerrürler arasında önemli bir fark olduğu görülmektedir ($p<0,01$). Tespit edilen farklılık bitki boylarından kaynaklanmaktadır. Uzun bitki boyuna sahip olanın nodlar arası mesafesi büyümektedir. LSD sonucu, YG ile

YGNS genotipi arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Onun dışında genotiplerin birbirleriyle önemli bir derecede bir farklılık vardır ($p<0,01$).

Kenevir bitkisinde bitki uzunluğunu iyi bakım koşulları, ekim tarihi, ekim sıklığı, çevresel faktörler etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi genotip farklılıkta bitki boyuna etkisi olmaktadır. Tez çalışması kapsamında tespit edilen farklılıklar çevresel faktörler ve ekim tarihinden kaynaklanmaktadır.

4.5. Biyokütle ve Çiçek Demeti Ağırlığı

Bitki başına biyokütlesi bakımından en yüksek verimi YG (182,8 g) genotipinden elde edilmiş olup en düşük değer ise NS (117,2g) genotipi olmuştur (Çizelge 4.8.). Çiçek demeti ağırlığı bakımından bir bitki başına düşen ortalama ağırlığın en yüksek verim YG (132,2 g), en düşük verim ise NS (36,4 g) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Genotiplerin, biyokütle ve çiçek demeti ağırlığının ortalaması

Genotip	Biyokütle ortalaması (g)	Biyokütle ortalaması SD	Çiçek demeti ağırlığı ortalaması (g)	Çiçek demeti ağırlığı ortalaması SD
NS	117,2	$\pm 0,1641$	36,4	$\pm 0,0266$
YG	182,8	$\pm 0,0783$	132,2	$\pm 0,0576$
NSYG	133,8	$\pm 0,0888$	98,2	$\pm 0,0638$
YGNS	165,8	$\pm 0,0718$	131,7	$\pm 0,0869$

Çizelge 4.9. Genotiplerin ve hibritlere ait biokütleyle ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	0,054	0,018	2,088
Tekerrür	2	0,078	0,039	4,485*
Hata	6	1,146	0,009	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Genotiplerin varyans ilişkisi sonucunda birbirleriyle anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir. Fakat tekerrürlerin biyokütle bakımından birbirleriyle arasında farklılık bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.9.). Tekerrürler arasındaki farkın bitki boyunda olduğu gibi çevresel faktörlerden kaynaklı olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.10. Genotip ve hibritlere ait çiçek demeti ağırlığına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	567,185	189,062	17,327**
Tekerrür	2	17,208	8,604	0,789*
Hata	6	1440,298	10,911	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Çiçek demeti ağırlıkları bakımından genotipleri değerlendirildiğinde genotiplerin birbirleriyle arasında önemli bir farklılık bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.10.). LSD sonucuna göre; YG ebeveyn genotipin, resiprokal hibritlerle arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu sonucun dışında genotiplerin birbirleriyle demet çiçek yapısı bakımında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.3. Genotiplerin üst kısımlarında alınan çiçek demeti örnekleri; A) YG, B) NS, C) NS x YG hibriti, D) YG x NS hibriti.

Gerçekleştirilen çalışmada NS için 293 kg/da verim alınırken, en yüksek biyokütleyi veren YG ise 457 kg/da verim elde edilmiştir. Bitkilerin ekim sıklığı ve ekim tarihlerinin biyokütleyi etkileyeceği gibi, denemeler sırasında biyokütle için örnek alınırken toprak üstü kısmı yani kök boğazının üst tarafı tartılmıştır. Bu da sonuçların farklı olmasında en büyük sebeplerden birisidir.

4.6. Yan Dal Sayısı

Kenevir bitkisinde dallanma oranı çeşit ve tarımsal uygulamalara göre değişiklik gösterir, ekim sıklığı bunu etkileyen faktörlerden biridir (Robert C Clarke ve Watson, 2007). Denemelerde bitki başına en yüksek yan dal sayısı YG (13,33) genotipinde elde edilirken en düşük yan dal sayısı NS (8,29) genotipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Genotiplerin bitki başına yan dal sayı ortalaması (adet)

Genotip	Yan dal sayısı (adet)	SD
NS	8,29	±3,17
YG	13,33	±5,43
NSYG	8,34	±3,16
YGNS	12,21	±3,05

Çizelge 4.12. Genotip ve hibritlere ait bitki başına yan dal sayısına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	567,185	189,062	17,327**
Tekerrür	2	17,208	8,604	0,789
Hata	6	1440,298	10,911	
Genel	12			

*, **: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Genotipler arasında bitki başına yan dal sayısında önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.12.). LSD sonucuna göre; NS genotipinin NSYG hibritiyle arasında anlamlı derece fark bulunamamıştır, YG ebeveyn genotipinin YGNS hibritiyle arasında anlamlı derece fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Bu iki sonuç dışında genotiplerin birbirleriyle bitki başına yan dal sayısında önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,01$).

Yapılan çalışmada NS çeşidinin yan dal sayısı için daha önceki çalışmalara yakın sonuçlar elde edilmiştir. Genotip farklılığı yan dal sayısını etkilemektedir.

4.7. Bin Tohum Ağırlığı

Kenevir tohumu ülkemizde özellikle Anadolu bölgesinde çerezlik olarak tüketilmektedir. Kenevir tohumu; %30-35 yağ, %22-23 protein ve 21 oranında karbonhidrat bulundurur (Grassi ve McPartland, 2017). Bin tane ağırlıkları incelendiğinde; en az ağırlık 13,46 gram ile YG, en yüksek ağırlık ile 16,09 gram ile NSYG hibritine ait olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.13.).

Çizelge 4.13. Bin tohum ağırlığının ortalaması

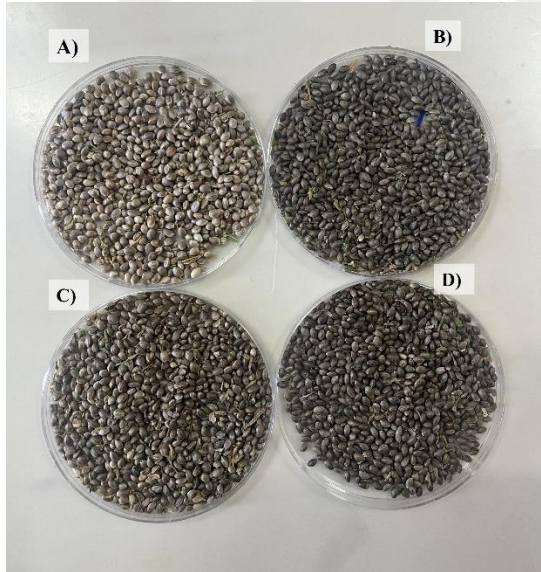
Genotip	Bin Tohum Ağırlığının Ortalaması (g)	SD
NS	14,95	±0,864
YG	13,46	±0,612
NSYG	16,09	±0,326
YGNS	14,65	±2,047

Çizelge 4.14. Genotip ve hibritlere ait bin tohum ağırlığının ortalamasına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	34,146	11,382	7,832**
Tekerrür	2	1,151	0,575	0,396
Hata	6	40,689	1,453	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Bin tohum ağırlığının ortalamasına bakımında genotipleri değerlendirildiğinde genotiplerin birbirleriyle önemli bir fark vardır ($p < 0,01$). LSD testi sonucunda; NS genotip sadece YG genotipinden bin tohum ağırlığı bakımından anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0,05$). YG ise YGNS hibritiyle arasında bin tohum ağırlığı bakımından anlamlı farklı bulunamamıştır fakat diğer iki genotip ile aralarında anlamlı fark vardır ($p < 0,05$). YGNS hibriti sadece NSYG hibriti ile bin tohum ağırlığı önemli fark bulunmuştur ($p < 0,01$).

**Şekil 4.4.** Genotiplerin tohumları; A) NS, B) YG, C) NS x YG hibriti, YG x NS hibriti.

Bin tohum ağırlığı için elde edilen sonuçlar Aksoy (2021) çalışmasındaki sonuçlarla paralellik göstermektedir. Bin tane ağırlığının çevre şartlarının etkilendiği gibi genotip olarak da farklılık göstermektedir (Schultz ve ark., 2020).

4.8. CBD Miktarı ve %THC/CBD Oranı

Denemeler kapsamındaki genotiplerin içermiş olduğu CBD miktarı (ppm) bakımından en zengin olan genotip YG (22330,83 ppm), en düşük ise NS (4398,13 ppm) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Kannabinoid kalitesi bakımından yani kenevir kemotip yapısını belirlemek için incelenen %THC/CBD oranı en yüksek NS (%0,031) iken, en düşük NSYG (%0,011) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Genotiplerimizin ortalama CBD miktarı (ppm) ve % THC/CBD oranı

Genotip	CBD Miktarı (ppm)	CBD miktarı SD	% THC/CBD	% THC/CBD SD
NS	4398,13	±3393,37	0,0310	±0,00209
YG	22330,83	±5364,75	0,0128	±0,01527
NSYG	11836,92	±4589,74	0,0111	±0,00777
YGNS	15501,05	±8361,04	0,0150	±0,01069

Çizelge 4.16. Genotip ve hibritlere ait kannabidiol miktarı (ppm) ortalamasına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	2237705453,394	745901817,798	18,548**
Tekerrür	2	28159777,612	14079888,806	0,350
Hata	6	5026804851,485	40214438,812	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

Genotiplerin kannabidiol miktarı (ppm) arasında önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.16.). LSD test sonucuna göre, genotipler birbirleriyle CBD miktarı bakımından anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

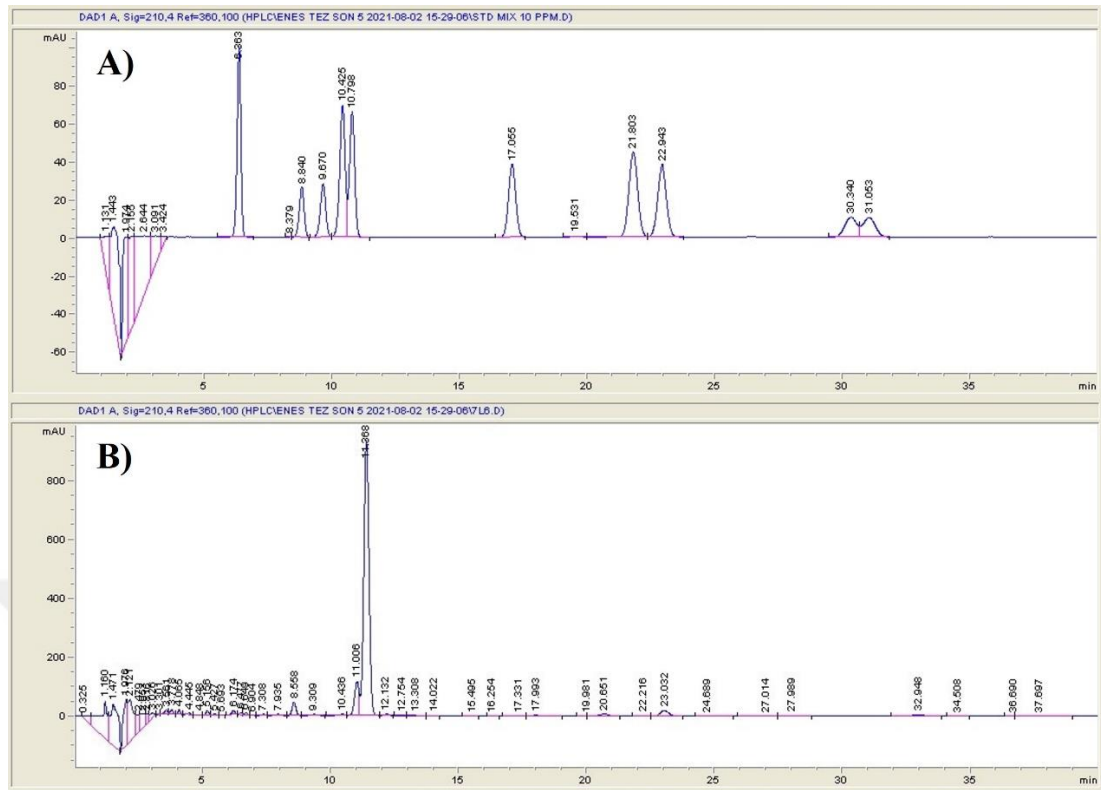
Çizelge 4.17. Genotip ve hibritlere ait %THC/CBD ortalamasına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Genotip	3	0,001	0,000	3,656*
Tekerrür	2	0,000	0,000	1,019
Hata	6	0,007	9,882E-5	
Genel	12			

*: %5 düzeyinde, **: %1 düzeyinde önemlidir.

%THC/CBD bakımından genotipleri değerlendirildiğinde, genotiplerin birbirleriyle arasında fark bulunmuştur ($p<0,05$) (4.17). LSD testi sonucunda, NS genotipinin; YG ile arasında % THC/CBD bakımından arasında fark ($p<0,05$), resiprokal hibritler için önemli fark bulunmuştur ($p<0,01$). YG genotipinin, resiprokal hibritler için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Resiprokal melezler kendi aralarında % THC/CBD oranı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Farklı konsantrasyonlarda kannabinoid içeren standartlara ve kenevir örneklerinden elde edilen örnek bir HPLC kromatogramları Şekil 4.5.'te sunulmaktadır.



Şekil 4.5. Kannabinoid kromatogramları; **A)** Farklı konsantrasyonlarda kannabinoid içeren standartlara ait kromatogramlar **B)** Kenevir örneklerinden elde edilen örnek bir HPLC kromatogramı

Gerçekleştirilen çalışmada daha önceki çalışmalardaki NS için %THC/CBD oranı arasında farklı sonuca ulaşılmasının sebebi kannabinoid miktarını tanımlama cihazlarının farklılığından kaynaklanmaktadır. HPLC kannabinoidlerin asidik ve nötr formlarını ayırımı kolaylıkla yapılırken, GC tekniğinde enjeksiyon portundaki yüksek sıcaklık nedeniyle kannabinoidler dekarboksile olabilmekte, bu da asidik ve nötr formlarını ayırımını güçleştirmektedir (Bouali, 2021).

5. SONUÇLAR

İlaç sanayisi için gün geçtikçe daha değerli hale gelen kenevir dioik tek yıllık bir bitkidir. Lifleri, tohumu ve özellikle içinde bulundurduğu kannabinoidler nedeniyle son zamanlarda bu konuda yapılan akademik çalışmaların sayısı ve niteliği hızla artmaktadır. Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında yerli bir genotip olan NS ile YG genotipinin resiprokal melezlenmesi sonucunda hibritlerdeki yüksek CBD bakımından hibrit potansiyeli değerlendirilmiştir. Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma alanında kontrollü sera denemesi olarak yürütülmüş ve aşağıda belirtilen sonuçlara ulaşılmıştır:

Ebeveyn ve resiprokal melezlerin fideleri şaşırttıktan sonra ilk çiçek görülme zamanı incelendiğinde, en erkenci olan 17 gün ile NS genotipi olmuştur. En geç ilk çiçek görülmesi ise 33 gün ile YGNS hibritinde olmuştur. NS genotipinde her iki resiprokal melezler için ilk çiçek görülme zamanı farklıdır. YGNS hibriti iki ebeveyninden de ilk çiçek belirgin zamanı için farklıdır. NSYG hibriti ise, YG ebeveyn için ilk çiçek belirginlik zamanı için bir fark bulunamamıştır. Resiprokal melezler kendi aralarında ilk çiçek belirginliği için zaman farkı olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyet belirleme için kullanılan primer denememizde yer alan genotiplerimizde sonbahar zamanında fenotipik gözlemle uyumlu sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Denemelerde kullanılan genotipler için kullanılan primer sonbahar zamanında kullanılabilir.

Kök boğazı ortalaması (mm) bakımından, en geniş olan genotip $10,2 \pm 4,623$ mm ile NS iken, en ince olan ise YG olarak tespit edilmiştir. Kök boğazı bakımından varyans analizi sonucunda genotipler arasında bir fark bulunamamıştır. Genotiplerin gövde kalınlığı (mm) için ölçümlerinde; en büyük ölçüm ortalaması NSYG ($4,6 \pm 1,199$ mm) olurken, en küçük ölçüm ortalaması YG ($3,5 \pm 0,553$ mm) olduğu elde edilmiştir. Gövde kalınlığı, liflik kenevir yetiştiricileri için önemli bir kriterdir. İnce gövde kalınlığı makinalı hasatta kolaylık sağlarken ve lif kalitesini artırmaktadır.

Lif elde edilecek bitkiler için gövde kalınlığı ince ve uzun olması lif kalitesi bakımından iyi bir özelliktir. Çalışma kapsamındaki genotiplerin boyları bakımından karşılaştırıldığında en kısa olanın YG olduğu, en uzunun ise YGNS ($78,77 \pm 16,195$ cm) elde edilmiştir. Varyans analizi sonucunda genotipler arasında anlamlı bir değer bulunamamıştır. Nod aralığı bakımından, en kısa YG ($6,39 \pm 2,292$ cm) olurken, en uzun NS ($10,7 \pm 2,309$ cm) olarak tespit edilmiştir. Nod aralığının kısalması ekim şartları ve genetik altyapıya bağlı olarak değişmektedir. Kannabinoid için yetiştiricilik yapanlar kısa nod aralığında daha fazla dal sayı isteyerek çiçek demeti kütlesinin artması istemektedirler.

Genotipler arasında biokütle bakımından varyans analizi sonucunda anlamlı bir sonuç bulunmamıştır. En fazla biyokütle verimi YG ($182,8 \pm 0,0783$ g) verirken, en az ise $117,2 \pm 0,1641$ g değeri ile NS genotipinde bulunmuştur. Kannabinoid yetiştiriciliği için

önemli faktörlerden biri olan çiçek demeti ağırlığı, en yüksek YG ($132,22 \pm 0,0576$ g), en düşük ise NS ($36,4 \pm 0,0266$ g) genotipinden elde edilmiştir. Varyans analizi sonucunda resiprokal hibritlerin çiçek demeti ağırlığı bakımından YG ebeveyn genotipinden istatistiksel olarak bir farklarının olmadığı tespit edilmiştir. Dal sayısı bakımından en çok bitki başına ortalama dal sayısı olan genotip YG olurken, en az ise NS çeşidi olmuştur. Resiprokal hibritlerde, dal sayısı bakımından hibritin annesiyle arasında bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Yan dal sayısı ve bitki boyu kenevirin ekim sıklığına bağlı olarak değişmektedir.

Bin tohum ağırlığı açısından NSYG hibriti $16,09 \pm 0,326$ g ile ne ağır iken, YG genotipi $13,46 \pm 0,612$ g ile en hafif olduğu tespit edilmiştir. Resiprokal melezler arasında bin tohum ağırlığı bakımından fark vardır. NSYG hibriti ebeveyn genotipleri arasında bin tane tohumu için önemli derece fark vardır fakat YGNS hibritinin ebeveynlerden anlamlı farkı yoktur.

Kannabidiol miktarı, QTL genlerle kontrol edildiği için genetik alt yapı ve çevre önemli rol oynamaktadır. Genotiplerin kannabidiol miktarlarının ortalaması bakımından birbirleriyle farklıdır. Fakat YGNS hibritinde, anne ebeveyni ve en yüksek ortalamaya sahip olan YG ($22330,83 \pm 5364,75$ ppm)'den daha yüksek kannabidiol miktarına sahip bitkiler tespit edilmiştir. Kenevirde kannabinoid kalitesi (kematip), çevre koşullarında oldukça az etkilenir. Resiprokal melezlerin kannabinoid kaliteleri ortalamaları; NS ebeveyn ile anlamlı bir fark varken, YG ebeveyn ile aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Hibritlerin kendi aralarında kannabinoid kaliteleri açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında üretilen verilerin, özellikle eczacılık sektöründe popüler hale gelen CBD'ün ıslah çalışmaları açısından akademik ve endüstriyel düzeydeki çalışmalara katkılar sağlaması beklenmektedir.

6. KAYNAKLAR

- A. Koç, H., Yıldırım, H., Ekinci, R., & Onay, A. (2020). Kenevirin genetiği ve ıslahı. In *Kenevir (cannabis sativa l.)* (pp. 119-139): Palme.
- Ainsworth, C. Boys and girls come out to play: The molecular biology of dioecious plants. *Annals of Botany*. 2000; 86 (2): 211-221.
- Aksoy, D. Samsun ekolojik koşullarında narlısaray popülasyonu ile yabancı orjinli kenevir çeşitlerinin verim ve bazı kalite özelliklerinin araştırılması. . Ondokuz Mayıs Üniversitesi, (Yüksek Lisans tezi), 2021,
- Allaby, M. Heterosis. 2022,
- Amaducci, S., Pelatti, F., & Bonatti, P. M. Fibre development in hemp (cannabis sativa l.) as affected by agrotechnique: Preliminary results of a microscopic study. *Journal of industrial hemp*. 2005; 10 (1): 31-48.
- Amaducci, S., Zatta, A., Pelatti, F., & Venturi, G. Influence of agronomic factors on yield and quality of hemp (cannabis sativa l.) fibre and implication for an innovative production system. *Field crops research*. 2008; 107 (2): 161-169.
- Anderson, L. C. A study of systematic wood anatomy in cannabis. *Botanical Museum Leaflets, Harvard University*. 1974; 24 (2): 29-36.
- Anonim. (2022a). Heterozygote advantage. Retrieved from Encyclopedia.com: <https://www.encyclopedia.com/medicine/medical-magazines/heterozygote-advantage>
- Anonim. (2022b). Hybridization, plant. Retrieved from Encyclopedia.com: <https://www.encyclopedia.com/science/news-wires-white-papers-and-books/hybridization-plant>
- Apicella, P. V., Sands, L. B., Ma, Y., & Berkowitz, G. A. Delineating genetic regulation of cannabinoid biosynthesis during female flower development in cannabis sativa. *Plant Direct*. 2022; 6 (6): e412.
- Aytekin, Ç. (2020). Kannabinoidlerin biyosentezi. In *Kenevir (cannabis sativa l.)* (pp. 195-208): Palme.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., . . . Omar, A. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*. 2013; 117 (4): 426-436.
- Baker, D., Pryce, G., Giovannoni, G., & Thompson, A. J. The therapeutic potential of cannabis. *The Lancet Neurology*. 2003; 2 (5): 291-298.
- Baranauskaite, J., Marksa, M., Ivanauskas, L., Vitkevicius, K., Liaudanskas, M., Skyrius, V., & Baranauskas, A. Development of extraction technique and gc/fid method for the analysis of cannabinoids in cannabis sativa l. Spp. Santicha (hemp). *Phytochemical Analysis*. 2020; 31 (4): 516-521.
- Beutler, J. A., & Marderosian, A. H. Chemotaxonomy of cannabis i. Crossbreeding between cannabis sativa and c. Ruderalis, with analysis of cannabinoid content. *Economic botany*. 1978; 32 (4): 387-394.
- Bócsa, I., Máthé, P., & Hangyel, L. Effect of nitrogen on tetrahydrocannabinol (thc) content in hemp (cannabis sativa l.) leaves at different positions. *J Int Hemp Assoc*. 1997; 4 (2): 78-79.
- Bouali, M. Kenevir (*cannabis sativa*) bitkisinde bulunan majör kannabinoidlerin tanımlanması ve ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyonu. Akdeniz Üniversitesi, (Yüksek Lisans Tezi), 2021,

- Brighenti, V., Pellati, F., Steinbach, M., Maran, D., & Benvenuti, S. Development of a new extraction technique and hplc method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type cannabis sativa l.(hemp). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017; 143: 228-236.
- Burke, C. C., Wildung, M. R., & Croteau, R. Geranyl diphosphate synthase: Cloning, expression, and characterization of this prenyltransferase as a heterodimer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999; 96 (23): 13062-13067.
- Campbell, L. G., Dufresne, J., & Sabatinos, S. A. Cannabinoid inheritance relies on complex genetic architecture. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2020; 5 (1): 105-116.
- Citti, C., Ciccarella, G., Braghiroli, D., Parenti, C., Vandelli, M. A., & Cannazza, G. Medicinal cannabis: Principal cannabinoids concentration and their stability evaluated by a high performance liquid chromatography coupled to diode array and quadrupole time of flight mass spectrometry method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016; 128: 201-209.
- Clarke, R. C. Marijuana botany: An advanced study: The propagation and breeding of distinctive cannabis: Ronin Publishing; 1981, p:
- Clarke, R. C. Botany of the genus cannabis: Haworth Press, Binghamton, NY; 1999, p:
- Clarke, R. C., & Merlin, M. D. Cannabis domestication, breeding history, present-day genetic diversity, and future prospects. *Critical reviews in plant sciences*. 2016; 35 (5-6): 293-327.
- Clarke, R. C., & Watson, D. P. (2007). Cannabis and natural cannabis medicines. In *Marijuana and the cannabinoids* (pp. 1-15): Springer.
- Cosentino, S. L., Testa, G., Scordia, D., & Copani, V. Sowing time and prediction of flowering of different hemp (cannabis sativa l.) genotypes in southern europe. *Industrial Crops and Products*. 2012; 37 (1): 20-33.
- Dayanandan, P., & Kaufman, P. B. Trichomes of cannabis sativa l.(cannabaceae). *American Journal of Botany*. 1976; 63 (5): 578-591.
- De Backer, B., Debrus, B., Lebrun, P., Theunis, L., Dubois, N., Decock, L., . . . Charlier, C. Innovative development and validation of an hplc/dad method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material. *Journal of Chromatography B*. 2009; 877 (32): 4115-4124.
- De Meijer, E. P. The chemical phenotypes (chemotypes) of cannabis. *Handbook of cannabis*. 2014; 89: 110.
- De Meijer, E. P., Bagatta, M., Carboni, A., Crucitti, P., Moliterni, V. C., Ranalli, P., & Mandolino, G. The inheritance of chemical phenotype in cannabis sativa l. *Genetics*. 2003; 163 (1): 335-346.
- de Oliveira, G., Voloch, M., Sztulman, G., Neto, O., & Yonamine, M. Cannabinoid contents in cannabis products seized in sao paulo. Brazil. 2006; 2007: 31-35.
- De Petrocellis, L., Ligresti, A., Schiano Moriello, A., Iappelli, M., Verde, R., Stott, C. G., . . . Di Marzo, V. Non-thc cannabinoids inhibit prostate carcinoma growth in vitro and in vivo: Pro-apoptotic effects and underlying mechanisms. *Br J Pharmacol*. 2013; 168 (1): 79-102.
- Degenhardt, F., Stehle, F., & Kayser, O. (2017). The biosynthesis of cannabinoids. In *Handbook of cannabis and related pathologies* (pp. 13-23): Elsevier.
- Deidda, R., Avohou, H. T., Baronti, R., Davolio, P. L., Pasquini, B., Del Bubba, M., . . . Furlanetto, S. Analytical quality by design: Development and control strategy for

- a lc method to evaluate the cannabinoids content in cannabis olive oil extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2019; 166: 326-335.
- Dewey, L. H. Hemp varieties of improved type are result of selection. 1927.
- ElSohly, M. A., & Slade, D. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. *Life sciences*. 2005; 78 (5): 539-548.
- Emboden, W. A. Cannabis: A polytypic genus. *Economic Botany*. 1974; 28 (3): 304-310.
- Faegri, K., Kaland, P. E., & Krzywinski, K. Textbook of pollen analysis: John Wiley & Sons Ltd.; 1989, p:
- Faux, A.-M., Draye, X., Lambert, R., d'Andrimont, R., Raulier, P., & Bertin, P. The relationship of stem and seed yields to flowering phenology and sex expression in monoecious hemp (*cannabis sativa l.*). *European journal of agronomy*. 2013; 47: 11-22.
- Fetterman, P. S., Keith, E. S., Waller, C. W., Guerrero, O., Doorenbos, N. J., & Quimby, M. W. Mississippi-grown cannabis sativa l.: Preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex, and plant part. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1971; 60 (8): 1246-1249.
- Fidan, M., & Karaismailoğlu, C. M. (2020). Kenevirin tarihçesi ve sistematigi. In *Kenevir (cannabis sativa l.)* (pp. 1-14): Palme.
- Fike, J. Industrial hemp: Renewed opportunities for an ancient crop. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2016; 35 (5-6): 406-424.
- Flores-Sanchez, I. J., & Verpoorte, R. Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry reviews*. 2008; 7 (3): 615-639.
- Galal, A. M., Slade, D., Gul, W., El-Alfy, A. T., Ferreira, D., & Elsohly, M. A. Naturally occurring and related synthetic cannabinoids and their potential therapeutic applications. *Recent Patents on CNS Drug Discovery (Discontinued)*. 2009; 4 (2): 112-136.
- Gerard, J. The herball or generall historie of plantes: Norton, John; 1597, p:
- Glawe, G. A., & de Jong, T. J. Environmental conditions affect sex expression in monoecious, but not in male and female plants of *urtica dioica*. *Sexual plant reproduction*. 2005; 17 (5): 253-260.
- Gonçalves, J., Rosado, T., Soares, S., Simão, A. Y., Caramelo, D., Luís, Â., . . . Duarte, A. P. Cannabis and its secondary metabolites: Their use as therapeutic drugs, toxicological aspects, and analytical determination. *Medicines (Basel)*. 2019; 6 (1).
- Grassi, G., & McPartland, J. M. (2017). Chemical and morphological phenotypes in breeding of cannabis sativa l. In *Cannabis sativa l.-botany and biotechnology* (pp. 137-160): Springer.
- Guzman, M. Cannabinoids: Potential anticancer agents. *Nature reviews cancer*. 2003; 3 (10): 745-755.
- Gün, M. Türkiye kenevir (*cannabis sativa l.*) genotiplerinin morfolojik karakterizyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, (Yüksek Lisans Tezi), 2019,
- Hädener, M., König, S., & Weinmann, W. Quantitative determination of cbd and thc and their acid precursors in confiscated cannabis samples by hplc-dad. *Forensic Science International*. 2019; 299: 142-150.
- Hammond, C. T., & Mahlberg, P. G. Morphology of glandular hairs of cannabis sativa from scanning electron microscopy. *American journal of botany*. 1973; 60 (6): 524-528.

- Hammond, C. T., & Mahlberg, P. G. Morphogenesis of capitate glandular hairs of cannabis sativa (cannabaceae). American journal of botany. 1977; 64 (8): 1023-1031.
- Hampson, A. J., Grimaldi, M., Axelrod, J., & Wink, D. Cannabidiol and (-)-delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998; 95 (14): 8268-8273.
- Hand, A. M., Blake, A. M., Kerrigan, P. B., Samuel, P., & Friedberg, J. P. History of medical cannabis. Journal of Pain Management. 2016; 9 (4): 387-394.
- Happyana, N., Agnolet, S., Muntendam, R., Van Dam, A., Schneider, B., & Kayser, O. Analysis of cannabinoids in laser-microdissected trichomes of medicinal cannabis sativa using lcms and cryogenic nmr. Phytochemistry. 2013; 87: 51-59.
- Hayward, H. E. The structure of economic plants (Vol. 48): LWW; 1939, p:
- Hazekamp, A., Tejkalová, K., & Papadimitriou, S. Cannabis: From cultivar to chemovar ii—a metabolomics approach to cannabis classification. Cannabis and Cannabinoid Research. 2016; 1 (1): 202-215.
- Hazekamp, A., & Verpoorte, R. Structure elucidation of the tetrahydrocannabinol complex with randomly methylated β -cyclodextrin. european journal of pharmaceutical sciences. 2006; 29 (5): 340-347.
- Hemphill, J. K., Turner, J. C., & Mahlberg, P. G. Cannabinoid content of individual plant organs from different geographical strains of cannabis sativa l. Journal of Natural Products. 1980; 43 (1): 112-122.
- Hernandez, A., Westerhuis, W., & van Dam, J. E. Microscopic study on hemp bast fibre formation. Journal of Natural Fibers. 2007; 3 (4): 1-12.
- Hirata, K. Cytological basis of the sex determination in cannabis sativa l. Japan Journal of Genetics. 1924; 4: 198-201.
- Hirata, K. Sex determination in hemp (cannabis sativa l.). Journal of Genetics. 1927; 19 (1): 65-79.
- Jiang, H.-E., Li, X., Zhao, Y.-X., Ferguson, D. K., Hueber, F., Bera, S., . . . Li, C.-S. A new insight into cannabis sativa (cannabaceae) utilization from 2500-year-old yanghai tombs, xinjiang, china. Journal of ethnopharmacology. 2006; 108 (3): 414-422.
- Kim, E. S., & Mahlberg, P. G. Immunochemical localization of tetrahydrocannabinol (thc) in cryofixed glandular trichomes of cannabis (cannabaceae). American Journal of botany. 1997; 84 (3): 336-342.
- Kimura, M., & Okamoto, K. Distribution of tetrahydrocannabinolic acid in fresh wild cannabis. Experientia. 1970; 26 (8): 819-820.
- Koçer, T. Tokat-kazova şartlarında bazı kenevir (*cannabis sativa l.*) çeşit ve popülasyonlarının bitkisel ve verim özelliklerinin belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, (Yüksek lisans Tezi), 2022,
- Kojoma, M., Seki, H., Yoshida, S., & Muranaka, T. DNA polymorphisms in the tetrahydrocannabinolic acid (thca) synthase gene in “drug-type” and “fiber-type” cannabis sativa l. Forensic science international. 2006; 159 (2-3): 132-140.
- Kovalchuk, I., Pellino, M., Rigault, P., van Velzen, R., Ebersbach, J., Ashnest, J. R., . . . Sharbel, T. F. The genomics of cannabis and its close relatives. Annu Rev Plant Biol. 2020; 71: 713-739.
- Kuddus, M., Ginawi, I. A., & Al-Hazimi, A. Cannabis sativa: An ancient wild edible plant of india. Emirates Journal of Food and Agriculture. 2013: 736-745.

- Lastres-Becker, I., Molina-Holgado, F., Ramos, J. A., Mechoulam, R., & Fernández-Ruiz, J. Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: Relevance to parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2005; 19 (1-2): 96-107.
- Li, H.-L. An archaeological and historical account of cannabis in china. *Economic Botany.* 1974; 28 (4): 437-448.
- Liu, Y., Zhu, P., Cai, S., Haughn, G., & Page, J. E. Three novel transcription factors involved in cannabinoid biosynthesis in cannabis sativa l. *Plant Molecular Biology.* 2021; 106 (1): 49-65.
- Lozano, I. The therapeutic use of cannabis sativa (l.) in arabic medicine. *Journal of Cannabis Therapeutics.* 2001; 1 (1): 63-70.
- Mahdizadeh, S., Ghadiri, M. K., & Gorji, A. Avicenna's canon of medicine: A review of analgesics and anti-inflammatory substances. *Avicenna journal of phytomedicine.* 2015; 5 (3): 182.
- Mahlberg, P. G., & Kim, E. S. Accumulation of cannabinoids in glandular trichomes of cannabis (cannabaceae). *Journal of Industrial Hemp.* 2004; 9 (1): 15-36.
- Mandolino, G., Carboni, A., Forapani, S., Faeti, V., & Ranalli, P. Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (cannabis sativa l.). *Theoretical and applied genetics.* 1999; 98 (1): 86-92.
- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., & Bonner, T. I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cdna. *Nature.* 1990; 346 (6284): 561-564.
- Mert, M. *Lif bitkileri: Nobel Yayın Dağıtım;* 2009, p:
- Mikuriya, T. H. Marijuana in medicine: Past, present and future. *Calif Med.* 1969; 110 (1): 34-40.
- Ming, R., Bendahmane, A., & Renner, S. S. Sex chromosomes in land plants. *Annual review of plant biology.* 2011; 62 (1): 485-514.
- Munro, S., Thomas, K. L., & Abu-Shaar, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 1993; 365 (6441): 61-65.
- Muntendam, R., Happyana, N., Erkelens, T., Bruining, F., & Kayser, O. Time dependent metabolomics and transcriptional analysis of cannabinoid biosynthesis in cannabis sativa var. Bedrobinol and bediol grown under standardized condition and with genetic homogeneity. *Online Int. J. Med. Plant Res.* 2012; 1 (2): 31-40.
- Namlı, S., Işıkalın, Ç., & Akbaş, F. (2020). Kenevirin biyolojik özellikleri. In *Kenevir (cannabis sativa l.)* (pp. 31-43): Palme.
- Nassonov, V. Anatomical characteristics of the geographical races of hemp. *Vestnik sotsialisticheskogo rastenievodstva.* 1940; (4): 107-120.
- Neuer, H., & Sengbusch, R. v. Die geschlechtsvererbung bei hanf und die züchtung eines monöcischen hanfes. *Der Züchter (Zeitschrift für theoretische und angewandte Genetik).* 1943; 15 (3): 49-62.
- Pacifico, D., Miselli, F., Carboni, A., Moschella, A., & Mandolino, G. Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of cannabis sativa l. *Euphytica.* 2008; 160 (2): 231-240.
- Paslı, R. Bazı yerli kenevir (cannabis sativa l.) genotiplerinin verim durumu ile morfolojik, fizyolojik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi, (Yüksek Lisans Tezi),* 2021,
- Pellati, F., Borgonetti, V., Brighenti, V., Biagi, M., Benvenuti, S., & Corsi, L. Cannabis sativa l. And nonpsychoactive cannabinoids: Their chemistry and role against

- oxidative stress, inflammation, and cancer. *BioMed research international*. 2018; 2018.
- Piomelli, D., & Russo, E. B. The cannabis sativa versus cannabis indica debate: An interview with ethan russo, md. *Cannabis and cannabinoid research*. 2016; 1 (1): 44-46.
- Pisanti, S., Malfitano, A. M., Ciaglia, E., Lamberti, A., Ranieri, R., Cuomo, G., . . . Bifulco, M. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology & Therapeutics*. 2017; 175: 133-150.
- Posselt, U. K. (2010). Breeding methods in cross-pollinated species. In *Fodder crops and amenity grasses* (pp. 39-87): Springer.
- Potter, D. The propagation, characterisation and optimisation of cannabis sativa l as a phytopharmaceutical. King's College London, 2009,
- Potter, G., & Bouchard, M. (2011). The globalization of cannabis cultivation world wide weed global trends cannabis cultivation its control ed t decorte et al. In: New York: Routledge.
- Punja, Z. K., & Holmes, J. E. Hermaphroditism in marijuana (cannabis sativa l.) inflorescences—impact on floral morphology, seed formation, progeny sex ratios, and genetic variation. *Frontiers in Plant Science*. 2020: 718.
- Raman, V., Lata, H., Chandra, S., Khan, I. A., & ElSohly, M. A. (2017). Morpho-anatomy of marijuana (cannabis sativa l.). In *Cannabis sativa l.-botany and biotechnology* (pp. 123-136): Springer.
- Razumova, O. V., Alexandrov, O. S., Divashuk, M. G., Sukhorada, T. I., & Karlov, G. I. Molecular cytogenetic analysis of monoecious hemp (cannabis sativa l.) cultivars reveals its karyotype variations and sex chromosomes constitution. *Protoplasma*. 2016; 253 (3): 895-901.
- Richins, R. D., Rodriguez-Urbe, L., Lowe, K., Ferral, R., & O'Connell, M. A. Accumulation of bioactive metabolites in cultivated medical cannabis. *PloS one*. 2018; 13 (7): e0201119.
- Ross, S. A., Mehmedic, Z., Murphy, T. P., & ElSohly, M. A. Gc-ms analysis of the total δ^9 -thc content of both drug-and fiber-type cannabis seeds. *Journal of analytical toxicology*. 2000; 24 (8): 715-717.
- Sakamoto, K., Abe, T., Matsuyama, T., Yoshida, S., Ohmido, N., Fukui, K., & Satoh, S. Rapd markers encoding retrotransposable elements are linked to the male sex in cannabis sativa l. *Genome*. 2005; 48 (5): 931-936.
- Sakamoto, K., Akiyama, Y., Fukui, K., Kamada, H., & Satoh, S. Characterization; genome sizes and morphology of sex chromosomes in hemp (cannabis sativa l.). *Cytologia*. 1998; 63 (4): 459-464.
- Sakamoto, K., Shimomura, K., Komeda, Y., Kamada, H., & Satoh, S. A male-associated DNA sequence in a dioecious plant, cannabis sativa l. *Plant and Cell Physiology*. 1995; 36 (8): 1549-1554.
- Schultes, R. E. Man and marijuana: Thousands of years before it became the superstar of the drug culture, cannabis was cultivated for fiber, food, and medicine: American Museum of Natural History; 1973, p:
- Schultz, C. J., Lim, W. L., Khor, S. F., Neumann, K. A., Schulz, J. M., Ansari, O., . . . Burton, R. A. Consumer and health-related traits of seed from selected commercial and breeding lines of industrial hemp, cannabis sativa l. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2020; 2: 100025.

- Shimomura, H., Shigehiro, M., Kuriyama, E., & Fujita, M. Studies on cannabis. I. Microscopical character of its internal morphology and spodogram. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 1967; 87 (11): 1334-1341.
- Shoyama, Y., Tamada, T., Kurihara, K., Takeuchi, A., Taura, F., Arai, S., . . . Kuroki, R. Structure and function of Δ^1 -tetrahydrocannabinolic acid (thca) synthase, the enzyme controlling the psychoactivity of cannabis sativa. *Journal of molecular biology*. 2012; 423 (1): 96-105.
- Sirikantaramas, S., Morimoto, S., Shoyama, Y., Ishikawa, Y., Wada, Y., Shoyama, Y., & Taura, F. The gene controlling marijuana psychoactivity: Molecular cloning and heterologous expression of δ^1 -tetrahydrocannabinolic acid synthase from cannabis sativa l. *Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279 (38): 39767-39774.
- Sirikantaramas, S., & Taura, F. (2017). Cannabinoids: Biosynthesis and biotechnological applications. In *Cannabis sativa l.-botany and biotechnology* (pp. 183-206): Springer.
- Sirikantaramas, S., Taura, F., Tanaka, Y., Ishikawa, Y., Morimoto, S., & Shoyama, Y. Tetrahydrocannabinolic acid synthase, the enzyme controlling marijuana psychoactivity, is secreted into the storage cavity of the glandular trichomes. *Plant and Cell Physiology*. 2005; 46 (9): 1578-1582.
- Small, E. Cannabis: A complete guide: CRC Press; 2016, p:
- Small, E., & Brookes, B. Temperature and moisture content for storage maintenance of germination capacity of seeds of industrial hemp, marijuana, and ditchweed forms of cannabis sativa. *Journal of Natural Fibers*. 2012; 9 (4): 240-255.
- Small, E., & Cronquist, A. A practical and natural taxonomy for cannabis. *Taxon*. 1976: 405-435.
- Small, E., & Naraine, S. G. Size matters: Evolution of large drug-secreting resin glands in elite pharmaceutical strains of cannabis sativa (marijuana). *Genetic resources and crop evolution*. 2016; 63 (2): 349-359.
- Small, E., Pocock, T., & Cavers, P. The biology of canadian weeds. 119. Cannabis sativa l. *Canadian journal of plant science*. 2003; 83 (1): 217-237.
- Solinas, M., Massi, P., Cinquina, V., Valenti, M., Bolognini, D., Gariboldi, M., . . . Parolaro, D. Cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid compound, inhibits proliferation and invasion in u87-mg and t98g glioma cells through a multitarget effect. *PLoS One*. 2013; 8 (10): e76918.
- Srivastava, A., & Yadav, V. K. Microscopical and chemical study of cannabis sativa. *J Forensic Res*. 2013; 5 (1): 210.
- Staginnus, C., Zörntlein, S., & de Meijer, E. A pcr marker linked to a thca synthase polymorphism is a reliable tool to discriminate potentially thc-rich plants of cannabis sativa l. *Journal of forensic sciences*. 2014; 59 (4): 919-926.
- Stefanidou, M., Dona, A., Athanaselis, S., Papoutsis, I., & Koutselinis, A. The cannabinoid content of marihuana samples seized in greece and its forensic application. *Forensic Science International*. 1998; 95 (2): 153-162.
- Stout, J. M., Boubakir, Z., Ambrose, S. J., Purves, R. W., & Page, J. E. The hexanoyl-coa precursor for cannabinoid biosynthesis is formed by an acyl-activating enzyme in cannabis sativa trichomes. *Plant J*. 2012; 71 (3): 353-365.
- Şakar, H. Tokat kazova şartlarında İkinci ürün kenevir (*cannabis sativa* var. *Sativa*) yetiştiriciliğinde farklı ekim sıklıklarının verim ve kalite özelliklerine etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, (Yüksek Lisans Tezi), 2022,

- Taura, F., Morimoto, S., & Shoyama, Y. Purification and characterization of cannabidiolic-acid synthase from cannabis sativa l.: Biochemical analysis of a novel enzyme that catalyzes the oxidocyclization of cannabigerolic acid to cannabidiolic acid. *Journal of Biological Chemistry*. 1996; 271 (29): 17411-17416.
- Taura, F., Morimoto, S., Shoyama, Y., & Mechoulam, R. First direct evidence for the mechanism of. Delta. 1-tetrahydrocannabinolic acid biosynthesis. *Journal of the American Chemical Society*. 1995; 117 (38): 9766-9767.
- Taura, F., Sirikantaramas, S., Shoyama, Y., Yoshikai, K., Shoyama, Y., & Morimoto, S. Cannabidiolic-acid synthase, the chemotype-determining enzyme in the fiber-type cannabis sativa. *FEBS letters*. 2007; 581 (16): 2929-2934.
- Tettey, J. Recommended methods for the identification and analysis of cannabis and cannabis products. New York: United Nations Office on Drugs and Crime Vienna United Nations. 2009.
- Tippo, O. Comparative anatomy of the moraceae and their presumed allies. *Botanical Gazette*. 1938; 100 (1): 1-99.
- Touw, M. The religious and medicinal uses of cannabis in china, india and tibet. *Journal of psychoactive drugs*. 1981; 13 (1): 23-34.
- Törjék, O., Bucherna, N., Kiss, E., Homoki, H., Finta-Korpelevá, Z., Bócsa, I., . . . Heszky, L. E. Novel male-specific molecular markers (madc5, madc6) in hemp. *Euphytica*. 2002; 127 (2): 209-218.
- Turner, C. E., Elsohly, M. A., Cheng, P. C., & Lewis, G. Constituents of cannabis sativa l., xiv: Intrinsic problems in classifying cannabis based on a single cannabinoid analysis. *Journal of Natural Products*. 1979; 42 (3): 317-319.
- Van Bakel, H., Stout, J. M., Cote, A. G., Tallon, C. M., Sharpe, A. G., Hughes, T. R., & Page, J. E. The draft genome and transcriptome of cannabis sativa. *Genome biology*. 2011; 12 (10): 1-18.
- Van Dam, J., & Gorshkova, T. Plant growth and development: Plant fiber formation, chapter ms 46. *Encyclopedia of applied plant sciences*. Elsevier, Amsterdam. 2003.
- Vyskot, B., & Hobza, R. The genomics of plant sex chromosomes. *Plant Science*. 2015; 236: 126-135.
- Warf, B. High points: An historical geography of cannabis. *Geographical Review*. 2014; 104 (4): 414-438.
- Werker, E. Trichome diversity and development. 2000.
- Westergaard, M. The mechanism of sex determination in dioecious flowering plants. *Advances in genetics*. 1958; 9: 217-281.
- Yamauchi, T., Shoyama, Y., Aramaki, H., Azuma, T., & Nishioka, I. Tetrahydrocannabinolic acid, a genuine substance of tetrahydrocannabinol. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1967; 15 (7): 1075-1076.
- Yotoriyama, M., Ito, I., Takashima, D., Shoyama, Y., & Nishioka, I. Plant breeding of cannabis. Determination of cannabinoids by high-pressure liquid chromatography (author's transl). *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 1980; 100 (6): 611-614.
- Zhang, Q., Chen, X., Guo, H., Trindade, L. M., Salentijn, E. M., Guo, R., . . . Yang, M. Latitudinal adaptation and genetic insights into the origins of cannabis sativa l. *Frontiers in plant science*. 2018; 9: 1876.

- Zivovinic, S., Alder, R., Allenspach, M. D., & Steuer, C. Determination of cannabinoids in cannabis sativa l. Samples for recreational, medical, and forensic purposes by reversed-phase liquid chromatography-ultraviolet detection. *Journal of Analytical Science and Technology*. 2018; 9 (1): 1-10.
- Zuardi, A. W. History of cannabis as a medicine: A review. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2006; 28: 153-157.



ÖZGEÇMİŞ

ENES GÜLMEZ

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2019-2023	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji ABD, Antalya
Lisans 2014-2019	Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

Babacan, Ü., Cengiz, M. F., Bouali, M., Tongur, T., Mutlu, S. S., & Gülmez, E. Determination, solvent extraction, and purification of artemisinin from artemisia annua l. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 2022; 28: 100363.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

Babacan Ü., Boualı M., Gülmez E., Al Bayatı M. H. M., Cengiz M. F. “Investigation of the ef fects of the extract obtained from Cannabis sativa L. obtained by supercritical carbon dioxide extraction method on A549 and SKMEL30 cel lines”, 10th Drug Chemistry Conference, Antalya, Türkiye, 10- 12 Mart 2022, ss.161