

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

10.3100.0000.006

(DOKTORA TEZİ)

77547

77547

SOĞAN TOHUMLARINDA

YAŞLANMA VE YAŞLANMAYLA OLUŞAN

VİGOR KAYITLARININ İYİLEŞTİRİLMESİ

Hülya İlbi

1998-İZMİR

100% CANTONMENT HOTEL

Hülya İLBİ'nin DOKTORA TEZİ olarak hazırladığı "Soğan Tohumlarında Yaşlanma ve Yaşlanma ile Oluşan Vigor Kayıplarının İyileştirilmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisans Üstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

26 /10/ 1998

Adı, Soyadı

Başkan, Prof. Dr. Benian ESER

Üye, Prof. Dr. Hüseyin VURAL

Üye, Doç. Dr. İbrahim DEMİR

İmza

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun 23 /11 / 98 gün ve 46 /36 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Süleyman BORUZANLI
Enstitü Sekreteri

Prof. Dr. İsmet ERTAŞ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Soğan Tohumlarında Yaşlanma ve Yaşlanmayla Oluşan Vigor Kayıplarının İyileştirilmesi

Bu çalışmada, canlılığını kısa sürede kaybeden soğan tohumlarında farklı depo sıcaklığı ve tohum neminde depolanmasıyla zamana bağlı olarak meydana gelen metabolik esaslı değişimleri incelemek suretiyle yaşlanmanın seyrinin ortaya konması ve tohumlara uygulanacak bazı ön uygulamalarla yaşlanmanın kontrol edilip edilmeyeceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 5°C ve 30°C'de %6, %9 ve %12 nem içeriklerinde bir yıl depolanan Teksas Early Grano soğan çeşidi tohumlarında, çimlenme gücü, fide oluşum oranı, düşük sıcaklıkta sürme gücü, ortalama çimlenme zamanı, anormal fide oranı, tohumdan sızan maddeler yanısıra tohum proteinleri, depo yağ ve yağ asitleri ile şeker içeriklerindeki değişimler araştırılmıştır. Ayrıca 15 aylık depolama sonunda, depolama koşullarına bağlı olarak kök ucu kromozom anormalliklerindeki değişim incelenmiştir.

5°C sıcaklıkta depolanan her üç tohum nemine sahip tohumlarda, depolama süresince çimlenme ve fide oluşumunda önemli değişimler olmazken, 30°C'de depolananlarda tohum neminin artışıyla çimlenme ve fide oluşum oranı önemli oranda azalmıştır. %9 ve %12 nem içeriğindeki tohumlar sırasıyla, depolamanın 8. ve 3.ayından sonra canlılıklarını kaybetmişlerdir. Canlılık ve vigor (tohum gücü) kayıplarının olduğu yüksek sıcaklık ve tohum neminde depolanan tohumların protein ve şeker içerikleri de büyük oranda azalmıştır.

15 aylık depolama sonunda tohumun canlılığını sürdürebildiği koşullardan 30°C'de %6 nem içeriğindeki tohumlarda kromozom anormallikleri en fazla olmuştur. 5°C'de depolananlarda ise tohum neminin azalmasıyla kromozom anormallikleri artmıştır.

Yaşlanmanın kontrol edilebilmesi için soğan tohumlarında farklı ön uygulamaların etkinliğinin araştırıldığı deneme sonunda, yaşlanma öncesi uygulamaların yaşlanma sonrası uygulamalara nazaran canlılık ve vigor kaybını azaltmada daha etkili olduğu belirlenmiştir. Yaşlanma öncesi uygulamalardan ise 0.1M KNO₃ ve 0.1M KH₂PO₄ uygulamalarının, yaşlanmayı kontrol etmede en çok etkide bulunduğu saptanmıştır.

Depolama öncesi her iki potasyum tuzu uygulamaları (KNO_3 ve KH_2PO_4) kontrole nazaran tohumların şeker ve protein içeriğini arttırmıştır. Ayrıca depolama süresince protein içeriğindeki azalma, bu uygulamalarla daha az oranda olmuştur. 5°C 'de depolananlarda potasyum tuzu uygulamalarının çimlenme ve fide oluşumunu artırıcı etkileri görülmezken, 30°C 'de %9 ve %12 nem içeriğindeki tohumlarda pozitif etkide bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm depolama koşullarında görülen kromozom anormallikleri, potasyum uygulamalarıyla azaltılmıştır.

Anahtar Kelimeler: yaşlanma, soğan tohumu, fizyolojik ve metabolik değişimler, ön uygulama, yaşlanmanın kontrolü.

ABSTRACT

Some Changes Related to Loss of Viability in Aged Onion Seed and Controlling of Ageing Process Using Priming Treatments

The main objectives of this study were to clarify the ageing process in onion seeds, which are short lived, by investigation of some metabolic changes during storage at different temperatures and seed moisture contents and to determine the possibility of controlling the ageing process using some pre-treatments (priming) and hydration treatments. With this purpose, some physiological (germination rate, seedling growth, percentage of abnormal seedling and leakage of some solutes from seeds) and metabolic changes (total protein, lipid, fatty acids and sugar content) were investigated in onion seeds cv. Texas Early Grano stored for a year at various combinations of moisture content (6%, 9% and 12%) and temperature (5°C and 30°C).

The decline of germination percentage and seedling growth were not statistically significant in onion seeds stored at 5°C. The increase of seed moisture content at 30°C decreased the percentage of germination and seedling growth, significantly. In addition, seed possessing 9% and 12% moisture contents and held at 30°C lost their viability completely after 8 and 3 months of storage, respectively. High storage temperature (30°C) and seed moisture content increased loss of viability and vigour, and decreased total protein and sugar contents in seed during ageing.

Frequency of chromosome aberration in seeds stored at 6% moisture content and 30°C was the most. The decrease of seed moisture content at 5°C increased the chromosome aberration.

As a result of different pre-treatments which were applied onion seeds before and after ageing, it was found that some pre-treatments, especially 0.1M KNO₃ and 0.1M KH₂PO₄ pre-storage treatments delayed loss of viability due to ageing, but all post-storage pre-treatments had no effect on viability.

KNO₃ and KH₂PO₄ treatments before storage increased the total protein and sugar content of seeds compared to control. In addition, the decrease in the protein content during storage was comparatively slower

VI

in the potassium treated seeds. Potassium treatments in seeds stored at 5°C had no effect on germination and seedling growth, while these treatments were found to have positive effect in seeds at 9% and 12% moisture content and 30°C.

Chromosomal aberrations were decreased by potassium treatments under all storage conditions after 15 months of storage.

Key Words: ageing, onion seed, physiological and metabolic changes, pre-treatments, control of ageing.



Teşekkür

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinden yazımına kadar geçen her aşamasında yol gösterici fikirleri ve yardımlarıyla beni yönlendiren değerli hocam Prof.Dr. Benian ESER'e, istatistiki değerlendirmelerde yardımlarını aldığım Dr. Özlem TUNCAY ve Dr. Eftal DÜZYAMAN'a ve emeği geçen tüm Bahçe Bitkileri Bölümü ve Merkez Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmama maddi destek sağlayan Ege Üniversitesi Araştırma Fon Yönetim Kurulu'na teşekkür ederim. Ayrıca araştırmalarımnda kullandığım soğan tohumlarının teminini sağlayan AGROMAR Tohumculuk A.Ş. ve yapılan analizlerin bir kısmında maddi destek sağlayan ÇAĞDAŞ Tohumculuk A.Ş.'ye teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında göstermiş oldukları anlayış ve fedakarlıktan dolayı aileme teşekkürü borç bilirim.

Hülya İLBİ
İzmir, 1998

İÇİNDEKİLER

ÖZET	III
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ.....	3
2.1. Canlılık ve Vigoru Etkileyen Faktörler	3
2.2. Depolama Koşullarının Canlılık ve Vigora Etkisi.....	4
2.3. Tohumda Canlılık Kaybıyla Meydana Gelen Değişimler.....	11
2.3.1. Morfolojik değişimler	11
2.3.2. Hücresel değişiklikler	13
2.3.2.1. Hücre içindeki ince yapılarda (ultrasitruktürel)	
değişimler.....	13
2.3.2.2. Hücre membranındaki değişimler	16
2.3.3. Biyokimyasal değişimler.....	21
2.3.3.1. Yağlardaki değişim ve lipid peroksidasyonu	21
2.3.3.2. Protein ve enzimlerdeki değişimler.....	33
2.3.3.3. DNA'daki değişimler ve kromozom anormallikleri	38
2.3.3.4. Karbonhidratlardaki değişimler	42
2.3.3.5. Hormon ve uçucu bileşiklerdeki değişimler.....	44
2.4. Tohumda Yaşlanmayla Oluşan Zararlanmaları İyileştirici	
Uygulamalar	47
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER	57
3.1. Materyal.....	58
3.2. Yöntem	58
3.2.1. Tohum uygulamaları ve uygulama dönemi etkinliklerinin	
belirlemesine yönelik deneme (Deneme 1)	59

İÇİNDEKİLER (devam)

3.2.2. Soğan tohumlarında yaşlanmayla meydana gelen değişimlerin belirlenmesine yönelik deneme (Deneme 2)	61
3.2.3. Soğan tohumlarında depolama öncesi uygulamaların depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmayı kontrol edici etkilerinin araştırıldığı deneme (Deneme 3)	63
3.2.4. Analiz yöntemleri	64
3.2.4.1. Tohum neminin saptanması	64
3.2.4.2. Tohum neminin ayarlanması.....	64
3.2.4.3. Kontrollü yaşlandırma uygulaması	65
3.2.4.4. Çimlenme testleri	66
3.2.4.5. Fide oluşum oranlarının belirlenmesi	67
3.2.4.6. Düşük sıcaklıkta sürme testleri	71
3.2.4.7. Tohumdan madde sızıntısının belirlenmesi	71
3.2.4.8. Total protein tayini.....	73
3.2.4.9. Total yağ tayini	74
3.2.4.10. Total yağ asidi içeriğinin belirlenmesi	74
3.2.4.11. Total şeker miktarının belirlenmesi	75
3.2.4.12. Tetrazolium testi	77
3.2.4.13. Sitolojik çalışmalar	77
3.2.4.14. İstatistiki değerlendirme.....	80
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	81
4.1. Tohum Uygulamaları ve Uygulama Dönemi Etkinliklerinin Belirlenmesine Yönelik Deneme (Deneme 1) Bulguları.....	81
4.1.1. Yaşlanma öncesi uygulama etkinlikleri	81
4.1.2. Yaşlanma sonrası uygulama etkinlikleri	85
4.1.3. Deneme 1 bulgularının değerlendirilmesi.....	88
4.2. Soğan Tohumlarında Yaşlanmayla Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesine Yönelik Deneme (Deneme 2) Bulguları.....	93
4.2.1. Canlılık ve vigordaki değişimler.....	93
4.2.1.1. Çimlenme gücündeki değişimler.....	94
4.2.1.2. Tetrazolium testi ile tohum canlılığındaki değişim.....	97

İÇİNDEKİLER (devam)

4.2.1.3. Ortalama çimlenme zamanındaki değişim	101
4.2.1.4. Fide oluşum oranındaki değişimler (KFOO ve PFOO).....	104
4.2.1.5. Stres koşulunda sürme gücündeki değişimler	106
4.2.1.6. Anormal fide oluşumundaki değişim	109
4.2.1.7. Koleoptil uzunluğu, yaş ağırlığı ve kuru ağırlığındaki değişim.....	112
4.2.1.8. Tohumdan sızan madde miktarındaki değişim.....	115
4.2.2. Tohum metabolitlerindeki değişim	127
4.2.2.1. Tohumların protein içeriğindeki değişim	127
4.2.2.2. Tohumların yağ ve yağ asidi içeriğindeki değişimler	132
4.2.2.3. Şeker içeriklerindeki değişim.....	136
4.2.3. Kromozom anormalliklerinde değişim	139
4.3. Soğan Tohumlarında Depolama Öncesi Uygulamaların Depolama Koşullarına Bağlı Olarak Yaşlanmayı Kontrol Edici Etkilerinin Araştırıldığı Deneme (Deneme 3) Bulguları	144
4.3.1. Tohum canlılığı ve vigorundaki değişimler	144
4.3.1.1. Çimlenme gücündeki değişim	145
4.3.1.2. Ortalama çimlenme zamanındaki değişim	151
4.3.1.3. Petride fide oluşum oranları (PFOO)	154
4.3.1.4. Düşük sıcaklıkta sürme gücü	160
4.3.1.5. Anormal fide oluşumundaki değişim	165
4.3.1.7. Tohumdan sızan madde miktarındaki değişim.....	167
4.3.2. Tohum metabolitlerindeki değişim	178
4.3.2.1. Tohumların protein içeriğindeki değişim	178
4.3.2.2. Tohumların şeker içeriğindeki değişim.....	181
4.3.3. Kromozom anormalliklerindeki değişim	183
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	187
KAYNAKLAR DİZİNİ	193
ÖZGEÇMİŞ	204

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Soya fasulyesinde depo sıcaklığına bağlı olarak tohumdaki suyun faz değişimi. a:öldürücü olmayan donmuş küçük kristaller; b:öldürücü donmuş büyük kristaller	8
Şekil 2.2	İki katmanlı membran lipidi yapısı.....	16
Şekil 2.3	Hücre membranda sıvı-kristalin fazı ve jel fazının şematizesi.	23
Şekil 2.4	Wilson and McDonald'ın (1986) geliştirdikleri tohum yaşlanmasındaki lipid peroksidasyon modeli.	25
Şekil 2.5	Depolama koşulların göre lipid peroksidasyon hızındaki değişim.	26
Şekil 2.6	Kuru tohumda asetaldehit oluşumu ve etki mekanizmasının şematizesi.	47
Şekil 3.1	Çimlendirme testinde petrilere ekilmiş tohumlar	67
Şekil 3.2	Kum ortamına ekilen tohumlar ve gelişen çimler	69
Şekil 3.3	Anormal fide oluşumları a) kısa-küt kökçüklü, b) spiral kotiledonlu, c) dirsek oluşturmamış çimler	70
Şekil 3.4	Elektriki iletkenlik testi için tohumların saf suda bekletilmesi	73
Şekil 3.5	Total şeker tayininde spektrofotometrede okuma	76
Şekil 3.6	Anafaz hücrelerinde anormal kromozom oluşumları a) köprü oluşumu, b) kalgın kromozom, c) parça kopması...79	79
Şekil 4.1	Yaşlanma öncesi uygulamaların çimlenme gücü üzerine etkileri	83
Şekil 4.2	Yaşlanma öncesi uygulamaların fide oluşum oranına etkileri	84
Şekil 4.3	1. yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişim.	95
Şekil 4.4	2. yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişim.	97

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil 4.5	30°C'de %12 nemde depolanan tohum embriyolarının canlılık durumu a) 1. yıl denemesi; b) 2.yıl denemesi.....	99
Şekil 4.6	30°C'de %6 nemde depolanan tohum embriyolarının canlılık durumu a) 1.yıl denemesi; b) 2.yıl denemesi.....	100
Şekil 4.7	%9 nem ve 30°C'de depolanan tohum embriyolarının canlılık durumu.....	101
Şekil 4.8	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki değişimi (1.yıl).....	102
Şekil 4.9	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki değişimi (2.yıl).....	102
Şekil 4.10	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki değişim (1.yıl).	118
Şekil 4.11	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki değişim (2.yıl).	119
Şekil 4.12	Tohumdan madde sızıntısı nedeniyle enfeksiyon oluşumu.	122
Şekil 4.13	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların protein içeriğindeki değişim (1.yıl).	128
Şekil 4.14	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların protein içeriğindeki değişim (2.yıl).	130
Şekil 4.15	2.yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların total şeker içeriğindeki değişim.	137
Şekil 4.16	5°C'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkisi.	162
Şekil 4.17	30°C'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkisi.	162
Şekil 4.18	5°C'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların aminoasit sızıntısına (µM/g tohum) etkileri.....	175

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Şekil 4.19 30°C’de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların aminoasit sızıntısına ($\mu\text{M/g}$ tohum) etkileri.	175
Şekil 5.1 Soğan tohumlarında yaşlanma modeli.	188



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	Depolama sırasında marul tohumlarının embriyosunda meydana gelen kahverengileşme.	12
Çizelge 2.2	Yaşlandırılmış hıyar tohumlarında total lipid ve fosfolipid-lerdeki değişim.....	28
Çizelge 2.3	Canlı ve cansız çavdar embriyosunda total DNA ve yüksek moleküler ağırlıktaki DNA içeriğindeki değişim.	42
Çizelge 3.1	Yaşlanma öncesi ve sonrası tohumlara uygulanan yöntemler ve bunların uygulama doz ve süreleri.	60
Çizelge 4.1	Yaşlanma öncesi uygulamaların etkileri.....	82
Çizelge 4.2	Yaşlanma sonrası uygulamaların etkileri.....	87
Çizelge 4.3	Yaşlanma öncesi uygulamalara ait parametrelerin faktör analizine göre faktörlerin varyasyon oranı.	90
Çizelge 4.4	Yaşlanma öncesi uygulamalarda döndürülmüş faktör matriksine göre parametrelerin gruplandırılması ve ortaklık unsurları.....	90
Çizelge 4.5	Yaşlanma öncesi uygulamalarda parametrelerin korelasyon matriksi.....	92
Çizelge 4.6	1.yıl denemesinde depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki (%) değişim.....	94
Çizelge 4.7	2.Yıl denemesinde depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişim.....	96
Çizelge 4.8	Depolama koşullarına bağlı olarak ortalama çimlenme zamanının (gün) değişimi.	103
Çizelge 4.9	Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak KFOO'ndaki (%) değişim (1. yıl denemesi).	105
Çizelge 4.10	Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak PFOO'ndaki (%) değişim (2.yıl denemesi).....	106

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge 4.11	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak düşük sıcaklıkta sürme gücündeki değişim (%).....	108
Çizelge 4.12	1.yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak anormal fide oranındaki (%) değişim.	110
Çizelge 4.13	2. yıl denemesinde depolama koşulu ve süresine bağlı olarak anormal fide oranındaki (%) değişim.	111
Çizelge 4.14	2.yıl denemesinde depolama sıcaklığının anormal fide oranına (%) etkisi.	112
Çizelge 4.15	Depolama koşullarına bağlı olarak ortalama koleoptil uzunluğundaki (cm/bitki) değişim.....	113
Çizelge 4.16	Depolama koşullarına bağlı olarak fide yaş ağırlığında (mg/bitki) meydana gelen değişim.	114
Çizelge 4.17	Depolama koşullarına bağlı olarak ortalama fide kuru ağırlığındaki (mg/bitki) değişim.	115
Çizelge 4.18	Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki (mMhos/g tohum) değişim (1.yıl).	118
Çizelge 4.19	Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki (mMhos/g tohum) değişim (2.yıl).	119
Çizelge 4.20	Depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki (mMhos/g tohum) değişim	121
Çizelge 4.21	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarındaki (ppm/g tohum) değişim (1.yıl).	123
Çizelge 4.22	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarındaki (ppm/g tohum) değişim (2.yıl).	124
Çizelge 4.23	Depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarındaki (ppm/g tohum) değişim.....	125

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge 4.24	Depolama süresi ve koşullarına göre tohumdan sızan amino asit miktarındaki ($\mu\text{M/g}$ tohum) değişim.	126
Çizelge 4.25	Depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan aminoasit miktarındaki değişim ($\mu\text{M/g}$ tohum).	127
Çizelge 4.26	Depolama süresi ve koşullarına göre tohumun protein içeriğindeki (%) değişim (1. yıl).	128
Çizelge 4.27	Depolama süresi ve koşullarına göre tohumun protein içeriğindeki (%) değişim (2. yıl).	130
Çizelge 4.28	Depolama koşullarına göre tohumun total protein (%) içeriğindeki değişim.	131
Çizelge 4.29	Depolama koşullarına göre tohumun total yağ (%) içeriğindeki değişim.	133
Çizelge 4.30	Depolama süresine bağlı olarak tohumların yağ içeriklerindeki (%) değişim.	134
Çizelge 4.31	Depolama süresine bağlı olarak yağ asitleri içeriğindeki (%)	135
Çizelge 4.32	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumun şeker içeriğindeki (%) değişim.	137
Çizelge 4.33	Depolama koşullarına göre tohumların şeker içeriğinin (%) değişimi.	138
Çizelge 4.34	Depolama koşullarına bağlı olarak anormal kromozomlu anafaz hücreesindeki değişim (%).....	140
Çizelge 4.35	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların çimlenme gücüne (%) etkileri.....	147
Çizelge 4.36	Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların çimlenme gücüne (%) etkisi.....	150
Çizelge 4.37	Depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak uygulamaların ortalama çimlenme zamanına (gün) etkileri.	152

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge 4.38	Depolama sıcaklığına bağlı olarak tohumların ortalama çimlenme zamanındaki (gün) değişim.....	153
Çizelge 4.39	Depolamada tohum nemi içeriğine bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki (gün) değişim.....	153
Çizelge 4.40	Depolama süresine göre ortalama çimlenme zamanındaki (gün) değişim.	154
Çizelge 4.41	Depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların petride fide oluşum oranına (%) etkileri.....	156
Çizelge 4.42	Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların petride fide oluşum oranına (%) etkisi. ..	159
Çizelge 4.43	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkisi.	161
Çizelge 4.44	Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkileri.....	164
Çizelge 4.45	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların anormal fide oranına (%) etkileri.....	166
Çizelge 4.46	Depolama öncesi uygulamaların anormal fide oluşumuna etkisi.....	167
Çizelge 4.47	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenlik miktarına (mMhos/gtohum) etkisi....	169
Çizelge 4.48	Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenlik miktarına (mMhos/gtohum) etkisi.	170

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge 4.49	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların tohumdan sızan potasyum miktarına (ppm/g tohum) etkisi.	172
Çizelge 4.50	Uygulamaların tohumdan sızan potasyum miktarına (ppm/g tohum) etkisi.....	173
Çizelge 4.51	Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarına (μ M/g tohum) etkisi.	174
Çizelge 4.52	Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarına (μ M/g tohum) etkileri.	176
Çizelge 4.53	Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarına (μ M/g tohum) etkileri.	177
Çizelge 4.54.	Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların total protein (%) üzerine etkileri.....	178
Çizelge 4.55	Depolama sıcaklığına bağlı olarak uygulamaların protein içeriğine (%) etkileri.....	179
Çizelge 4.56	Tohumun nem içeriğine bağlı olarak uygulamaların protein içeriğine (%) etkileri.....	180
Çizelge 4.57	Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların total protein içeriğine (%) etkileri.....	181
Çizelge 4.58	Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların tohumun şeker içeriğine (%) etkisi.	182
Çizelge 4.59.	Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların tohumların total şeker içeriğine (%) etkileri.	183
Çizelge 4.60	Depolama koşullarına bağlı olarak anormal anafaz hücre oranındaki (%) değişim.....	184

1.GİRİŞ

Dünyada hızla artan nüfus nedeniyle besin ihtiyacı da giderek artmakta ve böylece iyi kalitede besin üretiminin artırılması büyük önem taşımaktadır. Bu da yüksek verim ve kaliteye sahip, farklı çevre koşullarına adapte olabilen yeni varyetelerin geliştirilmesi yanı sıra bu varyete tohumlarının iyi koşullarda muhafazası ile mümkündür.

Tohumun yaşlanma hızı; fizyolojik durumuna, genetik yapısına ve depo koşullarına bağlıdır. Yüksek kaliteli tohumun yeterli miktarda sağlanması, tohum canlılığının korunumu, başarılı bir tohum endüstrisi ve tarımsal üretim için gereklidir. Bu yüzden tohumda yaşlanmayı etkileyen faktörler ve yaşlanmayla meydana gelen değişimler birçok araştırmacının dikkatini çekerek araştırma konusu olmuştur.

Tohumda yaşlanma, zamana bağlı olarak canlılık kaybına yol açan fizyolojik, biyokimyasal ve sitolojik değişimleri kapsamaktadır.

Tohum yaşlanmasında primer reaksiyonların depolama koşullarıyla değişmesi nedeniyle depolamada tohum zararlanmasının mekanizmasının anlaşılması ve özellikle tohumun nem içeriğinin, hem kalitatif hem de kantitatif olarak tohumdaki kimyasal reaksiyonları etkilediği ileri sürülmüştür (Vertucci, 1993).

Tohum yaşlanması ile yapılan çalışmalarda yaşlanmanın en belirgin simptomlarının çimlenme gücünün azalması ve çimlenme hızının yavaşlaması, yaşlı tohumdan gelişen fide boylarının kısa olması ve anormal fide oluşumunda artış olması, tohumdan madde sızıntısının artması olduğu belirtilmektedir. Ayrıca yaşlanma çok ilerlememişse meydana gelen zararlanmaların geriye dönüşümünün mümkün olabileceği de belirlenmiştir.

Depolama koşullarına bağlı olarak tohumda oluşan zararlanmalar ve bunların iyileştirilmesi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına karşın yaşlanmanın nedenleri hala tam olarak açıklanamamıştır.

Bu çalışmada, farklı depolama sıcaklığında farklı nem içeriklerinde depolanan soğan tohumlarında meydana gelecek fizyolojik ve

biyokimyasal değişimler incelenerek, depolama koşullarına bağlı olarak yaşılanmanın seyrinin ortaya konması yanısıra yaşılanma sırasında oluşabilecek zararlanmaların ticari olarak da pratik olabilecek yöntemlerle kontrol edilmesinin mümkün olup olmadığının ve hangi dönemlerde uygulanmasının etkili olabileceğinin saptanması amaçlanmıştır. Bu amaçla 3 farklı deneme planlanmıştır.

Deneme1’de soğan tohumlarında yaşılanmayla oluşan anormallikleri iyileştirmek veya geciktirmek amacıyla soğan tohumlarına kontrollü yaşılandırma öncesi ve sonrası farklı ön uygulamalar (priming ve hidrasyon) yapılarak, yaşılanmayla oluşan zararlanmaların kontrolünde hangi yöntemin etkili olabileceğinin saptanması amaçlanmıştır.

Farklı depolama sıcaklığı ve tohumun nem içeriğine bağlı olarak soğan tohumlarında yaşılanmayla meydana gelecek fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin incelenerek yaşılanmanın seyrinin ortaya konması amacıyla Deneme 2 gerçekleştirilmiştir.

Deneme 1’de yaşılanmayı kontrol etmede etkinliği belirlenen yöntemi kullanmak suretiyle depolama koşullarına bağlı olarak Deneme 2’de yaşılanmanın seyrini ortaya koyan parametrelerde ne gibi değişimlerin olduğunun ve bu etkinin ne kadar süreceğinin belirlenmesi amacıyla da Deneme 3 gerçekleştirilmiştir.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

2.1. Canlılık ve Vigoru (Gücü) Etkileyen Faktörler

Tohum canlılık ve vigorunu ve birbirleriyle etkileşimde bulunan faktörleri Smith and Berjak (1995) altı grupta toplamıştır:

- * Genetik faktörler
- * Hasat öncesi olgunluk döneminin etkileri
- * Hasat sırasındaki mekanik faktörler
- * Depo koşulları (sıcaklık ve nem)
- * Patolojik faktörler
- * İçsel faktörler (makromoleküller ve gerekli metabolitlerdeki değişim; toksik madde birikimi).

Tohumun yaşam süresi özelliğini, genetik faktörlerin desteklediği hakkında hiç şüphe yoktur. Nitekim Harrington (1972) aynı depolama koşullarında dahi türler arasındaki yaşam süresi varyasyonun oldukça fazla olduğunu belirterek tohumları uzun ömürlü ve kısa ömürlü olarak iki grup altında toplamıştır.

Ewart (1908, Come'dan, 1983) ise tohumları yaşam sürelerine göre 3 gruba ayırmış ve az çok tohum kabuğu geçirimsiz olan sert kabuklu tohumların (Leguminosae, Malvaceae ve Myrtaceae) en uzun yaşayanlar olduklarını belirtmiştir:

- * Makrobiyotik tohumlar: 15 yıldan daha fazla yaşayanlar.
- * Mesobiyotik tohumlar : 3-15 yıl arası yaşam süresi.
- * Mikrobiyotik tohumlar : en çok 3 yıl canlı kalan tohumlar.

Tohumun yaşam süresi genetik ve çevre koşulların kontrolünde olduğu ve tohumun genetiğine, hasat öncesi gelişimleri sırasındaki faktörlere ve depolama sırasındaki nem, sıcaklık ve gazların durumuna bağlı olarak tohumun, uzun süre veya kısa süre canlılığını sürdürebileceği belirtilmiştir (Osborne, 1980).

Döllenmeden fizyolojik olgunluğa kadar geçen dönemde, sıcaklık, yağış, fotoperiyod, toprak ve atmosfer nemi ve topraktaki mineral maddeler gibi çevresel faktörlerin sadece gelişen tohumun depo maddelerini değil, ayrıca vigor ve canlılığını etkilediği ifade edilmiştir

(Smith and Berjak, 1995). Abdul-Baki and Anderson (1972), tohumun gelişimi ve olgunlaşması döneminde toprakta mineral madde eksikliği veya toksik madde birikimi, hastalık ve zararlılarla bulaşma, aşırı yağış veya don zararlarının ürünü zararlandırarak tohumun maksimum kaliteye ulaşmasını önlediğini belirtmektedirler.

Hasat sırasında, tohuma zarar verici uygulamaların depo ömrünü kısalttığı belirtilerek aşırı kuru tohumlarda, harmanlama sırasında çatlama ve çürümelerin olabileceği ve bu tip zararların düşük tohum kalitesine neden olmanın yanı sıra fungal bulaşmalara da zemin hazırladığı ifade edilmiştir (Harrington, 1972; Smith and Berjak, 1995).

2.2. Depolama Koşullarının Canlılık ve Vigora Etkisi

Tohumların gerek gen kaynaklarının korunumu amacıyla uzun süreli muhafazasında gerekse ticari amaçlı kısa süreli muhafazasında karşılaşılan problem, canlılık kaybının yanı sıra özellikle uzun süreli muhafazada, genetik kayıpların olmasıdır.

Pek çok araştırmacı depolama sırasında tohumlardaki canlılık kayıpları ile ilgili çalışmalar yapmasına rağmen canlılık kayıplarının nedenlerinin hala açıklanamadığı belirtilmiştir (Priestley, 1986). Ancak zararlanma sırasında protein, nükleik asit, lipid gibi çok fonksiyonel moleküllerin değişimlere uğradığı rapor edilmiştir (Abdu-Baki and Anderson, 1972; Harrington, 1973; Bewley and Black, 1982; Priestley, 1986).

Tohumlardaki yaşlanma hızını etkileyen iki önemli çevresel faktörden birinin tohum nemini kontrol eden havanın nispi nemi diğerinin ise tohumdaki biyokimyasal olayların hızını etkileyen sıcaklık olduğu belirtilmiştir (Harrington, 1972).

Tohumların yaşam sürelerini etkileyen depo koşullarına yönelik temel kural ilk olarak 1960'da Harrington tarafından geliştirilmiştir. "Rules of Thumb" olarak bilinen bu kuralda;

- depo sıcaklığındaki her 5 °C lik azalmanın veya
- tohum nemindeki her %1 lik azalmanın tohum ömrünü ikiye katladığı ve her iki parametrenin birlikte aditif etkide bulunduğu belirtilmektedir.

Roberts (1973), tohumları depolanma sırasındaki nem içeriklerine göre iki sınıfa ayırmıştır. 'Orthodoks tohum' olarak nitelendirdikleri tohum grubunun zararlanmadan düşük nem seviyelerine kadar kurutulabileceklerini ve çok fazla nem içerikleri halinde canlılık süreleri ile tohum nemi arasında negatif logaritmik ilişkinin olduğunu belirtmiştir. Canlılıklarını kaybetmeden belli nem seviyelerinin altına kurutulamayan tohumları 'recalcitrant tohum' olarak nitelendirmiş ve bunların nadiren birkaç hafta veya ayı aşan sürelerde canlılıklarını koruyabildiklerini rapor etmiştir.

Tohum nemindeki artışın çimlenebilme kapasitesinin korunumunu zorlaştırdığı belirtilmiştir Tohum nemi,

%35-60 iken çimlenme görülmekte.

%13-18 iken kızışma görülmekte.

%12-14 iken tohumda fungus gelişimi olmakta.

% 8 -10 iken böcekler aktif olmaktadır (Khanal, 1990).

Çok ekstrem düşük tohum neminde de canlılık kayıplarının görüleceği belirtilmiştir. Çok kuru tohumda oksidatif zararlanmalara karşı koruyucu olan makromoleküllerdeki suyun ayrıldığı ve böylece oksidatif olaylarda artış olarak canlılık kayıplarına neden olduğu ileri sürülmüştür (Harrington, 1973).

Depolama sırasında türlere bağlı olarak en düşük nem içeriğinin %2-6 olması gerektiği, nemin bu seviyelerin altına düşmesiyle canlılık kaybında az ya da hiç iyileşme olmayacağı; buna karşın en yüksek nem seviyesinin tohumun yağ içeriğine bağlı olarak %15-28 arasında olması gerektiği önerilmiştir. Ayrıca oldukça düşük nem içeriğinde depolananlarda da zararlanmanın görüldüğü ve bu sırada oluşan kimyasal değişimlerin muhtemelen enzimatik olmayan reaksiyonlarla ilgili olduğu belirtilerek, bu zararlanma ve değişimlerin tohumların su içerikleriyle ilişkili oldukları ileri sürülmüştür (Roberts and Ellis, 1989).

Villier and Edgumbe (1975), kuru depolamada tohumlarda görülen canlılık kaybının, düşük nem içeriğinde dokularda iyileştirme sistemlerinin yetersizliği nedeniyle olduğunu belirtmişlerdir. Böylece tohumda biriken makromolekül zararının, sadece tohumun çimlenmesi sırasında su alırken tamir edilebildiğini ileri sürmüşlerdir.

Ward and Powell (1983), yüksek nem içeriğinde depolanan tohumlarda iyileştirme mekanizmasının aktif olması nedeniyle canlılık kaybının azaldığını belirtmişlerdir. Depolama sırasında canlılık kaybında azalmanın görüldüğü kritik nem seviyelerinin marulda %15 (İbrahim and Roberts, 1983; Roberts and Ellis'ten, 1989) ve soğanda %18 (Ward and Powell, 1983) olduğunu saptamışlardır.

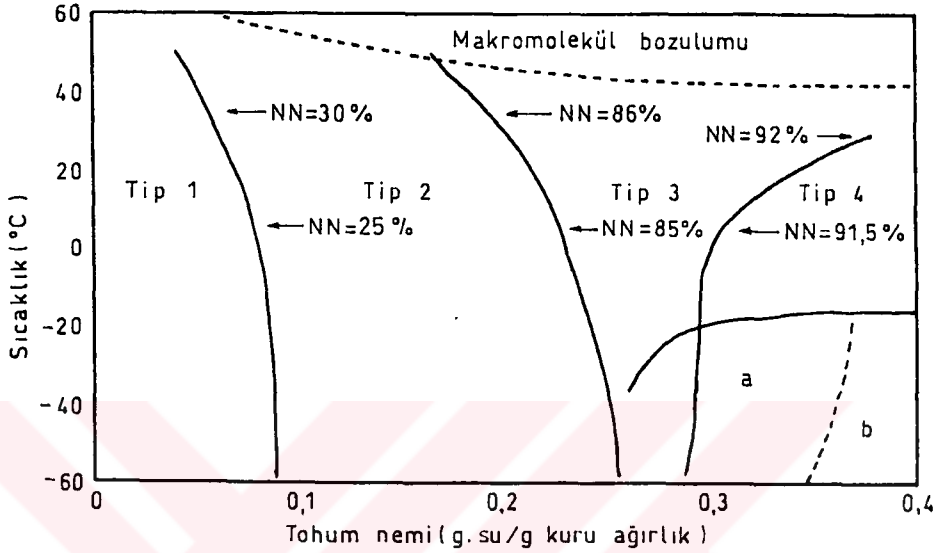
Powell and Mathews (1978) da ortodoks tohumların nem içeriğinin depolama yanı sıra su alımı (imbibisyon) sırasında da canlılıkları üzerinde etkili olduklarını; çok kuru tohumun ani su alımıyla imbibisyon zararının görülebileceğini belirtmişlerdir.

Kimyasal yapıları farklı ve %17 ile %27 arsında değişen nem içeriğindeki 5 türde kimyasal reaksiyon, solunum ve yaşlanma hızı incelenerek, suyun fiziksel durumu ve fizyolojik aktivitedeki değişimlerin araştırıldığı çalışmada, her nem seviyesindeki tohumlarda oksijen alınımının olduğu ve nem artışıyla oksijen alınımının da arttığı belirlenerek bunun bu tohumlarda oksidatif aktivitenin olduğuna işaret ettiği belirtilmiştir. Ayrıca düşük nem içeriğindeki tohumlarda görülen oksidatif aktivitenin, lipid peroksidasyonu gibi diğer kimyasal reaksiyonların göstergesi olduğu ileri sürülmüştür. Değişik nispi nem seviyelerine bağlı olarak suyun fiziksel durumu ve fizyolojik aktivitedeki değişimleri gözlenerek %91 nispi nemde solunumun başladığını, %27 nispi nemde termal-kimyasal reaksiyon hızının arttığını, %19 nispi nemin canlılık için optimum olduğunu belirten çalışmaları sonunda tohumların nemini %19 ile %27 nispi nem arasında dengeye getirmek suretiyle canlılığın korunumu için gerekli optimum nem seviyesinin sağlanacağı önerilmiştir (Vertucci and Roos, 1990).

Vertucci (1993) depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmayla ilgili reaksiyonların değişebileceğini, özellikle tohum neminin hem miktarsal hem de niteliksel olarak tohumdaki kimyasal reaksiyonları etkileyeceğini belirtmiştir. Tohumda bulunan suyu 5 faza ayırmıştır. 1. faz içeriğindeki tohumlarda (0-0.8g su/g kuru ağırlık) suyun tohum moleküllerine bağlı olan yapısal su olduğunu belirterek bu suyun molekülleri moleküller arası reaksiyonlardan ve serbest radikallerin toksik etkilerinden koruduğunu ileri sürmüştür. 2. fazdaki suyun (0.08-0.22g su/g kuru ağırlık) moleküllerin yüzeyini kapladığını ifade ederek,

bu su seviyesinde tohumda enzimatik aktivitenin görülebileceğini belirtmiştir. Ayrıca bu faz seviyesindeki suyun moleküllere bağlanma gücünün azalarak camı (glass) faz oluşumunu sağladığı belirtilmiştir (McKersie and Leshem, 1994). Aşırı derecede ıslanmış tohumu ifade eden 3. fazda (0.22-0.33g su/g kuru ağırlık) membran lipidlerinde faz davranışlarının olduğunu ve metabolik aktivitenin başladığını ancak, iyileştirme mekanizmasının henüz aktive olmadığını ileri sürmüşlerdir. Yine bu fazdaki suyun -18° ve -38°C 'de donabileceği ve bu su seviyesinde solunumun belirlenebileceği (McKersie and Leshem, 1994) ifade edilmiştir. Daha ileri derecede suyun varlığı olan 4. (0.33-0.55g su/g kuru ağırlık) ve 5. (0.55g su/g kuru ağırlık üzerinde) fazda metabolizma hızının arttığını ve protein sentezi ve DNA'nın iyileştirme mekanizmasının aktive olduğunu belirtmiştir. Ayrıca soya fasulyesi tohumunda, suyun faz değişimlerinin depolama sıcaklığıyla da değiştiğini rapor etmiştir (Şekil 2.1).

Vertucci et al. (1994), depolama için gerekli optimum nem içeriğinin sıcaklıkla değiştiğini ileri sürdükleri hipotezlerini desteklemek amacıyla %1 ile %90 arasındaki nispi nem seviyeleri ve -5 ile 65°C arasında değişen sıcaklıklarda, aydınlık ve karanlık koşullarda depoladıkları bezelye tohumlarında canlılık ve vigor kaybını belirlemişlerdir. Depolama için optimum nem içeriğinin (kuru ağırlık bazında) karanlık ortamda 65°C 'de %1.5 tan 15°C 'de %10'a kadar değiştiğini; aydınlık koşullarda 35°C 'de %5.7'den -5°C 'de %9.2 neme kadar değiştiğini belirlemişlerdir. Çalışmaları sonunda optimum nem içeriğinin sıcaklıktan ayrı düşünülemeyeceğini vurgulamışlardır.



Şekil 2.1 Soya fasulyesinde depo sıcaklığına bağlı olarak tohumdaki suyun faz değişimi. a: öldürücü olmayan donmuş küçük kristaller; b: öldürücü donmuş büyük kristaller. (Vertucci'den, 1993)

Çeşitli tür ve çeşitlerin depolanma koşullarına bağlı canlı kalma süreleriyle ilgili çalışmalar sonucunda Ellis and Roberts (1980; Roberts and Ellis'den, 1989) tarafından buğday tohumlarının depolanma ömürlerinin tahminine yönelik eşitlik geliştirilmiştir:

$$v = K_i - p / 10^{K_E - C_w \log m - C_H t - C_Q t^2}$$

Eşitlikte v, canlılık yüzdesi; p, depolama süresi (gün); m, tohum nemi (% , yaş ağırlık bazında); t, depolama sıcaklığı (°C) ve K_i , tohum partilerine göre değişen sabiteyi göstermektedir. K_E , C_w , C_H ve C_Q türlere özgü sabiteleri belirtmektedir.

Roberts and Ellis (1981) ilk olarak buğday için geliştirdikleri bu eşitliği soğanı da içeren pek çok tür içinde modifiye ederek, tohumun depolama süresine ve koşulları yanında tohum partisinin performansına bağlı olarak canlılıklarını gösteren nomograflar geliştirmişlerdir.

Roberts and Ellis (1989) eşitliğin iki kısımdan oluştuğu belirterek, 1. kısmının herhangi bir depo koşulunda tohumların ömrünün normal dağılırarak yaşam eğrilerinin negatif kümülatif normal dağılımında olduklarını gösterdiğini belirtmişlerdir.

$$v = K_i - p/\delta \quad I.$$

$$\log \delta = K_E - C_W \log m - C_{Ht} - C_{Qt}^2 \quad II$$

Eşitliğin ikinci kısmının ise belli depo koşullarında tohumların yaşam eğrilerinin standart sapmalarının tohum partileri arasında değişmediğini ve standart sapmanın tohum nemi ve depo sıcaklığındaki artışla azalmasını temsil ettiği belirtilmiştir.

Pek çok türde depolama koşullarına bağlı olarak canlılık ve vigorda meydana gelen değişimler incelenmiştir.

-20 ve -196°C'de nem geçirimsiz kaplarda (hermetik olarak) 3 yıla kadar depolanan %3-4 ve %16 nem içeriğindeki tohumların çimlenme gücünde azalma ve anormal anafaz oluşumunda artmanın görülmediği, buna karşın 19°C'de açıkta nem kontrolsüz olarak depolananlarda zamana bağlı olarak çimlenme gücü kaybı yanısıra anormal anafaz hücre oranında artış olduğu saptanmıştır (Harrison and Carpenter, 1977).

%35, 55, 75 nispi nem ve oda sıcaklığı, 30, 40 °C'de depolanan şalgam ve brokkoli tohumlarında zararlanmaların, depo sıcaklığı ve neminin artışıyla arttığı belirtilmiştir. Bu zararlanmaların göstergesi olarak ortalama çimlenme zamanı ve anormal fide oluşumunun arttığı, çimlenme %'sinin azaldığı saptanmıştır. Yüksek sıcaklıkta (30 ve 40°C), düşük depo neminde (%35) depolananlarda canlılık kaybının, yüksek

nemde (%55 ve %75) depolananlara göre daha az olduğu belirlenmiştir (Lepori and Quagliotti, 1981).

Georghiou et al. (1987), 35°C'de 6 aya kadar depoladıkları biber tohumlarında, çimlenme gücünün depolamanın 2. ayında %80'den %25-30'a, 3. ayında ise %10'un altına düştüğünü saptamışlardır.

Styer et al. (1988), %5, %10, %15, %20 ve %25 nem içeriklerinde -10°C, 5°C, 15°C, 25°C ve 35°C'de 10 aya kadar depoladıkları hıyar, soğan ve turp tohumlarında; depolama süresi, depolama sıcaklığı ve tohum nemi arttıkça, çimlenme ve fide vigorunun azaldığını rapor etmişlerdir. Yüksek sıcaklıkta (25-35°C) ve yüksek nem içeriğindeki (%20-%25) tüm tohumların 2.5 aylık depolama sonrasında canlılıklarını kaybettiklerini belirlemişlerdir. 5°C'de %5 nem içeriğindeki tohumların depolamadan 10 ay sonra canlılık ve fide vigorunun en yüksek değerde kaldığını saptamışlardır.

Soğan tohumlarında 1 yıl depolama için tohum neminin 4.5-10°C depolama sıcaklığında %11, 21°C'de %8 ve 25°C'de %6 olması gerektiği önerilmiştir (Lorenz and Maynard, 1988).

Thanos et al. (1989), 5 ve 25°C'de 3 yıla kadar depoladıkları biber tohumlarından 5°C'de depolananların, depolama süresince çimlenme gücünü koruduğunu ve %80-90 gibi yüksek değerlere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşın, 25°C'de depolanan tohumlarda çimlenme gücünün, optimal-altı çimlenme sıcaklığında (15°C) %79'dan %19'a, optimal çimlenme sıcaklığında (25°C) %84'ten %66'ya düştüğünü; ortalama çimlenme zamanının ise çimlenme sıcaklığına bağlı olarak sırasıyla 30 ve 13 güne kadar arttığını saptamışlardır.

Standwood and Sowa (1995) soğan tohumlarını 5, -18 ve -196 (Sıvı azotta)°C'de 10 yıl depolayarak, çimlenme, fide kök gelişimi, tohumdan elektrolit sızıntısı ve oksijen alınımı ölçülerek uzun süreli depolamanın etkilerini araştırmışlardır. 10 yıllık depolama periyodunda ortalama çimlenmenin -18 ve -196°C'de depolananlarda düşmediğini, buna karşın 5°C'de depolananlarda %94'ten %68'e düştüğünü belirlemişlerdir. Depolama süresince 5 ve -18°C'de depolanan tohumların nem içeriklerinin değiştiğini, -196°C'dekilerde ise değişimin olmadığını

gözlemişler ve 5°C'de canlılığının azalmasının depolama sırasında tohumun nem içeriğindeki değişimden kaynaklandığını belirtmişlerdir. 5, -18 ve -196 °C'de depolananlarda sırasıyla ortalama kök uzunluğunun 2.8, 5.7 ve 6.6mm; oksijen alımının ise 124, 156 ve 176 pmol/mg dak olduğunu belirleyerek, -196°C'de depolamanın en az fizyolojik zararlanma gösterdiğini ifade etmişlerdir.

-20 ve 20°C'de, %5.5-6.8 ile %2-3.7 nemde 5 yıl depolanan havuç, yerkıstığı, marul, kolza ve soğan tohumlarında en önemli canlılık kaybının; 20°C'de %5.5-6.8 nemde depolananlarda olduğu saptanmıştır.

- 20°C'de her iki nemde depolamada canlılık kaybı görülmemiştir. 20°C'de %2-3.7 nemde depolananlardaki canlılık kaybının %5.5-6.8'dekine göre daha az olduğu belirlenmiştir (Ellis et al.1996).

2.3. Tohumda Canlılık Kaybıyla Meydana Gelen Değişimler

2.3.1. Morfolojik değişimler

Tohumların depolanması sırasında tohum kabuğunda görülebilen bazı değişimler olmaktadır. Çoğu türde yaşlanmayla testa koyulaşmaktadır (Bewley and Black, 1982; Priestley, 1986). Bu değişimlerin azalan performansla ilişkili olmasına rağmen tohum kalitesinin basit bir indeksi olduğu belirtilmektedir (Priestley, 1986).

Harrington (1973), çoğu türde yaşlanmayla tohum kabuğunun kahverengileşmesinin tohum yaşlanmasının daha az dikkat çeken belirtisi olduğunu ifade etmiştir. Ancak yaşlanmayla embriyo da meydana gelen kahverengileşmenin çimlenme ve vigor kaybıyla daha ilişkili olduğunu saptamıştır(Çizelge 2.1)

Çizelge 2.1 Depolama sırasında marul tohumlarının embriyosunda meydana gelen kahverengileşme (Harrington'dan, 1973).

Tohum yaşı(yıl)	Çimlenme(%)	Vigor(ort.gün)	Renk
7	0	-	32
6	12	6.3	47
5	57	4.5	46
4	84	4.2	54
3	81	4.1	45
2	85	4.0	51
1	90	4.0	59

30=kahverengi; 60=saman rengi

West and Harris (1963), yonca ve üçgülde yaptıkları çalışmada renk değişimi gösteren tohumların düşük solunum hızı ve çimlenme gücüne, normal tohumlara oranla daha düşük kök gelişimine sahip olduklarını belirlemişlerdir (Abdul-Baki and Anderson, 1972).

Bazı durumlarda tohum kabuğundaki renk bozulması, yükselen sıcaklık ve nemin arttırdığı oksidatif reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır (Priestley, 1986).

Tohum kabuğunda renk bozulmasının yanısıra tohumun iç dokularında da görsel değişiklikler olmaktadır. Czyzenski (1958) yaşlı havuç tohumlarında perikarp yağ kanallarında birkaç materyal gözlemiş ve bunun nedeninin terpenoid materyallerin polimerizasyonu olduğunu belirtmiştir. Uygun olmayan depo koşullarında, marul tohumu kotiledonlarında kırmızı nekrozlar oluşabilmekte (Bass, 1970); pamukta endosperm yeşile dönüşmektedir (Tarr and Anhony, 1952; Priestley'den, 1986).

2.3.2. Hücresel değişiklikler

2.3.2.1. Hücre içindeki ince yapılarda (ultrasitruktürel) değişimler

Tohum testasındaki değişim, azalan performansla yakından ilişkili olmakla birlikte tohumun dış görünüşünden veya parçalayarak dokularını gözle inceleyerek tohumun canlı olup olmadığını söylemenin mümkün olmayacağı belirtilmiştir (Priestley,1986). Osborne (1983), hücre düzeyinde incelemekle canlı ve cansız tohum arasındaki farklılıkların belirlenebileceğini ifade etmiştir.

Berjak and Villier (1972), 20 gün hızlandırılmış yaşlanma uygulanan mısır tohumlarının çimlenme gücünün %20'nin altına düştüğünü belirleyerek embriyoları hücresel bozulmanın derecesine bağlı olarak 3 sınıfa ayırmıştır. En az zararlanmış, hala canlı olan embriyolarda 48 saat içinde hücresel düzensizliklerin iyileştirilebileceğini saptamalarına rağmen su alımının ilk döneminde; nükleuslarda loblanma, mitokondri ve plastidlerde bozulma, diktiyozomlarda seyrelme ve bozulma, polizomların oluşumunda yavaşlama gibi hücre düzensizlikleri gözlemişlerdir. Daha fazla zararlanmış ve çimlenemeyen embriyolarda ise nükleus, mitokondri ve plastidlerdeki bozulmaların, su alımından itibaren 48 saat içinde tamir edilebileceğinin daha az belirtisi olduğunu ve polizomların 24 saat içinde oluşmalarına karşın diktiyozomların oluşmadığını saptamışlar. Zararlanmanın çok ekstrem belirtilerinin olduğu 3.sınıf embriyolarda, polizom ve diktiyozomların gelişemediğini, membran bağlı yapılarda şişme ve organizasyon bozukluğunu belirlemişlerdir (Priestley, 1986).

Cansız çavdar embriyo hücrelerinin elektron mikroskopik incelemelerinde, çoğu mitokondrinin en dış zarının kabarcık oluşturacak şekilde uzadığı ve parçalanmış iç zardan ayrıldığı görülmüştür. Yine mitokondrilerin şişmiş kristallara sahip oldukları ve dış membranlarını kaybettikleri belirlenmiştir (Osborne, 1980). Yaşlanan tohumun su alımını sırasında bu organellerin bütünlüklerini kaybederek, daha çok organizasyon bozukluğu gösterecekleri ve böylece solunum aktivitelerinde ve ATP üretebilme kapasitelerinde azalma göstereceği belirtilmiştir (Halmer and Bewley, 1984).

Osborne (1980), embriyo hücrelerinde ayrıca yaşlanmayla birlikte plazma membranının büzülüp hücre duvarından ayrıldığını ve ikisi arasındaki alanda elektron yüklü materyallerin bulunduğunu belirtmektedir. Bu durumun plazma membranın moleküler bütünlüğünün ve yarı geçirgenliğinin bozulmuş olduğuna işaret ettiğini ileri sürmüştür. Aynı zamanda çekirdek membranında da düzensizlik ve parçalanmaların olduğunu görmüştür.

Kalpna and Rao (1995) da, *Cajanus cajan* tohumlarında yaptıkları çalışmada, yaşlanmanın artışıyla tohumların oksijen tüketiminde önemli azalma olduğunu, canlılığın önemli derecede azaldığı yaşlanmanın 8. gününde solunum hızının, yaşlanmamışların yarısı kadar olduğunu saptamışlardır. Yaşlanmayla mitokondrial membran bütünlüğünün kaybının, solunum zincirinde yer alan membran bağlı komponentlerin fonksiyonel ilişkilerini değiştirebileceğini, böylece tohumların solunum hızında azalmalara neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Smith and Berjak (1995) tohum yaşlanmasıyla artan hücresel bozulmalar şu şekilde özetlemişlerdir:

- * Mitokondrial ve plastidlerin iç ve dış membranlarındaki anormallikler,
- * Çekirdek zarının loblanması,
- * Endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğinin parçalanması veya yok olması,
- * Vakuol ve protein kütlelerinin bağlı membranlarının parçalanması,
- * Lipid damlacıklarının daha büyük kütleler oluşturacak şekilde birleşimi,
- * Plazma membranında kopmaların olması ve hücre duvarından ayrılması,
- * Ekstra protoplazmik alandaki materyalde değişik görünümlerin olması. Tohumdaki diğer hücresel değişimlerin; kromatin kümelenmesi, çekirdek anormallikleri ve ribozomların kaybolması olduğunu belirterek, bu tip değişimlerin, DNA, RNA ve protein sentez sistemini etkileyeceğini ileri sürmüşlerdir.

Begnami and Cortelazzo(1996), fasulyelerde yaptıkları çalışmada, yaşlanmamış tohum hücrelerinin gevşek yapıda kromatin ve belirgin nükleoluslara sahip olduklarını, nükleusların vakuolize olmadıklarını

belirlemişlerdir. Buna karşın, hızlandırılmış yaşlanma ilerledikçe nükleuslarda kromatin yoğunlaşmasının arttığı gözlemlenmiştir. Yaşlanmanın 8. gününde, %5 nükleusun oldukça yoğunlaşmış kromatin bölgelerine sahip olduğu ve nükleolusların daha az belirgin oldukları; 18. gününde kromatin yoğunlaşmasının çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Ayrıca yaşlanmayla hücre içindeki nişasta taneciklerinin sayısında yavaş bir artış ve büyüklüklerinde azalma gözlemlenmiştir. Yaşlanmamış tohumda, hücre başına düşen ortalama nişasta tanesinin 6.48 iken yaşlanmanın ilerlemesiyle bu değerin 12'ye yükseldiğini belirlemişlerdir.

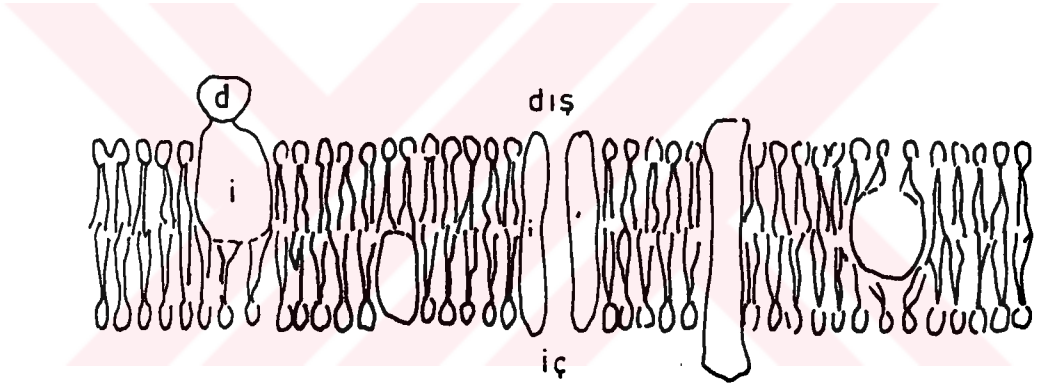
Villier (1983) de, uzun süre depolanmış düşük canlılıktaki tohumların su alınımları sırasında nükleuslarında gözlenen önemli değişikliğin kromatin yoğunlaşması olduğunu belirtmiştir. Genetik materyalin bozulmasıyla sentez işlevinde koordinasyon kaybı ve yaşlanmayla pek çok tohumda saptanan kromozom anormalliklerinde artış olduğunu ileri sürmüştür. Ayrıca, canlılığını kaybetmiş embriyoların lipid kütlelerinin akışkan hale gelerek daha büyük lipid kütleleri oluşturduğunu ifade etmiştir.

Embriyo içindeki en önemli organel olan protein kütlelerinin, tek bir membranla çevrilmiş olup, çimlenme sırasında kullanılacak besin maddelerini ve çok sayıda hidrolitik enzimleri içerdiği belirtilmiştir. Depolama sırasında bu hidrolitik enzimlerin membranları dağılıncaya kadar protein kütlelerine etki edildikten sonra sitoplazmaya da etki ederek sitoplazmik erimelere neden olabildiği ifade edilmiştir. Bu yüzden, özel hücre yapıları olarak protein kütlelerinin etkinliklerini kayb ettiklerinde genel hücre ölümleri görüleceği ileri sürülmüştür (Villier, 1983).

Osborne (1980) da tohum yaşlanmasında önemli olaylardan birisinin, proteolitik enzimler tarafından protein kütle membranlarının parçalanması olduğunu belirtmiştir. Ching and Schoolcraft (1968) bu enzimlerin, eriyebilir membran, nükleoprotein, ribozom ve enzimlerin etkinliğini bozmak suretiyle yaşlanmayla ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

2.3.2.2. Hücre membranındaki değişimler

Hücrede bulunan membranlar, içsel ve dışsal proteinleri içeren iki tabakalı lipidden oluşmuştur. Lipid tabakasının esas yapısı polar lipid olan fosfolipidlerdir. Bunlar polar hidrofilik baş grubu ve 2 yağ asidine uzun hidrokarbon uçlarla birleşmiş hidrofobik kısımdan oluşur. Membran yapısında bulunan içsel proteinler, madde taşınımı sırasında kanallar oluşturarak maddelerin hidrofobik kısma geçmelerini sağladıklarından madde taşınımında varlıkları önemlidir. Dışsal proteinlerin görevi ise bağlı iyonların taşınımını sınırlandırmaktır. Bu proteinler osmotik stres altında membrandan salınarak iyon taşınma hızını azaltırlar (Şekil 2.2, Bewley, 1986).



Şekil 2.2 İki katmanlı membran lipidi yapısı (Bewley'den, 1986)

Bileşimleri ve organizasyonlarıyla biyolojik membranların, materyallerin hücre içine ve dışına taşınmasını düzenledikleri ve bu yüzden tohum canlılığında ve vigorunda anahtar rol oynadıkları belirtilmektedir (Bewley, 1986; Kalpana and Rao, 1996). Ayrıca Bewley (1986), hem plazma zarı ve ilgili membranların (endoplazmik retikulum) bütünlüğü normal hücre fonksiyonlarında gerekli olduğundan hem de istenilen enerji seviyelerinin korunumunda mitokondrilerin bütünlüğü gerekli olduğundan depolama sırasında canlılık ve vigor kayıplarının,

membran sistemlerinin bozulumuyla etkilenmesini beklemenin yanlış olamayacağını belirtmiştir.

Pek çok faktörün kontrolü altında olan hücre içi metabolik olayların sırasının ve işleyiş düzgünlüğünün sadece organeller içindeki metabolik enzimlerle değil, membran yapılarıyla da ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu yüzden, yaşlanmayla oluşan membran bozulmalarının, değişik derecelerdeki tohum zararlanması ve canlılık-vigor kaybıyla ilişkili farklı metabolik değişmelere neden olacağı ileri sürülmüştür (Bewley and Black, 1994).

Priestley and Leopold (1979) da yaşlanma sırasında hücre membranı organizasyonunun bozulmasının, tohum yaşlanmasını açıklayan önemli bir faktör olabileceğini belirtmektedir.

Canlı tohumun su alımı başlangıcında sitoplazmik maddelerin hızla dış ortama sızdığı belirlenmiş ve bunun hücre membranındaki zararlanmadan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Ancak bu zararlanmanın daha ziyade, membranın ani su alımıyla ilgili olarak geçici bir organizasyon bozukluğundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Bewley, 1986). Lee et al. (1995) tohumdan madde sızıntısının 1. fazı yani fiziksel fazı olarak nitelendirdikleri bu dönemin bir kaç dakika sürdüğünü belirtmektedir. Bu dönemde membran bütünlüğü bir anda sağlanamadığından, organik ve inorganik madde kaybı olduğu ileri sürülmektedir. Bu durumun zamanla, hücre yapısının enzimlerle tamiri ya da fiziksel olarak yeniden düzenlenmesiyle tersine döndüğü (Bewley and Black, 1994), ve sızan metabolitlerin aktif alınımıyla yeniden alındığı belirlenmiştir (Osborne, 1980). Ancak, zararlanmış tohumda membran tamir mekanizmasının yokluğu veya yetersizliği nedeniyle, sızıntının devam ederek 2. faz olan fizyolojik faza geçildiği belirtilmektedir (Lee et al., 1995). Embriyonun yaşlanma derecesine ve membranın işlevsel bozulma durumuna bağlı olarak, sitoplazmik madde kaybının arttığı ve müteakip alınımının azaldığı belirlenmiştir (Osborne, 1980).

Halder and Gupta (1980) 28°C'de %50, %85 ve %95 nemli ortamda 150 güne kadar yaşlandırdıkları ayçiçeği tohumlarından elektrolit, eriyebilir nitrojen ve karbonhidrat sızıntısında -depolama koşullarına bağlı olarak değişen oranlarda- artış olduğunu belirlemişlerdir. Canlılık kaybı hızındaki artış, sırasıyla %95, %85 ve %50 nispi nemde

depolananlarda olurken, sızıntı miktarındaki artışın %95 ve %85 nemde depolanan tohumlarda %50 nemde depolananlara göre daha az olduğunu saptamışlardır. Bunun muhtemelen yüksek nem içeriğinde depolanan tohumlarda ya membran geçirgenliğinin azalmasından ya da tohumda bulunan makromoleküllerin azalmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Basra and Malik (1994), yaşlanmış soğan tohumlarında yaşlanmayanlara göre daha fazla elektrolit sızıntısı olduğunu saptamışlardır. Parrish and Leopold (1978), dokudan elektrolit sızıntısının, madde difüzyonuna engel olan bozulmuş membran etkinliğinin bir göstergesi olduğunu belirtmektedir. Piestley(1986) de su alınımlı sırasında canlı tohumda hızla membranın biyokimyasal ve yapısal bütünlüğünün sağlandığını ancak yaşlanmış tohumda böyle bir düzenlenme olmadığı için elektrolit kaybının arttığını ifade etmektedir.

Bewley (1986), Simon ve Mills'e (1983) atfen tohum nemi %20'den az olanlarda, membranın iki katmanlı yapısını koruyabilmesi için yeterli su olmadığını ve fosfolipidlerin hexagonal fazda kendilerini düzenlediklerini belirtmektedir. Bu fazda, madde taşınımında önemli rol oynayan içsel membran proteinlerinin yer değiştirerek; su alınımlının ilk dönemlerinde madde taşınımı için kusurlu kanallar oluşturduğunu ve bunun sonucunda madde sızıntısının olduğunu ifade etmektedir.

Membran bütünlüğünün bozulması sonucu yaşlanan tohumdan su alınımlı sırasında canlı tohumlara göre dış ortama daha fazla madde sızıntısı olduğu belirlenmiştir. Zararlanmış bazı tür tohumlarından solunumla ilgili madde kaybı görülürken bazılarında ise şekerden çok aminoasit kaybı olduğu saptanmıştır. Ancak ne dereceye kadar bu madde kaybının çimlenmeyi etkilediği bilinmediği belirtilmiştir (Bewley, 1986). Ayrıca yaşlanan tohumdan sızan bu organik maddelerdeki artışın indirekt etkide bulunarak tohum yüzeyinde mikroorganizmayla bulaşmayı arttırdığı ve böylece sekonder zarara neden olduğu belirtilmektedir (Bewley and Black, 1994)

Tohumda yaşlanmayla oluşan membran zararını belirlemek amacıyla uzun süredir çok yaygın kullanılan bir yöntem tohumdan sızan maddelerin kondüktimetrik analizidir. Pek çok araştırmacı tohumdan sızan şeker, aminoasit; protein ve ion gibi maddelerin tohum kalitesiyle

ilişkinini inceleyerek canlılık kaybında membran zararının etkisini belirlemektedir.

Doijode (1990) soğan tohumlarında yaşlanmayla tohumdan sızan elektrolit miktarındaki artışın yanı sıra; sızıntı içindeki total şeker miktarında da artış olduğunu saptamıştır. Tohumda canlılık ve vigor kaybının, tohumdan madde sızıntısındaki artışla pozitif bir ilişkinin olduğunu belirtmiştir.

Lee et al. (1995) yaşlanmamış (çimlenebilen) ve yaşlandırılmış (çimlenemeyen) soğan, pırasa ve lahanada tohumlarında suda bekletildikleri süreye bağlı olarak şeker miktarındaki değişimi incelemişlerdir. Çalışmalarında yaşlanmayla birlikte tüm tohumlarda çimlenme azalırken, tohumdan sızan % şeker miktarının zamanla arttığını belirlemişlerdir. Yaşlanmamış tohumdan sızan şeker miktarının tüm türlerde 2mg/g tohum iken bu değerin yaşlanmış lahanada (35mg/g tohum) en fazla olduğu; bunu pırasa (12mg/g tohum) ve soğan (5mg/g tohum) tohumlarının izlediği belirlenmiştir. Bu tohumlarda membran tamir mekanizmasının yetersizliği ve metabolik aktivitenin düşüklüğü sonucu ortama salınan şekerin tohum tarafından absorbe edilemediği ve böylece ortamdaki şeker miktarında artışın olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, yaşlanmış tohumlardan sızan şekerin tüm türlerde glikoz, fruktoz, sakaroz ve staçiyoz içerdiğini, rafinozun sadece pırasa ve lahanada önemli miktarda olduğunu saptamışlardır. Yaşlanmış tohumdan sızan şeker içindeki sakaroza nazaran glikoz miktarının lahanada en fazla, soğanda en az olduğunu belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlardan, tohumdan sızan şekerin kalitatif ve kantitatif ölçümüyle tohum canlılığını belirlemede hızlı bir testin geliştirilebileceğini önermişlerdir.

%9 nemde $28\pm4^{\circ}\text{C}$ 'de üç yıla kadar yaşlandırılan Seletion-13 çeşidi soğan tohumlarında, yaşlanmayla birlikte çimlenmenin ve fide gelişiminin azalarak tohum canlılık ve vigorunda kayıpların olduğu belirlenmiştir. Ayrıca yaşlandırılan tohumlardan zamanla potasyum, UV absorblayan madde ve elektrolit sızıntısında artış olduğu saptanmıştır (Pandey, 1989a). Yine Pandey (1989b) %10 tohum neminde $28\pm4^{\circ}\text{C}$ 'de dört yıla kadar depoladığı fasulye (cv. Selection-9) tohumlarında yaşlanmayla birlikte tohumdan sızan elektrolit, UV absorblayan madde ve şeker miktarında artış olduğunu belirlemiştir. Tohumdan sızan

maddelerdeki artışa dayanarak, yaşlanmayla membran bütünlüğünün bozulduğunu ileri sürmüştür.

Taylor et al. (1995), pırasa, soğan, lahanası, domates ve biber tohumlarını %90 nispi nem ve 45°C'de yaşlandırdıktan sonra bunlarda kuru tohumun aminoasit içeriği ile 24 saatlik su alımı sırasında tohumdan sızan aminoasit miktarındaki değişim incelenmiştir. Tohum yaşlandıkça tüm türlerde kuru tohumun aminoasit içeriğinin az oranda arttığını, bununla birlikte sadece pırasa, soğan ve lahanada tohumdan sızan aminoasit miktarının büyük oranda arttığını saptamışlardır. Yaşlanma sonucu canlılığını kaybetmiş çimlenmeyen tohumlardan aminoasit sızıntısının en fazla karnabaharda (%86) olduğu bunu sırasıyla pırasa (%66) ve soğan (%58) tohumlarının izlediği belirlenmiştir. HPLC ile çimlenmeyen tohumlardan sızan amino asidi büyük oranda alanin, glutamik asit ve arginin aminoasitlerini içerdiği saptanmıştır.

Kalpna and Rao (1995, 1996), yaşlandırdıkları *Cajanus cajan* tohumlarında başlangıç su alımının yaşlanmayanlara göre çok hızlı olduğunu buna karşın ilerleyen zamanla su alımında azalma olduğunu saptamışlardır. Yaşlanan tohumda su alımında görülen bu düzensizliğin yanı sıra tohumdan madde sızıntısının artmasını ve solunum hızının azalmasını, hücre membranı sistemlerinin zararlanmasına yorumlamışlardır. Bu tür tohumlarında yaşlanmanın esas mekanizmasını, hücre organizasyonunun bozukluğu ve su alımını sırasında membran bütünlüğünün yeniden sağlanamaması olarak açıklamışlardır.

İki buğday çeşidi 50°C'de %100 nemde 36 saate kadar yaşlandırılarak farklı vigor gücüne sahip 12 parti elde edilmiştir. Tohum yaşlandıkça ve vigor gücü azaldıkça membran yapısının köttileşerek tohumdan elektrolit sızıntısının arttığı belirlenmiştir (Ram and Wiesner, 1988).

Dearman et al. (1986) 17 güne kadar 40°C'de %18 nemde yaşlandırdıkları soğan tohumlarında yaşlanmayla birlikte tohumdan sızan elektrolit miktarında artış belirlemişlerdir. Bununla birlikte soğan tohumlarında, tohumdan sızan maddelerin kondüktimetrik ölçümünün çimlenme performansı ve membran bütünlüğünün belirlenmesinde güvenilir bir yöntem olmadığını belirtmektedirler.

Tilden and West (1985), 41°C'de %100 nemde 50 saate kadar yaşlandırdıkları soya fasulyesi tohumlarına yaşlanmayla oluşan zararlanmaları iyileştirmek amacıyla hidrasyon ve bazı ön uygulamalar yapmışlardır. Hızlı su alınımlarını sağlayan uygulamalarda yaşlanmanın bir sonucu olarak tohumun imbibisyon (su alımı) zararına maruz kaldığını ve böylece tohumdan elektrolit sızıntısının fazla olduğunu belirlemişlerdir. Tohuma su alım hızının yavaşlatılmasıyla imbibisyon zararının azalarak çimlenmedeki kayıpların ve tohumdan madde sızıntısının önlendiğini saptamışlardır. Çalışmaları sonunda, hücre membranı geçirgenliği veya bütünlüğünün bozulmasının, yaşlanma sırasında çimlenmedeki kayıpların esas faktörü olabileceği ileri sürülmüştür.

Yaşlanmış tohumların membran lezyonları biyokimyasal esasta dikkatli olarak incelemeye maruz kalmıştır. Çünkü bu bozulmalar sadece direk olarak hücresel bütünlüğü zararlandırmamakta, ayrıca solunum gibi membran bağlı metabolik aktivitelerin azalmasına neden olmaktadır. Lipidlerdeki değişimler, membran fonksiyonundaki zararlanmayı açıklamakta üzerinde çok araştırma yapılan konudur.

2.3.3. Biyokimyasal değişimler

2.3.3.1. Yağlardaki değişim ve lipid peroksidasyonu

Son yıllarda yapılan çalışmalarda tohum yaşlanmasını açıklamada üzerinde en çok durulan hipotez lipid peroksidasyonu ve bağlı reaksiyonlar sonucu tohumun canlılığını kaybetmesidir.

Bitki ve hayvanlarda lipid peroksidasyonu ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda lipid peroksidasyonunun yaşlanma mekanizmasında etkili olduğu belirtilmiştir (Wilson and McDonald, 1986).

Lipid peroksidasyonu, oksijen varlığında yağ asidi hidrokarbon zincirinin yüksek oranda serbest radikalli ortamlar oluşturarak okside olması şeklinde açıklanmıştır. Tohumda bulunan çoğu doymamış yağ asitlerinin, peroksidatif bozulmaya oldukça hassas olduğu ve yağ asitlerinin doymamışlık derecesi arttıkça, peroksidasyona maruz kalma

derecesinin de arttığı ifade edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinden olan oleik ve linoleik asitlerin lipid peroksidasyonunun muhtemel adayları olduğu belirtilmiştir (Wilson and McDonald, 1986).

Priestley (1986), doymamış yağ asitlerinin oksidasyonun ya O_2 'nin otokatolitik etkisiyle ya da tohumda bulunan lipoksigenaz aracılığıyla olduğunu ifade etmiştir. Bu değişimlerin yaşlanmayla ilişkili olup olmadığının kuşkulu olmasına rağmen, lipidlerin oksidatif parçalanmalarına dayalı tohum yaşlanma hipotezlerinin yıllardır gündemde olduğunu vurgulamıştır.

Enzimatik olmayan lipid oksidasyonunda, doymamış yağ asitleri O_2 ile reaksiyona girerek serbest radikalleri oluşturmakta ve oluşan bu radikaller diğer yağ asitlerinin çift bağlarını ayırmak suretiyle hem yağlara zarar vermekte hem de yeni serbest radikaller üreterek reaksiyonun devamını sağlamaktadır. Ayrıca yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyonu sonucu olefin, alkol, alken, karbonil gibi toksik ürünler oluşmaktadır (Wilson and McDonald, 1986; Thompson et al., 1987).

Harrington (1973), bu toksik ürünlerin proteinlerle reaksiyona girmesiyle enzim aktivitesinin bozulduğunu, membran zararlanması ve histon denatürasyonu olduğunu; nükleik asitlerle reaksiyonuyla ise kromozom mutasyonlarının olduğunu belirtmiş ve aşağıda görüldüğü şekilde şematize etmiştir.

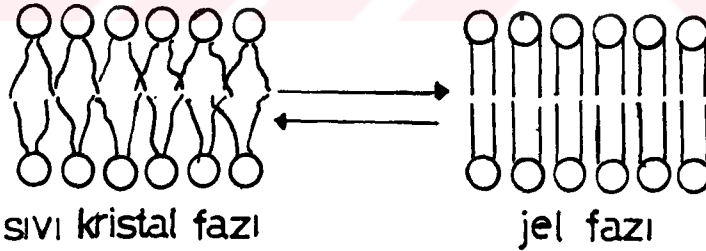
RH (doymamış yağ asitleri) + O_2	serbest radikaller (SR)
Doymamış yağ asitleri + SR	toksik maddeler
Toksik maddeler + protein	enzim inaktivasyonu
	membran zararlanması
	histon denatürasyonu
Karbonil + nükleik asitler	kromozom mutasyonları

Serbest radikal reaksiyonları bitki yaşlanmasının kalıtsal özelliğidir. Moleküler oksijenden türeyen radikal türleri, sonunda hücre ölümüne neden olan oksidatif zararlanmaların esas ortamlarıdır. Serbest radikaller, protein, lipid, polisakkarid ve nükleik asit gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu molekülleri zararlandırmaktadırlar. Bu zararlanmaların göstergesi olarak, membran akışkanlığı ve geçirgenliği

değişmekte, enzim ve fonksiyonları kaybolmakta, DNA parçalanması nedeniyle genomik zararlanmalar olmaktadır (Thompson et al., 1987).

Oksidatif zararlanmaya neden olan aktif oksijen (serbest radikal) türlerinin, süperoksit anyonu (O_2^-), peroksisiradikal (HO_2^*), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksiradikal (OH^*), alkoksiradikal (RO^*), peroksisiradikal (ROO^*), organik hidroperoksit ($ROOH$), singlet oksijeni ($^1O_2$) içerdiği belirtilmiştir (Wilson and McDonald, 1986; Thompson et al., 1987).

Serbest radikallerin enzimatik oluşumunda ise membran lipid komponentlerinin lipoksigenaz ile parçalanmasıyla serbest radikallerin salındığı ve bunların proteinlere etki yaptıkları belirtilmiştir. Bu şekilde membran bütünlüğünün bozulacağı ve fonksiyonlarını kaybedecekleri ifade edilmiştir. Normalde sıvı-kristalin yapıda olan membranda, lipid peroksidasyonu ile hidrokarbon zincirlerinin mobilitelerini kaybederek jel fazı oluşturduğu (Şekil 2.3) ve böylece membranın fonksiyonunu yitirdiği belirtilmiştir (Bewley, 1986).



Şekil 2.3 Hücre membranda sıvı-kristalin fazı ve jel fazının şematizesi (Bewley and Black, 1994).

McKersie and Leshem (1994), sıvı-kristalin fazda membranın fosfolipid ve içsel proteinlerinin hareketlerinin mümkün olduğunu; jel

fazında ise lipid hareketlerinin sınırlandığını, açıl zincirlerinin sıkıştığını, proteinlerle lipidler arası bağlantının değiştiğini ve bu şekilde düzensizleşen membran tabakasının sitoplazmik maddelerin sızmasına ve membran enzimlerinin bozulmasına neden olduğunu belirtmişlerdir.

Bewley (1986) özellikle yaşlanmanın sonucu olarak hücre membranlarının zararlanmasında peroksidasyonun rolü üzerinde önemli bir yoğunlaşma olduğunu belirtmiştir. Reaksiyon zincirinde elektron alıcısı veya vericisi olarak iş gören serbest radikallerin, metabolizmanın bozulduğu yerden ayrılarak komşu moleküllere gidip biyolojik zararlanmalara neden olabileceğini ve dolayısıyla elektron taşıyıcıyla ilgili olduğundan membranların serbest radikal reaksiyonlarına karşı hassas olduklarını ileri sürmüştür.

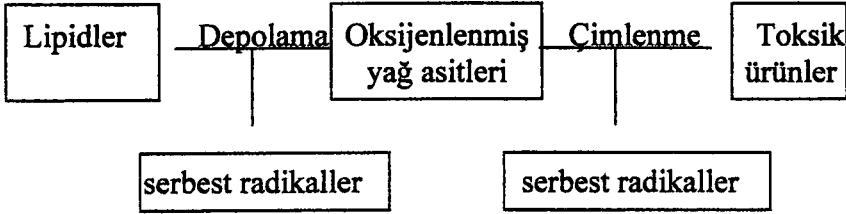
Wilson and McDonald (1986) da membranların daha fazla yüzeye sahip olması ve depo lipidlerine nazaran daha fazla doymamış yağ asidi içermesi nedeniyle lipid peroksidasyonundan direk zarar gören kısımlar olacağını ifade etmişlerdir. Lipid peroksidasyonu sonucu membranların bütünlüğünün bozularak geçirgenliğinin artacağını, özellikle mitokondrial membranda bu şekilde geçirgenliğin artması sonucu solunum aktivitesinin azalacağını belirtmişlerdir.

Lipid peroksidasyonunun canlılarda 3 şekilde zarar mekanizmasına sahip olduğu vurgulanmıştır:

- * Membran lipidlerinin parçalanması,
- * Serbest radikallerin oluşumu ve oksidasyonu teşvik edici etkisi,
- * Sitotoksik aldehytlerin oluşumu (Wilson and McDonald, 1986).

Wilson and McDonald (1986) geliştirdikleri modelde; tohumlar kuru koşullarda depolandıklarında lipidlerin direk atmosferin oksijeni ile otokatalitik etkileşime maruz kaldıklarını, daha yüksek nem içeriğindeki tohumlarda lipoksigenaz enziminin alternatif mekanizma olabileceğini belirtmişlerdir. Tohum lipidlerinin oksijenle etkileşimi sonucu oluşan serbest radikallerin yakın moleküllerle reaksiyona girerek onlara zarar verebileceğini; oluşan oksijenlenmiş yağ asitlerinin ise enzim aktivitesi yokluğundan dolayı tohumda birikerek hidrasyon sırasında belirlenebilecek zararlanmalara neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Tohumun çimlenme sırasında su alırken hidroperoksit liyaz enziminin aktif olarak oksijenlenmiş yağ asitlerini parçaladığını ve bu

reaksiyonunun hem serbest radikal oluşumunu arttırarak hem de solunumu, DNA ve protein sentezini önleyen, proteinlerin yapısını bozan toksik sekonder ürünleri oluşturmak suretiyle tohuma zarar verdiğini ifade etmişlerdir (Şekil 2.4).

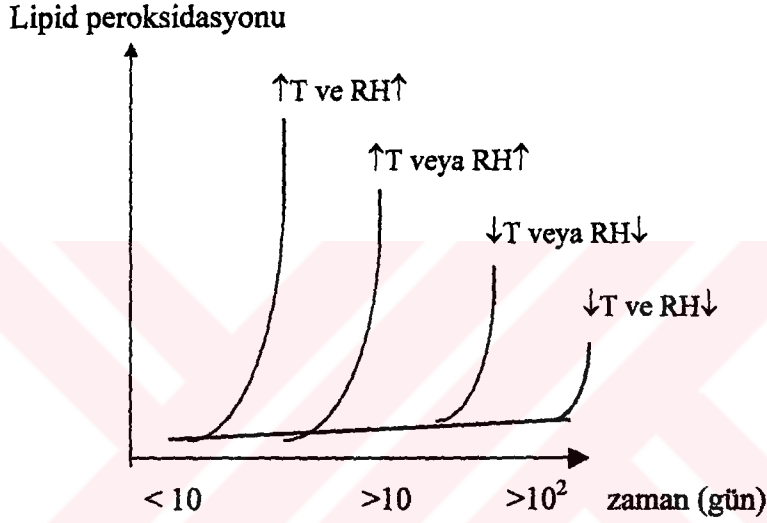


Şekil 2.4 Wilson and McDonald'ın (1986) geliştirdikleri tohum yaşlanmasındaki lipid peroksidasyon modeli

Smith and Berjak (1995) da hem fosfolipid hem de depo lipidleri olan triaçilgliseroller içeren peroksidasyon modeli geliştirmişlerdir. Farklı depo koşullarına bağlı olarak, fosfolipidlerin ve depo lipidlerinin farklı derecelerde perokside olacakları ve peroksidasyon zararının şiddetine göre tohumun su alınımlı sırasında bir takım değişimlerin görüleceğini belirtmişlerdir. Membran lipidleri peroksidasyonunun biyokimyasal ve yapısal membran lezyonlarına neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Depo lipidlerinin düşük seviyedeki peroksidasyonunda yağ asidi mobilasyonu-nun bozulacağını ve lipid kütlelerinin birleşeceğini; daha aşırı peroksidasyonunda ise otokatalitik serbest radikal etkilerini arttırarak hücre fonksiyonlarında ciddi zararlara neden olacağını önermişlerdir.

Tohum neminin lipid oksidasyonunu kontrol eden önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. Tohum neminin %5'in altında olması halinde makro molekülleri çevreleyen suyun düzensiz hale geldiği ve lipidlerle makro moleküller arasında direk temasın olduğu, bunun sonucunda makromoleküllerin serbest radikal etkilere daha fazla maruz kaldıkları rapor edilmiştir (Harrington, 1973).

Smith and Berjak (1995), depo koşullarının lipid peroksidasyonu derecesine etki ettiğini; depo nemi ve sıcaklığı artıkça reaksiyonun da arttığını, düşük nem ve sıcaklıkta reaksiyon hızının yavaş başlayıp zaman ilerledikçe hızlandığını belirtmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Depolama koşulların göre lipid peroksidasyon hızındaki değişim (Smith and Berjak, 1995).

Tohumların yaşlanmasında lipid peroksidasyonunun rolünü ve etki mekanizmasını belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda; tohumun lipid ve yağ asitleri içeriğindeki değişimlerin yanısıra peroksidasyon sonucu oluşan toksik sekonder ürünleri ve peroksidasyonu önleyen maddelerindeki değişimlerin de incelendiği görülmektedir.

Yağlar bazı tür tohumların kuru ağırlığının %2 gibi az bir kısmını oluşturabildiği gibi bazı türlerde %50'sinin üzerine çıkmaktadır. Tohum yağları, fosfolipid ve depo yağlarını (trigliseridler) içerir. Polar lipid olan fosfolipidler, tohumda az miktarda (~kuru ağırlığının %1-2 si kadar) bulunurlar (Priestley, 1986) ve hücre membranlarının temel iki katmanlı yapısını oluştururlar (Bewley, 1986).

Depo lipidlerinin miktarı türlere ve hatta aynı tohumun farklı kısımlarına göre değişmektedir. Bu lipidler yağ kütleleri olarak sitasolde bulunur. En çok karşılaşılanı triaçilgliserollerdir (Priestley, 1986).

Çeşitli çalışmalarda uzayan depolama sırasında bazı yağlı tohumlu türlerde total lipidlerde azalma olduğu belirlenmiş ve bunun nispeten nemli depo koşullarında, tohumların (veya tohum mikroflorasının) yavaş metabolizması sonucunda olduğu belirtilmiştir (Priestley, 1986).

Perl et al.'ın (1987) bazı tür tohumlarının yaşlanmaya bağlı olarak lipid içerikleri ve yağ asitleri bileşimlerinde meydana gelen değişimleri inceledikleri çalışmalarında; tohumları yağ içeriklerine göre iki gruba ayırmışlardır. Yüksek lipid içeriğindeki tohumlardan hıyar, kabak ve bezelye tohumlarının lipid miktarında artış olduğunu belirlemişler ve bu artışın, yaşlanma koşullarında karbonhidrat kaynağından türeyen kullanılmamış enerjinin varlığında birikiminin ve lipid sentezinin aktif olmasının bir sonucu olduğunu ifade etmişlerdir. Düşük lipid içerikli tohum grubundan doğal yaşlanan mısır tohumları yanı sıra hızlandırılmış yaşlanma uygulanan bakla ve havuç tohumlarında total lipidlerin yaklaşık %20-30 oranında azaldığını, buna karşın hızlandırılmış yaşlanma uygulanan biber ve soğanda tohumlarında ise önemli bir değişme olmadığını belirlemişlerdir.

Nakayama et al. (1981), %13 nemde 35 °C'de 6 ay depolanan soya fasulyesi tohumlarında lipid fraksiyonlarının yaklaşık %15'inin, fosfolipidlerin ise %40'nın eksildiğini ve bu koşullarda 2 ay içinde canlılıklarını hızla kaybettiklerini saptamışlardır (Priestley'den, 1986).

Priestley and Leopold (1979), 40°C'de %100 nemde 5 gün yaşlandırdıkları soya fasulyesi tohumlarında fosfolipid miktarında az bir azalma (%4) buna karşın total lipidlerde %20'lik bir artış belirlemişlerdir.

Yaşlanma sırasında tohum zararlanmasında hücre membranı organizasyonunun bozulmasının önemli bir faktör olduğu (Priestley and Leopold, 1979) düşünülerek pek çok araştırmacı yaşlanma sırasında depo lipidlerindeki değişime nazaran membran lipidindeki değişimi incelenmiştir.

Koostra and Harrington (1969); doğal yaşılanan hıyar tohumlarında yaşlanmayla total lipid ve fosfolipid miktarında önemli değişme belirleyemezken, yüksek sıcaklık ve nem uygulanarak hızla yaşlandırılanların fosfolipid miktarında önemli azalma saptamışlardır (Çizelge 2.2, Abdul-Baki and Anderson'dan, 1972).

Çizelge 2.2 Yaşlandırılmış hıyar tohumlarında total lipid ve fosfolipidlerdeki değişim (Koostra and Harrington, 1969; Abdul-Baki and Anderson'dan, 1972).

Yaş (Yıl)	Radisil çıkışı (%)	Lipid (%)		Yaş (Hafta)	Kökçük çıkışı (%)	Lipid (%)	
		Total	Fosfolipid			Total	Fosfolipid
1	99	28.6	1.4	0	99	23.3	1.3
2	100	26.2	1.1	1	83	28.6	1.4
3	98	31.1	1.1	2	81	27.8	1.1
6	96	24.7	1.0	3	49	26.1	0.6
11	70	22.4	1.2	4	2	13.4	0.5

%40 nemde ve 5°C'de 38 ay depolanan yer fıstığı tohumlarının çimlenme gücü %94'ten %39'a düşerken, fosfolipid içeriğinin de %75 oranında azaldığı; %90 nemde ve 38°C'de yaşlandırma ile çimlenme gücünün %15'e düştüğü, fosfolipiddeki kaybın ise %80 olduğu rapor edilmiştir. Yaşlanmayla meydana gelen fosfolipid kaybının membran geçirgenliği ve canlılık kaybı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Pearce and Abdel Samad, 1980).

Cajanus cajan'ın 3 farklı çeşidinin kullanıldığı çalışmada hızlandırılmış yaşlanma uygulamasının artışıyla total fosfolipidlerde düşme saptanmıştır. Çeşitlerin canlılık ve vigorlarına bağlı olarak fosfolipid azalması da farklı bulunmuştur. 8 günlük hızlandırılmış yaşlanma sonrası çimlenme gücündeki düşüşün en fazla olduğu çeşitte fosfolipid içeriğinin en düşük olduğu belirlenmiştir (Kalpana and Rao, 1996).

Basavarajappa et al. (1991), 44°C ve %100 nemde 96 saate kadar yaşlandırdıkları mısır tohumlarında, yaşlanmayla tohumların total fosfolipid ve serbest yağ asitleri içeriği ile askorbat seviyeleri, fosfolipaz ve peroksidaz enzimlerinin aktivitelerindeki değişimleri incelemişlerdir. Yaşlanma ile fosfolipid içeriğinin %60 oranında azaldığını saptamışlar ve bu azalmanın sebebini membran lipid peroksidasyonu olarak belirtmişlerdir. Buna karşın yaşlanmayla total serbest yağ asidi ve lipid peroksidasyonu ürünü olan malonaldehid içeriklerinin 2.5 kat arttığını belirlemişlerdir. Membran lipidlerine etki ederek yağ asitlerinin salınımını sağlayan fosfolipaz-A enzimi aktivitesinde saptadıkları artışın lipid peroksidasyonu ve bunun sonucu olarak fosfolipidlerdeki azalmanın göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında lipid peroksidasyonu ile oluşan serbest radikallerin zarar verici etkilerini bozan peroksidaz enzimi aktivitesinin ve askorbat içeriğinin yaşlanmayla birlikte azaldığını belirlemişlerdir.

Chapman and Robertson'un (1977) yaptıkları çalışma yaşlanmayla fosfolipid miktarının azaldığı yargısına karşıtlık içermektedir. 35°C ve %85 nispi nemde 6 gün bekletilen soya fasulyelerinde fosfolipid seviyelerinin 2'ye katlandığı, 27 günün üzerinde ise 3 katlık bir artışın olduğu rapor edilmiştir. Powell and Harman (1985) da 45°C ve %20 tohum neminde yaşlandırdıkları bezelye tohumlarında fosfolipid içeriğinin artış gösterdiğini bu koşullarda, muhtemel tamir mekanizması nedeniyle tohum performansında hafif bir artışın olabileceğini belirtmişlerdir.

Yaşlanmış tohumda fosfolipid seviyesinde azalma iki öneri ile açıklanmaktadır:

- * Fosfolipidlerin peroksidasyona maruz kalması,
- * Lipolitik enzimler ve özellikle fosfolipazlar tarafından parçalanması (Priestley, 1986).

Yaşlanan tohumlarda fosfolipidlerin hidrolizi veya peroksidasyonu sonucu fosfolipid bileşimlerinde değişim olduğu birçok çalışmada belirlenmiştir.

Powel and Matthews (1981) %94 nispi nem ve 25°C'de 9 hafta yaşlandırdıkları bezelye tohumu kotiledonlarının total fosfolipid içeriklerinin %50 oranında azaldığını, bunun fosfadil kolin (PC),

fosfatidik asit (PA) ve fosfadil inisitol (PI) fosfolipidlerindeki azalmadan kaynaklandığını saptamışlardır. Pearce and Leopold (1979) de %100 nispi nem ve 45°C'de 4gün yaşlandırdıkları soya fasulyesi tohumlarında fosfadil kolin (%33) ve fosfadil etanolamin (%5) fosfolipidlerinde azalma belirlemişlerdir.

Salama and Pearce (1993), hızlı yaşlanma (40°C ve %75 nispi nemde) sırasında soğan ve hıyar tohumlarında fosfatidik asit (PA) miktarının arttığını belirlerken; doğal yaşlanan soğan tohumlarında böyle bir değişim görmemişlerdir. Hızlı yaşlandırılan hıyarda tohum kalitesi büyük oranda düştüğünde fosfadil kolin (PC), fosfadil etanolamin (PE) ve fosfadil inisitol (PI) fosfolipidlerinde önemli düşüşler belirlemişlerdir. Fosfolipidlerdeki azalmanın yaşlanmanın ilk sinyalleri olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, yaşlanma sırasında her iki tohumda fosfolipaz D enzimi aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir. Yaşlanma sırasında artan fosfatidik asit içeriği ile fosfolipaz D enzimi aktivitesinin, fosfolipidlerin hidroliz edilerek parçalandığına işaret ettiğini ve bunun da yaşlanmanın ilk aşaması olduğunu ileri sürmüşlerdir. Lipid peroksidasyonunun erken ürünleri olan bir bileşiğin (konjuge dienlerin), yaşlanmış hıyar tohumlarında az miktarda olduğunu saptayarak, hıyar tohumlarında lipid peroksidasyonunun yaşlanmanın esas faktörü olmadığını belirtmişlerdir. Buna karşın bu bileşiğin (konjuge dien) soğan tohumlarında oldukça fazla miktarda olduğu görülmüş ve soğan tohumlarındaki yaşlanmada lipid peroksidasyonunun etkili olduğunu vurgulamışlardır.

Madhava and Rao (1996), yaşlandırdıkları *Cajanus cajan*'ın üç çeşidinde de yaşlanmayla birlikte total fosfolipidlerin azaldığını belirlemişlerdir. Bu azalmanın her üç türde de belirledikleri fosfadil kolin (PC) ve fosfadil etanolamindeki (PE) azalmadan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Tohum triacylglicerollerin lipazlar tarafından parçalanmayla yağ asitlerinin serbest kalacağı ve tohumda serbest yağ asitlerinin birikimi sonucu, tohum ekstraksiyonunun PH'sının düşeceği belirtilmiştir. Bu şekilde özellikle yağlı tohumlarda yağ asiditesinin ölçümünün uzun yıllar tohum kalitesinin göstergesi olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Priestley, 1986).

Bewley and Black (1982) de tohumda yaşlanmayla birlikte yağların hidroliziyle serbest yağ asitlerinin salındığını ve bunun sonucu olarak tohumda serbest yağ asitlerinin birikiminin canlılık kaybında bir dereceye kadar sorumlu olacağını ifade etmişlerdir. Yağ asitleri varlığında, izole edilen mitokondrilerde şişme olduğu ve normal fonksiyonlarında bozulma gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Aung and McDonald (1995) da yüksek yağ içerikli tohum olan yer fıstığında, yağ asitlerinin doyma seviyelerindeki değişimin membran bütünlüğünü etkileyerek, hücrel metabolitlerin dış ortama sızıntısını arttıracaklarını ileri sürmüşlerdir.

Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalara baktığımızda tohum türü, yaşlanma şekli ve depo koşullarına bağlı olarak depo lipidleri ve fosfolipidlerin içeriklerinde ve yağ asitlerindeki değişimler farklı olmaktadır.

Steward and Bewley (1980), 45°C ve %100 nemde 4 gün hızlandırılmış yaşlanmaya maruz kalan soya fasulyesi tohumlarında, linolenik asit miktarında yaşlanmanın 1. gününde %20'lik hızlı bir azalma belirlemişlerdir. Aynı zamanda, çimlenme gücünde %26'lık azalmayla birlikte tohumdan elektrolit sızıntısının ikiye katlandığını saptamışlardır.

Perl et al. (1987) 'yüksek yağ içerikli tohum' olarak nitelendirdikleri hıyar, bezelye ve kabakta yaşlanmayla yağ asitlerinde bir değişme belirleyemezken, 'düşük yağ içerikli' olan mısır, biber ve baklada doymuş yağ asitlerinde artış; oleik asitlerde azalma belirlemişlerdir. Oleik asitteki azalmanın vigor kaybıyla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Soğan tohumlarında ise yağ asitlerinde miktarsal değişme saptayamamışlardır.

4°C ve %28-30 nispi nem ile 41°C ve yüksek nem içeriğinde 11 ay depolanan soğan tohumlarında yaşlanmayla birlikte lipid komponentlerinde değişme olduğu belirlenmiştir. Yaşlanan tohumların lipidlerinin kromatografik incelemeleri sonucunda, depo lipidlerinin parçalandığı, palmitik ve linoleik asitlerde artma olduğu, daha büyük moleküler ağırlıktaki yağ asitleri ve vitamin-E içeriğinin azaldığı görülmüştür (Hannan, 1991).

Yaşlanmaya bağlı olarak hem total hem de fosfolipidlerdeki yağ asitlerinin değişimleri farklı olmaktadır. Nitekim, doğal yaşlanan soya fasulyesinde total lipidlerdeki linolenik asit oranında %30'luk azalma belirlenirken, polarlipidlerdeki linoleik asitte %20 azalma saptanmıştır. Oleik asit bakımından total lipidlerde %37'lik bir artış olurken, polar lipidlerde %4 lük azalma belirlenmiştir (Priestley and Leopold, 1983).

Pearce and Abdel Samad (1980), 5°C ve %30 nemde 38 ay depolanan yerfıstığı tohumlarının fosfolipidlerdeki total yağ asidi içeriğinin %70 oranında azaldığını, 38°C ve %90 nemde 28 gün hızlandırılmış yaşlanmaya maruz kalan tohumlarda bu azalmanın %90 oranında olduğu ve tohumdan madde sızının 5 kat arttığını saptamışlardır.

Harman and Mattick (1976), 30°C ve %92 nemde 10 hafta depolanan bezelye tohumlarında, lipid peroksidasyonunun görülüp görülmediğini linoleik ve linolenik asitlerin değişimlerini incelemek suretiyle belirlemişlerdir. Çimlenmedeki düşüşle (%100'den %5'e) birlikte her iki yağ asidinde de azalma olduğunu saptayarak, çimlenme azalmasıyla peroksi-dasyonun korelasyon içinde olduğunu ileri sürmüşlerdir (Wilson and McDonald'tan, 1986).

Gerek depo gerekse fosfolipidlerin yağ asidi içeriklerinin yaşlanmayla değiştiğini belirleyen çalışmalar yanında soya fasulyesinde (Priestley and Leopold, 1979) ve yerfıstığında (Pearce and Abdel Samad, 1980) yaşlanmayla yağ asitlerinde değişim olmadığı saptanmıştır.

Serbest radikallerin hücredeki seviyelerini düzenleyerek onların metabolizmaya zarar verici etkilerini ortadan kaldıran mekanizmalar mevcuttur. Bunlar, süperoksitle reaksiyona girip oksijen oluşturarak onun zararlı etkisini ortadan kaldıran askorbik asit, glutation, tokoferol, karotenoid, poliamin, mannitol ve fenilalanin gibi antioksidantlar yanısıra süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz gibi enzimleri de içermektedir (Thompson et al., 1987).

Harrington (1973), antioksidantların, doymamış yağ asitlerinin bulundukları bölgeler boyunca lipoksigenaz aktivitesine fiziksel bir engel oluşturarak membran içindeki lipid oksidasyonunu engellediklerini belirtmiştir.

Thompson et al. (1987), vitamin-E'nin süperoksit ve singlet oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu sonlandırdığını ve bu etkinin askorbatlarla birlikte olabildiğini belirtmişlerdir. Bu nedenle yaşlanmada vitamin-C/vitamin-E oranının önemli olduğunu belirterek, bu oranın azalmasının yüksek lipid peroksidasyonu ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Wilson and McDonald (1986), α -tokoferollerin (vitamin-E) lipid peroksidasyonunu önleyerek tohumda fonksiyonel oldukları düşüncesinden hareketle α -tokoferol uyguladıkları tohumlarda depolama ömrünün arttığını görmüşlerdir.

Hannan (1991), yaşlanma sırasında soğan tohumlarında görülen canlılık kaybıyla birlikte α -tokoferol içeriğinin azaldığını belirlemiştir.

Yaşlanmış soğan tohumlarında yaşlanmayanlara göre canlılık kaybının artışıyla birlikte askorbik asit ve E vitamini gibi antioksidant seviyelerinin ve serbest radikalleri parçalayarak onları etkisiz hale getiren peroksidaz ve katalaz enzimlerinin aktivasyonlarının azaldığı ve böylece lipid peroksidasyonunun arttığı saptanmıştır (Basu and Malik, 1994).

2.3.3.2. Protein ve enzimlerdeki değişimler

Çimlenmenin tamamlanması ve kökçük çıkışının olması için protein sentezi gerekmektedir (Bewley and Black, 1982). Çimlenmenin başlangıcında protein sentezi kuru tohumda bulunan RNA komponentlerine bağlı olarak gerçekleşmekte, çimlenmenin daha ileri safhalarında ise protein sentezi için yeni RNA komponentleri gerekmektedir (Halmer and Bewley, 1984).

Tohumda depo rezervleri ve enzimleri olarak iş gören proteinlerde yaşlanmayla meydana gelen yapısal değişimlere ilişkin pek çok çalışma vardır.

Harrington (1973), verilerin eksik olmasına karşın, yaşlanmanın esas nedeninin protein bozulumu (denatürasyon) olduğuna dair kuvvetli inanışların varlığına dikkat çekmiştir. Proteindeki bu bozulmanın, protein polimerizasyonu veya protein moleküllerinin çapraz bağlanmalarıyla

ilgili olduğunu belirtmektedir. Böylece, kromozomların histon proteinlerinin bozulumunun DNA aktivasyonunu bloke edeceği; enzim proteinlerinin bozulumunun enzimleri inaktif edeceği; membran proteinlerinin bozulumunun da membran geçirgenliğini arttıracaklarını ileri sürmüştür.

Jones et al. (1942), zararlanmayı teşvik edici koşullarda 24 ay depolanan buğday tohumlarında proteinlerdeki değişimi incelemiş ve 3 farklı değişim belirlemiştir (Abdul-Baki and Anderson'dan, 1972):

- * Su da eriyebilirliğin azalması,
- * Protein moleküllerinin kısmi parçalanması,
- * Pepsin ve tripsin proteolitik enzimleri tarafından proteinlerin parçalanmasının azalması.

Yaşlandırma uygulaması sonrası (%100 nispi nem, 42°C'de 4 gün) mısır tohumlarında suda eriyebilir protein içeriğinde %50 azalma belirlenerek, bu azalmanın yaşlanma sırasında protein denatürasyonu ile ilgili olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, proteaz aktivitesinde artış saptanmış ve bunun proteinleri hidrolize ederek aminoasit miktarında artışa neden olduğu ileri sürülmüştür (Basavarajappa et al, 1991).

Yaşlanmış üçgül ve İngiliz çimi (Ching ve Schoolcroft, 1968), pırasa, soğan, lahana, domates ve biber tohumlarında (Roberts, 1972), artan aminoasit miktarına karşın proteinlerde azalma belirlenerek; proteinlerdeki bu kaybın derecesinin depolama koşullarına bağlı olarak değiştiği ifade edilmiştir.

Halder and Gupta (1980), %50, 85 ve 95 nispi nemde 28°C'de yaşlandırdıkları ayçiçeği tohumlarında depolama nemi artıkça yaşlanmayla birlikte eriyebilir proteinlerin azaldığını buna karşın aminoasit içeriğinin arttığını saptamışlardır.

Hızlandırılmış yaşlanmaya maruz kalan *Cajanus cajan* tohumlarında yaşlanma sonrası çimlenme gücünün, kontrole göre ICPL87 çeşidinde % 95, T21 çeşidinde % 49 ve PDM1 çeşidinde % 91 oranında azaldığı görülmüştür. Yaşlanmayla birlikte tohumun protein içeriğindeki azalmanın ICPL87 çeşidinde % 17.5, T21'de % 7.4 ve PDM1'de % 12.1 olduğu belirlenmiş ve yaşlanmayla tohumda meydana gelen canlılık kaybının proteinlerdeki azalmayla ilgili

olabileceği belirtilmiştir (Kalpana and Rao, 1993). Bu tür tohumlarında yaşlanma sırasında protein kaybındaki azalmayla birlikte protein parçalanmasının göstergesi olan aminoasit seviyelerinin de arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca yaşlanma süresinin artışıyla protein sentezleme yeteneğinin de azaldığını, hidrolitik enzimlerden proteazın aktivitesinde artış olduğunu saptayarak, bu tür tohumların yaşlanmasında bu enzimin önemli rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (Kalpana and Rao, 1997).

Fasulyelerde (*Phaseolus vulgaris*) yapılan bir çalışmada, yaşlanmayla protein içeriğinde önemli azalma olduğu saptanmıştır. Protein miktarı yaşlanmayanlarda kuru ağırlığın yaklaşık %26'sı iken 42°C ve %100 nem de 16 gün yaşlanmaya maruz kalanlarda %19'a düşmüştür (Begnami and Cortelazzo, 1996).

Blackman and Leopold (1992) tohum yaşlanmasının enzimatik kapasite ve eriyebilir total protein miktarında azalmaya neden olduğunu dikkati çekerek, proteinlerin bazı bozucu reaksiyonların hedefi olduğunu belirtmişlerdir. Proteinlere karşı bu bozucu reaksiyonlardan biri olan Amadori-Mailad reaksiyonunda; protein amino gruplarının indirgen şekerlerle reaksiyona girerek fruktoz türevleri veya şekerli protein bileşikler gibi 'Amadori' ürünlerini oluşturduğunu daha sonra bunların kendi aralarında kompleks interaksiyonları sonucu polimerik kahverengi bileşiklerin oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Aynı araştırmacılar, proteinleri etkileyen diğer reaksiyonun ise, proteinlerin serbest radikal oksidasyonu olduğunu belirtmişlerdir. Bu reaksiyonda, proteinlerin lipid peroksidasyonu ürünleriyle interaksiyona girmesi sonucu protein yapılarında kırılma ve polimerizasyon gibi zararlanmış oluşumların meydana geldiğini ileri sürmüşlerdir.

Yaşlanmış buğday, ayçiçeği (Sutulov, 1965) ve bazı karnabahar-lahana grubu türlerinde (Laukov, 1969a) proteinlerin sülfidril grubunun oksidasyonu sonucu kusurlu protein yapılarının oluştuğu ve böylece canlılık kaybının meydana geldiği belirtilmiştir (Priestley'den, 1986).

Canlılık kaybıyla protein yapılarında meydana gelen değişimlerden başka protein sentez sisteminde de zararlanmaların olduğunu gösteren çalışmalar vardır.

Protein sentez sistemindeki bozulmaların ya DNA zararlanmasına bağılı olarak transkripsiyon mekanizmasının bozulmasının ya da translokasyon seviyesindeki bozulmaların sonucu olduğu belirtilmiştir (Bewley and Black, 1982).

Yaşlanma sırasında ve canlılığını kaybetmiş pirinç embriyolarında DNA'nın parçalanması sonucu transkripsiyonda hatalar olduğu ve böylece protein sentezinin aksadığı belirtilmiştir (Osborne, 1980).

Kuru pirinç embriyolarında yaşlanmayla birlikte rRNA'ların bütünlüğünde bozulmaların olduğu ve rRNA'ların elektroforetik ayrımı ile yüksek moleküler ağırlıktaki RNA komponentlerinin parçalandığını belirlenmiştir (Roberts, 1972). Yüksek moleküler ağırlıktaki rRNA eksikliği, ne yeni mRNA sentezinin ne de yeni ribozom sentezinin olabileceğinin göstergesi olarak yorumlanmıştır. rRNA'lardaki bu parçalanma nükleazların sürekli fonksiyonuna atfedilmiştir (Osborne, 1980).

Ayrıca uzun ömürlü (long-lived) mRNA'nın aktivite kaybı yanı sıra yeni sentezlenen mRNA'larda da azalma olduğu ve bunun paralelinde de protein sentezinde de azalma olduğu belirtilmiştir (Smith and Berjak, 1995).

Yaşlanmayla enzimlerdeki değişimlerin incelendiği çalışmalarda, bazı enzimlerin aktivitelerinin azaldığı, buna karşın bazılarının aktivitelerinde artış olduğu, bazı enzimlerin ise elektroforetik incelenmeleri sonunda çoklu formlar (isoenzimler) oluşturarak yapılarının bozulduğu belirlenmiştir.

Hızlandırılmış yaşlanma uygulanmış susam tohumlarında, canlılık ve vigor kaybıyla birlikte katalaz, peroksidaz ve dehidrogenaz aktivitelerinde azalma olmasına karşılık, invertaz, RNaz ve asit fosfataz enzimlerinde artış olduğu belirlenmiştir (Saxena et al., 1985).

Ram and Wiesner(1988), iki buğday varyetesini, 50°C ve %100 nemde suni olarak yaşlandırdıkları çalışmada, yaşlanmanın ilerlemesiyle birlikte çimlenme hızı ve potansiyelindeki azalmanın yanısıra glutamikasit dekarboksilaz enzimi aktivitesinin azaldığını saptamışlardır.

Basavarajappa et al. (1991), mısır tohumlarında hücresel fosfat dengesini koruyan asit fosfataz ve fosfomonoesteraz enzimi aktivitelerinin yaşlanmayla azaldığını saptayarak bunun tohumdaki fosfat metabolizmasını etkileyerek, ATP ve ADP, AMP döngüsü ile ilişkili enerji değişimlerine neden olabileceğini belirtmişlerdir. Dehidrogenaz aktivitesinin göstergesi olarak tetrazolium testi sonucu, yaşlanmayla mısır tohumlarında bu enzim aktivitesinin azaldığını saptayarak, bunun ATP üretimindeki azalmayla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca fosfolipidlere zarar veren fosfolipaz-A enzimi aktivitesinde artış olduğunu buna karşın, serbest radikalleri etkisiz kılan peroksidaz enzimi aktivitesinin azaldığını belirlemişlerdir.

Livesley and Bray (1991), depolama sırasında yaşanan buğday tohumlarının çimlendirilmesiyle anormal fide oranının arttığı ve anormal çimlenmenin olduğu tohumlarda total α -amilaz aktivitesinin azaldığını belirlemişlerdir. Bunun, aluron tabakasında protein sentez kapasitesinin azalmasından kaynaklandığını ve depolama sırasında canlılık kaybında aluron tabakasının zarar görmesinin önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Oda sıcaklığında doğal olarak yaşlandırılan pirinç tohumları ile sıcak suya batırılmak suretiyle suni yaşlandırılan pirinç tohumlarının embriyolarında yaşlandırılmayanlara göre asit ve alkalın fosfat aktivitelerindeki değişim incelenmiştir. Suni yaşlandırılanlarda, yaşlandırılmayan ve doğal yaşlandırılanlara nazaran asit fosfataz aktivitesinin daha yüksek olduğu, alkalın fosfat aktivitesinin ise her iki yaşlandırma koşulunda azaldığı belirlenmiştir. Asit fosfataz enziminin isoenzim bantları incelendiğinde yaşlanmamışların 4, doğal yaşlanmışların 3, suni yaşlandırılmışların ise 5 isoenzim bantı içerdiği görülmüştür. Çalışmaları sonunda asit ve alkalın fosfatın çimlenmenin erken dönemlerinde önemli rol oynadığını belirtmişlerdir (Rajagopal and Sen-Mandi, 1992).

Hızlandırılmış yaşlanmaya (40°C ve %100 nemde) maruz bırakılan *Cajanus cajan*'da yaşlanmayla birlikte önceki çalışmalarda belirlenenin aksine lipoksigenaz enzimi aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Kalpana and Rao, 1993).

Salama and Pearce (1993) da yaşlandırdıkları soğan ve hıyar tohumlarında fosfolipidleri hidrolize ederek parçaladıklarını belirttikleri fosfolipaz-D enzimi aktivitesinin arttığını belirlemişlerdir.

Basu and Malik (1994), yaşlanan soğan tohumlarında peroksidaz ve katalaz enzimlerinin aktivitesinin azaldığını belirleyerek, böylece lipid peroksidasyonunun arttığını ileri sürmüşlerdir.

Depolama sırasında çok hızlı canlılığını kaybeden yerfıstığı tohumlarında adi koşullarda (yaklaşık 23 °C'de) depolamayla -yerfıstığı tohumlarının çimlenmesinde çok önemli bir enzim olan- esteraz aktivitesinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Depolama sonrası suyla ıslatılmış ve ıslatılmamış tohumların her ikisinde de zararlanmanın artışıyla total esteraz aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Islatılmış tohumdaki esteraz aktivitesinin ıslatılmayanlara göre %60 daha fazla olduğu belirlenerek bunun muhtemel nedeninin tohumun çimlenmesi sırasında gerekli enerjiyi sağlayacak yağ asitlerinin parçalanması için kullanılan esterazın sentezlenmesi olduğu ileri sürülmüştür. Islatılmamış tohumda esteraz aktivitesindeki azalma ise depolama sırasında tohumda var olan esterazın parçalanmasına atfedilmiştir. Çimlenme sırasında enerji kaynağı olarak kullanılacak yağ asitlerinin lipidlerden salınmasını sağlayan esteraz enziminin depo lipidleri yanı sıra membran lipidlerini parçalamasıyla hücre geçirgenliğini arttırdığı ve böylece tohum zararlanmasını teşvik edeceği bildirilmiştir (Aung and McDonald, 1995).

2.3.3.3. DNA'daki değişimler ve kromozom anormallikleri

Birçok türde yapılan çalışmalar, depolama sırasında canlılık kaybına neden olan depo sıcaklığı ve tohum neminin bazı genetik zararlanmalara neden olduğunu göstermiştir. Bewley and Black (1994), bu genetik zararlanmaların; kök ucu 1.mitoz bölünmesinin anafaz safhasında görülen kromozom kırılmalarıyla belirlenebileceğini belirtmişlerdir. Abdul Baki and Anderson (1972) ise kromatidlerden ziyade kromozomlarda köprü oluşumu, parçalanma veya halka oluşumu gibi anormalliklerin oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Baklada, canlılık kaybı ile anormal hücre oranı incelendiğinde, artan depolama süresine bağlı olarak kromozom zararlanmalarında artış

ve dolayısıyla anormal hücre oranı ve canlılık kaybında artış olduğu görülmüştür. Ayrıca, depolama sırasında depo sıcaklığı ve tohum nemine bağlı olarak anormal hücre oluşumu sıklığı incelenmiştir. Bir hafta, 45°C ve %18 tohum neminde depolananlarda anormal hücre oranının en fazla olduğu belirlenmiştir. Anormal hücre oluşumu bakımından bunu, sırasıyla, 35°C ve %18 nem, 35°C ve %15.5 nem, 45°C ve %11 nem, 25°C ve %18 nemdeki depolama koşulları izlemiştir. Tohumların canlı kalma sürelerinin, anormal hücre oluşumuyla ters orantılı olduğu belirtilmiştir (Abdalla and Roberts, 1968; Roberts'tan, 1973).

Domates tohumlarının 40°C'de %12 nemde ve 60°C'de %7.1 nemde yaşlandırılmasıyla total çimlenme, normal fide oranı, çimlenme hızı ve uniformluğunda azalma belirlenmesinin yanı sıra kromozom anormalliği içeren kök ucu anormal anafaz hücrelerinde artış saptanmıştır. Yaşlanmamış domates tohumlarında anormal anafaz hücresi oranı %2 iken, bu oran 40°C'de 42 gün yaşlandırılanlarda %9.5'a, 60°C'de 8 gün yaşlandırılanlarda %12.5'a çıkmıştır. Yaşlanmayla teşvik edilmiş köprü oluşumu, parça kopması ve kutuplara çekilmede gecikme olarak belirlenen kromozom anormalliklerinin yüksek sıcaklıkta depolananlarda daha fazla olduğu ve bunların yaşlanmayla daha hızlı canlılıklarını kayb ettikleri belirlenmiştir (Van Pijlen. et al., 1995).

Rao et al. (1987), marul tohumlarının depolanması sırasında canlılık kaybının anormal kromozomlu hücre sayısının artışıyla ilişkili olduğunu saptamışlardır. Marul tohumlarında , tohumun nem içeriğinin azalmasıyla tohum ömrünün arttığını buna karşın kromozom anormalliklerinin arttığını belirlemişlerdir. Tohumun nem seviyesinin artışıyla kromozom anormalliklerinde görülen bu azalmanın, bu nem içeriklerinde makromolekül tamir mekanizmasının aktif olması nedeniyle olduğunu belirtmişlerdir. Ancak kromozom anormalliklerinin oluşum hızının, herhangi bir depolama sıcaklığında nem içeriği düşük tohumlarda daha yavaş olduğunu rapor etmişlerdir. Örneğin, 40°C depolama sıcaklığında kısa sürede canlılığını kaybeden %9 nem içeriğindeki marul tohumunun kromozom anormallik oranı, aynı sıcaklıkta daha uzun süre depolanabilen %8 nem içeriğindeki tohumdan daha az olmuştur. Buna karşın 40°C'de %8 nem içeriğindeki tohumun kromozom anormallikindeki artış hızı, %9 nemdekenden daha yavaş olmuştur.

Bezelye ve arpa tohumlarının depolanması sırasında kromozom anormalliklerindeki artışın canlılık kaybıyla ilişkili olduğu; ancak zarar görülmeden önce canlılık kaybında bir sınırın olmadığı ve çok küçük canlılık kayıplarında bile kromozom zararlanmalarının olduğu belirlenmiştir. Yaşlanmayla teşvik edilen anormalliklerin çoğunun kromotid tip anormallikler olduğu gözlenmiştir (Dourado and Roberts, 1984).

Murata et al. (1984), 32 °C'de %12 nemde ve 38 °C'de %18 nemde yaşlandırılan arpa tohumlarında, canlılık kaybıyla ilk mitozda görülen kök ucu anormal anafaz hücrelerinin oranının arttığını belirlemişlerdir. Ancak anormal hücre oranının bitki gelişiminin 3. ve 5. haftalarından sonra azaldığını, 5. haftadan sonra %1 oranında sabit kaldığını gözleyerek, genetik düzensizlikleri nedeniyle yaşlanmayla teşvik edilen kromozom anormalliklerinin bitki gelişimi sırasında incelenmemesi gerektiğini ifade etmişlerdir. Yine, yaşlanmış tohumdan çıkan bitkilerde de bu anormalliklerin görülme sıklığını araştırmışlar ve bu anormalliklerin müteakip generasyonlara geçmediği sonucuna varmışlardır.

Bewley and Black (1982), yaşlanma sırasında tohumda kromozom anormalliklerinin artmasıyla, zararlanmış hücrelerin oranının belli kritik bir değere ulaşması halinde, embriyonun çimlenemeyeceğini ve ölü olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir.

Roberts (1973) yaşlanmayla meydana gelen genetik zararlanmanın sadece görülebilir kromozom kırılmaları olmadığını bunun yanı sıra tohumda resesif mutasyonlarının da olabileceğini belirtmiştir. Resesif gen mutasyonlarından bazılarının haploid hücrelerde letal olabileceği, bunların da çoğunlukla yaşlanmış tohumlardan geliştirilen bitkilerin polen aborsiyonu sıklığını incelemek suretiyle belirlenebileceğini ifade etmişlerdir. Genelde resesif mutasyonların dominant aleller tarafından gizlendiğini, bu tip mutasyonların da müteakip generasyonlarda mutant fenotiplerin dağılımının incelenmesiyle belirlenebileceğini ve tohumda bu tip genetik zararlanmaların, germplazm stoklarının uzun süreli muhafazasında büyük önem taşıdığını belirtmiştir.

Roberts (1973), görülebilir kromozom anormalliklerinin tohum yaşlanmasının iyi bir indeksi olduğu ancak yaşlanmanın nedeni

olmadıklarını belirtmişlerdir. Buna karşın Bewley and Black (1982), büyük kromozom zararlanmalarının DNA'nın aktivasyonunu etkileyerek RNA ve protein sentezinde azalma ve aksaklıklara neden olabileceğini ve çimlenmenin de her iki olaya bağlı olması nedeniyle DNA lezyonlarının canlılık kaybında rol oynadığını ifade etmişlerdir.

Stoyanova (1991) da, 40°C ve %16 tohum neminde 16 güne kadar yaşlandırdıkları Sadova-1 çeşidi buğday tohumlarında yaşlanmayla birlikte canlılık kaybı belirlemiştir. Ayrıca, canlılığını sürdürenlerin gliadin proteinlerinin elektroforetik ayırımı sonucu farklı biyotiplerin oluştuğunu ve yaşlanmanın genetik kaymalara neden olduğunu saptamıştır.

Yaşlanmayla tohumda meydana gelen kromozom anormalliklerinin nedenine yönelik iki görüşün olduğu belirtilmektedir. Bu görüşlerden birinde, yaşlanmayla tohum içinde oluşan kimyasal mutagenlerin bu anormalliklere yol açtığı ileri sürülmüştür. Diğer bir görüşte ise yaşlanma sırasında nükleer DNazların aktif olması ve bunun sonucu olarak DNA moleküllerinin parçalandığı belirtilmiştir (Bewley and Black, 1994).

Osborne (1980) kuru tohumda DNaz aktivitesindeki bu artışın nasıl olabileceğini ve bu enzimin nasıl aktif olabileceğini merak etmiştir. Bewley and Black (1994) bunun daha önce var olan latent enzimlerin aktivasyonu veya yaşlanmayla DNaz inhibitörlerinin azalmasıyla ilgili olabileceğini belirtmişlerdir.

Canlı ve cansız çavdar tohumlarında, total DNA miktarı aynı olmakla birlikte cansız tohum DNA'larının elektroforetik ayırımında DNA bütünlüğünün bozulduğu ve yüksek moleküler ağırlıktaki DNA miktarının azaldığını belirlemişlerdir (Çizelge 2.3; Osborne, 1980).

Çizelge 2.3 Canlı ve cansız çavdar embriyosunda total DNA ve yüksek moleküler ağırlıktaki DNA içeriğindeki değişim (Osborne'dan, 1980)

Canlılık oranı (%)	Total DNA (OD)	Yüksek moleküler ağırlıkta DNA içeriği (mg/gr.tohum)
95	8.4	10.2
64	-	9.7
15	-	7.8
0	8.1	3.1

Canlı tohumda su alımı sırasında DNA tamiri görülebilirken, yaşlananlarda ve canlılığını kaybetmişlerde DNA'nın parçalanmasıyla tamir sisteminin de bozulduğu belirlenmiştir (Priestley, 1986).

Bewley and Black (1982), düşük nem içeriğindeki tohumların canlılık kaybının, depolama sırasında oluşan zararlanmaları iyileştirici enzim sistemlerinin aktif olmamasından kaynaklanabileceğini ve bu enzim sistemlerinin sadece DNA'yı değil sitoplazmadaki diğer makromolekül ve organelleri de içerdiğini ileri sürerek, kuru depolanan tohumda bu iyileştirme mekanizmasının depolama sonrası su alınımıyla aktive edilebileceğini belirtmişlerdir.

2.3.3.4. Karbonhidratlardaki değişimler

Solunum için kaynak olan şekerler, tohumda nişasta olarak depolanabildiği gibi hücre duvarlarının yapısında hemiselüloz olarak bulunmaktadır (Bewley and Black, 1995).

Tohum yaşlanmasının biyokimyasal esasları pekçok araştırmacının dikkatini çekmiş ve bu konuda değişik türlerde pek çok araştırma yapılmıştır. Ancak yaşlanmayla tohumun karbonhidrat içeriğinde meydana gelen değişimlerle ilgili çalışmalar oldukça azdır.

Düşük nem ve yüksek nemde depolanan ayçiçeği tohumlarında yaşlanmayla birlikte depolama neminin artışıyla total eriyebilir karbonhidrat ve indirgen şeker içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Yaşlanmanın ilerlemesiyle meydana gelen canlılık kaybının tohum karbonhidratlarının azalmasına neden olan içsel zararlanmadan kaynaklandığını belirtmişlerdir (Halder and Gupta, 1980).

Yaşlanmamış fasulye tohumlarında nişasta içeriği yaş ağırlığın yaklaşık %51'ini oluştururken bu değerin hızlandırılmış yaşlanma süresince önemli oranda değişmediği belirlenmiştir (Begnami and Cortelazzo, 1996).

Yaşlanma sırasında nişasta değişiminin türlere özgü olduğu belirtilmiştir. Örneğin; artan depolama süresiyle baklada, nişasta içeriğinin azaldığı, hızlandırılmış yaşlanma uygulanan buğdayda nişasta da az bir değişme olurken, soya fasulyesinde hiçbir değişme olmadığı rapor edilmiştir (Priestley, 1986).

Yaşlandırılmış lahana, pırasa ve soğan tohumlarının total şeker içeriğindeki değişimin türlere özgü olduğu görülmüştür. Yaşlanmayla pırasa tohumlarının total şeker içeriğinin 28mg/g tohum'dan 22mg/g tohum'a; karnabarda ise 26mg/g tohum'dan 21mg/g tohum'a düştüğü belirlenirken soğan tohumlarının şeker içeriğinde değişme olmadığı rapor edilmiştir (Lee et al., 1995).

Yaşlandırılmış soya fasulyesinde eriyebilir oligo sakkaritlerin içeriğinde azalma olduğu belirtilmiştir (Yaklich, 1985). Depolanmış mısır tohumlarında da sakkaroz ve rafinozlarda azalma belirlenirken, monosakkaritler, fruktoz, glikoz ve galaktozda çok daha hızlı bir azalma görülmüştür (Bernal-Lugo and Leopold, 1992).

Eriyebilir karbonhidratların kuru ortodoks tohumlarda hücre içi stabiliteyi sağladıklarından, bunlardaki değişimin membran stabilizasyonu veya camsı (glass) durumunun oluşumunu olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Smith and Berjak, 1995).

Rao ve Kalpana (1994) *Cajanus cajan*'da yaptıkları çalışmada, nişasta ve eriyebilir şeker miktarında yaşlanma ile azalma belirlemişler. Ancak, bu azalmanın canlılık kaybı ile önemli olmadığını belirterek; bunu

solunum ve hidrolitik enzimlerin işlevine mal etmişlerdir. Buna karşın indirgen şeker miktarında artış olduğunu saptayarak, bu artışın protein inaktivasyonu ve DNA zararlanmasına yol açabilen 'Amodori ve Mailard' reaksiyonuna neden olabileceği ve böylece canlılık kaybını etkileyebileceğini belirtmişlerdir.

Smith and Berjak (1995) da karbonil-amin reaksiyonları olarak bilinen 'Mailard' reaksiyonunun tohumu zarar verici reaksiyonlardan biri olduğunu ve protein ve amino asitlerin amino grupları ile karbonhidratların karbonil grupları arasında enzimatik olmayan karama reaksiyonu olduğunu belirtmişlerdir. Wettlaufer and Leopold'e (1991) atfen, soya fasulyesi tohumlarında yaşlanmayla oluşan zararlanmalarda böyle protein-şeker interaksiyonunun olduğunu ifade etmişlerdir.

Hızlandırılmış yaşlanma (42°C ve %100 nemde, 96 saat) uygulanan mısır tohumlarında yaşlanmayla tohumların total karbonhidrat ve indirgen şeker içeriklerinin azaldığı saptanmıştır. Yaşlanma öncesi mısır tohumunun karbonhidrat içeriği 11mg/g tohum iken yaşlanma sonrası 3mg/g tohum olduğu belirlenmiştir (Basarajappa et al., 1991).

2.3.3.5. Hormon ve uçucu bileşiklerdeki değişimler

Tohumda oldukça fazla bulunan bitkisel hormonların fonksiyonları tam anlaşılamamakla birlikte, rezerv metabolizmasında ve tohum fizyolojisi ile ilgili diğer olaylarda önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Hormon ve diğer büyüme düzenleyicilerin yaşlanma üzerine etkileri konusundaki çalışmalar iki gruba ayrılmıştır (Priestley, 1986):

- * Gelişmeyi teşvik edici maddelerin eksikliği ile ilgisini belirten çalışmalar.
- * Çimlenmeyi önleyici olan engelleyici maddelerin seviyelerini belirten çalışmalar.

Harrington (1973), çimlenme için gerekli bazı hormonların yaşlanma sırasında parçalandığını veya bunların üretiminden sorumlu mekanizmanın zararlandığını belirterek, yaşlanmanın bir diğer nedeninin hormonlarda görülen değişimler olabileceğini ileri sürmüştür.

Daha fazla ilginin yaşlanmayla giberelin seviyelerindeki değişimde yoğunlaştığı belirtilmiştir. Yaşlı buğday tohumlarına giberelin uygulamasının çimlenmeyi teşvik ettiğini, bunun da, yaşlanmış embriyonun, yeterli seviyede hormon sağlamadığının göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Priestley, 1986). Yaşlanmış kereviz tohumlarına dışardan giberelin uygulamasıyla çimlenme ve vigorda artış sağlandığı rapor edilmiştir (Harrington, 1973)

Etilen de ilgi çeken hormonlardandır. Bu hormonun yaşlanmış kolza tohumlarına uygulanmasıyla kökçük çıkış hızının hızlandığı ancak çimlenmede bir iyileşmenin olmadığı belirlenmiştir (Takayanagi and Harrington, 1971, Priestley'den, 1986).

Bazı araştırmacıların, yaşlanmış tohumda gecikmiş ya da azalmış çimlenmenin, büyüme engelleyici bileşiklerin birikimi ile ilgisi olduğuna dikkati çekerek bunların belirlenmesi için çalışmalar yaptıkları belirtilmiştir. Bu çalışmalarda yaşlanmayla tohumlarda absizik asit, fenolik maddeler ve poliaminlerin birikiminin olduğu rapor edilmiştir (Priestley, 1986).

Buğday embriyolarında yaşlanma ile spermidisin ve putrasin seviyelerinde artış saptanmış ve bu artışın metabolik düzeni bozması sonucu canlılık kaybının olabildiği belirtilmiştir (Anguillesi et al., 1974; Priestley'den, 1986). Buna karşın yaşlanmış soğan tohumlarında poliamin seviyelerinde düşüş olduğu, PEG ile uygulama sonrası poliaminlerde özellikle putrasin spermidisinde artış olduğu saptanmış ve poliaminlerin membran korunumu veya tamiri ile ilgili olabileceği tartışılmıştır (Basra et al.1994).

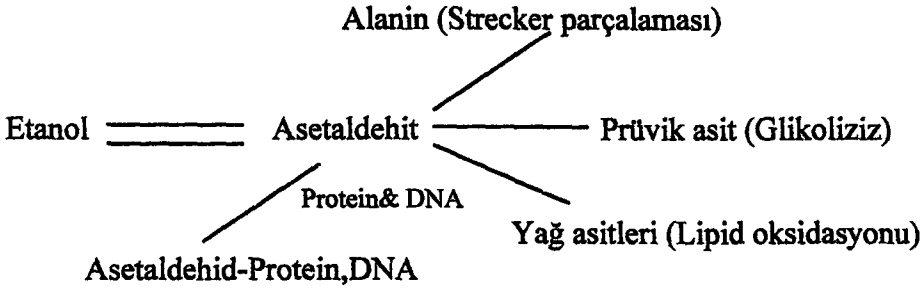
%18 tohum neminde oda sıcaklığında (14-18°C) uzun süreli depolanan mısır tohumlarında çimlenme gücü %20-50'lere azalırken kuru tohumda oksin ve poliamin seviyelerinde belirgin bir değişim belirlenmemiştir. Ancak çimlenme sırasında hem depolanan hem de depolanmayanlarda oksin seviyesinin arttığı, poliaminlerin üç türünün ise sadece depolanmayanlarda arttığı bununla birlikte depolananlarda putrasin poliamininin arttığı saptanmıştır. Depolananlara dışsal spermin veya spermidin uygulamasıyla kısmen tohum çimlenmesinin iyileştiği belirlenerek, depolama sırasında çimlenmedeki kayıpların, kısmen bu iki

poliamini üretecek hücresel bozulmalardan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Sanchez De Jimenez et al., 1991).

Bazı araştırmacılar da özellikle nem ve gaz geçirmez (hermetik) materyallerde depolandıklarında tohumda biriken uçucu aldehitleri ve bunun yaşlanma üzerine etkilerini incelemişlerdir.

Zhang et al.(1993), bir çok türde yaptıkları çalışmalarda adi koşullarda kuru olarak depolanan tohumların en az 24 tip uçucu madde içerdiklerini ve bunların miktarının artan depolama süresi ve sıcaklığıyla arttığını belirtmişlerdir.

% 12, 44 ve 75 nispi nemde ve 23 ile -3°C'de depolanan havuç, marul, soya fasulyesi, bezelye ve pirinç tohumlarında depolama koşulları ve süresine bağlı olarak uçucu bileşiklerdeki değişimler incelenmiştir. Depolama sıcaklığına bakmaksızın yüksek nispi nemde depolanan tohumlarda daha çok 2-metil prapanol ve 2,3,-metil bütanol gibi iso-tip aldehitleri belirlemişlerdir. Buna karşın düşük nemde depolananlarda asetaldehit, pentanal, hexanal ve heptanal gibi n-tipi aldehitleri saptamışlardır. Kuru tohumda bol bulunan ve çok toksik bir volatil olan aset aldehitin, protein ve DNA'daki aminoasit bazlarını değiştirdiği ve böylece depolanan tohumda birikmesi halinde protein ve DNA'yı etkileyerek zararlanmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Düşük nemde daha fazla n-tipi aldehit bulunmasını enzimatik olmayan yağ asidi autooksidasyonunun muhtemel bir sonucu olarak nitelendirmişlerdir. Diğer taraftan Daneehy'e (1986) atfen 'Mailard Reaksiyonlarında' Strecker parçalanması sonucu da aldehitlerin oluşabileceğini de belirtmişler ve aset aldehit oluşumu ve etkilerini Şekil 2.6'da şematize etmişlerdir (Zhang et al., 1995).



Şekil 2.6 Kuru tohumda asetaldehit oluşumu ve etki mekanizmasının şematizesi (Zhang et al., 1995).

2.4. Tohumda Yaşlanmayla Oluşan Zararlanmaları İyileştirici Uygulamalar

Ön uygulamalar veya hidrasyon uygulamaları kökçük çıkışı hariç metabolizmayı başlatacak dereceye kadar tohum içine su alınımını sağlar (Halmer and Bewley, 1984). Tarquis and Bradford (1992), ön uygulama ve hidrasyon uygulamalarının etkinliğinin, tohumun su potansiyeli ile metabolik aktivitenin görülmesi için gerekli su potansiyeli arasındaki farkla ilişkili olduğu görüşüne dayanarak bir eşitlik geliştirmişlerdir¹. Eşitlikteki $(\psi - \psi_{min}) t_p$ terimini su potansiyeli ve ön uygulama süresiyle ilişkili olduğundan “hidropriming süresi (ön uygulama süresi)” olarak nitelendirmişlerdir.

Çimlenme gücü ve vigoru arttırmak amacıyla osmotik olarak ön uygulamalar veya hidrasyon uygulamalarının kullanımına yönelik farklı türlerde yapılmış çalışmalar vardır.

¹ $GR = k(\psi - \psi_{min})t_p + GR_i$

k =sabite, ψ =tohum su potansiyeli, ψ_{min} =ön uygulama etkilerinin görüldüğü minimum su potansiyeli, t_p =hidrasyon veya ön uygulama süresi, GR_i =uygulamalar öncesi tohumun başlangıç ortalama çimlenme hızı

15°C'de 2 haftaya kadar PEG ile ön uygulama yapılmış havuç, kereviz ve soğan tohumlarında, soğan hariç diğer tür tohumlarında ön uygulamanın fide çıkışını arttırdığı saptanmıştır. Ortalama çıkış süresi de tüm tohum partilerinde ön uygulamayla azalarak en büyük etkinin yavaş çıkış yapan tohum partilerinde olduğu görülmüştür. Ayrıca ön uygulamaların ortalama bitki ağırlığını kontrole göre havuç, kereviz ve soğan tohumlarında sırasıyla, %33, %182 ve %47 oranında arttırdığı belirlenmiştir (Brocklehurst and Dearman, 1983).

Murray and Swensen (1992) PEG8000 (300g/l) ile soğan tohumlarını 10°C'de 7 gün ön uygulama sonrası, tarla koşullarında ve 15°C'deki laboratuvar koşullarında çıkış testine tabi tutmuşlardır. Ön uygulama yapılanlarda her iki koşulda da ortalama çıkış süresi %10-12 oranında azalmıştır.

Bradford (1986), Brocklehurst and Dearman'a (1984) atfen soğan tohumlarının PEG (342g/kg su) ve KH_2PO_4 (0.5 M) ile 15 °C'de 14 gün uygulanmasının ortalama çimlenme ve çıkış süresini azalttığını belirtmektedir. Yine Khan et al.'a (1978) atfen 9-21°C'de 4-12 gün PEG (250g/ kg su) uygulanmış soğan tohumlarında çimlenmenin arttığı belirtilmektedir.

K_2HPO_4 , $\text{K}_2\text{HPO}_4+\text{KNO}_3$, KNO_3 , K_3PO_4 , $\text{KNO}_3+\text{K}_3\text{PO}_4$ gibi tuz solüsyonları ve PEG6000 (-0.25 ve -1.75 MPa) ile ön uygulama yapılan domates, havuç, soğan ve sorgum tohumları çimlenme güçlerindeki değişim bakımından incelenmiştir. Domates ve havuç tohumlarının tuz solüsyonlarıyla uygulanmasının PEG ile ön uygulanmasına göre çimlenme üzerine daha olumlu etkisi olduğu saptanmıştır. Buna karşın, soğan tohumlarının tuz solüsyonlarıyla uygulanmasının PEG ile uygulanmaya göre daha az yararlı etkide olduğu, sorgum tohumlarına ise toksik etkide bulunduğu belirlenmiştir (Haigh and Barlow, 1987).

Matris veya osmotik olarak PEG (-0.4MPa) ile muamele edilip 4 ve 20°C'de 1 ay depolanan Compositae familyasından rudbeckia (*Echinacea purpurea*) tohumlarında, her iki uygulamanın da fide çıkışını arttırdığı saptanmıştır. Ön uygulama ortamına GA_3 ilavesiyle çıkış hızı ve fide kuru ağırlığındaki artışla ön uygulamanın yararlı etkisinin korunduğu belirlenmiştir (Pill and Haynes, 1996).

Marul tohumlarında osmotik uygulamaların, poliribozom oluşumu için gerekli su alım süresini azalttığı ve sentezlenmiş total protein ve RNA miktarını arttırdığı görülmüş ve bunun tohumda çimlenmede kullanılmak üzere makro molekül bulunmasını sağladığı belirtilmiştir. Yine osmotik uygulama ile asit fosfataz ve esteraz gibi enzim aktivitelerinde belirlenen artışın, protein, karbonhidrat ve yağ olarak depolanan maddelerin taşınımını sağlayarak çimlenme ve vigorun atmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (Khan et al., 1978).

Pırasa tohumlarında osmotik ön uygulamalar sırasında meydana gelen biyokimyasal değişimlerin incelendiği çalışmada Bray et al.(1989), ön uygulamaların hem ortalama çimlenme zamanını hem de tohum partilerinin çimlenme performansındaki farklılığı azalttığını belirlemişlerdir. Ön uygulama yapılmayan tohum partilerinde çimlenme performansındaki farklılığın, çimlenme sırasında embriyo dokularının protein biyosentez hızındaki farklılığın göstergesi olduğunu ve ön uygulamaların embriyodaki protein sentezini artırarak çimlenme hızındaki farklılıklara son verdiğini saptamışlardır. Yine hücre bölünmesinin görülmediği ön uygulamayı takiben çimlenme sırasında embriyonun DNA sentez hızının, ön uygulama yapılmayanlara göre 5 katlık bir artış gösterdiğini ve bu artışın tohumlarda çimlenme performansını arttırdığını gözlemişlerdir. Buna karşın Coolbear and Grierson(1979), ön uygulamayla domates tohumlarının DNA içeriğinin değişmediğini ancak rRNA seviyelerinde artış olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde Bray et al.(1989), pırasa embriyolarının RNA içeriğinin ön uygulama sırasında ikiye katlandığını belirtmektedirler.

Dell'Aquila and Tritto (1990), buğday tohumlarına ön uygulamaların etkisi ile çimlenmenin erken dönemlerinde embriyodaki protein ve DNA sentezi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Ön uygulama sırasında metabolik aktivite nedeniyle ön uygulama sonrası çimlenme başlangıcında, embriyoda sentez işlevinde hızlı artışın teşvik edildiğini, hızlı tohum çimlenmesinin protein ve DNA sentezinden elde edilen artışlarla ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Mısır tohumlarında, hidrasyon ve ön uygulamalarla meydana gelecek biyokimyasal değişimlerin incelendiği çalışmada, düşük sıcaklıkta çimlendirme sırasında uygulamasız tohumlarda çimlenme gücünün hızla düşmesine karşın uygulamalı tohumlarda bu düşmenin

daha yavaş olduğu görülmüştür. Düşük sıcaklıkta çimlenme gücündeki bu düşüş, nişasta parçalanmasını kontrol eden amilaz aktivitesindeki azalmayla ilişkili bulunmuştur. Hidrasyon ve ön uygulamaların, tohumdan elektrolit sızıntısını azalttığı da saptanarak, olgunlaşma sırasında kurutulan tohumda bozulan membran yapısının uygulamalarla iyileştirilerek normal yapısına döndürüldüğü ileri sürülmüştür. Membranın yeniden normal yapısına dönmesiyle membran bağlı enzimlerin aktivasyonunun artacağı ve böylece protein ve nükleik asit sentezinde de artışın olacağı belirtilmiştir. Nitekim hidrasyon uygulamalarıyla tohumun eriyebilir protein içeriğinin artması yanısıra ön uygulama ve hidrasyon uygulamalarının DNA ve RNA sentezini önemli oranda arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca uygulamalarla belirlenen serbest şeker içeriğindeki artışın metabolik aktiviteyi daha çabuk destekleyerek daha hızlı çimlenmenin olduğu belirtilmiştir (Sung and Chang, 1993).

Osmotik uygulamalar veya hidrasyon uygulamalarının birçok türde çimlenme gücünü ve vigoru arttırmadaki etkileri belirlenmesine rağmen tohum depolanması veya yaşlanmasıyla ilgili etkileri tam olarak anlayamamıştır.

Burgass and Powell (1984), Bürüksel lahanası tohumlarını %35 PEG ile uygulandıktan veya suda beklettikten (soaking) sonra ya yüzey kurusu ya da ilk ağırlığına düşünceye kadar kurutmuşlardır. Ön uygulama sonrası yüzey kurusu tohumlarda kontrollü yaşlandırma sonrası çimlenme güçlü ve hızının azaldığını ve böylece vigorun düştüğünü belirlemişlerdir. Buna karşın ilk ağırlığına kurutulan ön uygulamalı tohumlarda kontrollü yaşlandırma sonrası çimlenme gücünün, düşük vigorlu partide %32'den %64'e; yüksek vigorlu partide %86'dan %92'ye arttığını saptamışlardır. Tohumları suda bekletme uygulamasının da hem düşük hem de yüksek vigorlu tohum partilerinde vigoru arttırdığını ortaya koymuşlardır. Suda bekletme sonrası yüzey kurutmanın, düşük vigorlu tohumlarda çimlenme gücünü %32'den %80'e, ilk ağırlığına kurutmanın ise %88'e yükseldiğini belirlemişlerdir. Tohum vigorunun yaşlanmadan kaynaklanan zararlanma derecesini yansıttığını ve her iki uygulamanın da düşük vigorlu tohumlarda vigoru iyileştirdiğini belirterek, bu iyileştirici uygulamaların tohum yaşlanmasıyla oluşan zararlanmaları geriye döndüreceğini ileri sürmüşlerdir.

Ward and Powell (1993), %15, 20 ve 25 nem içeriğindeki soğan tohumlarını 45°C'de 24 saat yaşlandırma sırasında tüm tohum partilerinin çimlenme gücünün azaldığını belirlemişlerdir. %20 ve 25 tohum neminde yaşlanmaya maruz kalan tohumlarda canlılık kaybı hızının, %15 tohum nemindekilere nazaran daha az olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, düşük vigorlu soğan çeşidinde tohum neminin artmasıyla zararlanma hızında büyük azalma olmasını, hidrasyon uygulamaları sırasında iyileştirme mekanizmasının aktif olabileceğinin göstergesi olarak yorumlamışlardır.

Ortodoks tohumların, depolama sırasında artan tohum nemi veya sıcaklıkta canlılıklarını kaybettikleri bilinmesine rağmen Ellis and Roberts(1977), ortadoks tohum olan soğan tohumunda tohum nemindeki artışa rağmen canlılık kaybının hızlı olamadığını saptamışlardır. Bunun nedeni olarak yüksek tohum neminde iyileştirme mekanizmasının aktif olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Halmer and Bewley'e (1984) göre depolanmayla vigoru azalmış tohumların zayıflayan membranları, su alımının başlangıcında suyun hücrelere ani girişiyle ciddi zararlanmalara maruz kalabilmekte ve bu fiziksel zararlanmanın iyileştirilmesi oldukça zor olabilmektedir. Membran yapılarındaki bozulma, suyla doyurulmuş atmosferden tohumun nemi yavaş absorbe etmesiyle veya su alımı hızını azaltan konsantrasyonlarda PEG gibi osmotik solüsyonlarda tohumun bekletilmesiyle değişen oranlarda iyileştirilebilmektedir. Bu uygulamalarla membran normal veya normale yakın durumuna döndürülebilmekte, böylece uygulamaları takiben tohum su ortamına bulunduğu membran zararlanmamaktadır.

Hızlandırılmış yaşlanma (41°C'de %100 nispi nemde) uygulanan soya fasulyesi tohumlarında ani su alımını ile zararlanmaların olduğu ve tohumdan elektrolit sızıntısının oldukça fazla olduğu saptanmıştır. Ancak hızlandırılmış yaşlanma öncesi tohuma kontrollü su alımının sağlandığı uygulamalarla bu zararın (imbibisyon zararı) önlendiği ve canlılık kaybının da azaldığı belirlenmiştir. Kontrollü su alımı uygulamasıyla 50 saate kadar yaşlandırılan tohumların çimlenme gücü, %10'dan %90'a arttırılmıştır. Ayrıca yavaş su alımını ile yaşlanmış tohumdan elektrolit sızıntısının azaldığı belirlenerek, hücre membranı bozulmasının yaşlanmanın esas faktörü olabileceği belirtilmiştir. Hızlandırılmış

yaşlanma sonrası ön uygulamanın da çimlenme gücünü arttırmak, tohumdan elektrolit sızıntısını azaltmak suretiyle yaşlanmanın olumsuz etkilerini iyileştirdiği saptanmıştır. Ön uygulamalarla sağlanan iyileştirmenin tohum nemi, uygulama sıcaklığı ve süresine bağlı olması nedeniyle iyileştirme mekanizmasının metabolik olduğu ve bu metabolik iyileştirmenin hücre membranı yanı sıra diğer hücresel yapıları da içerdiği belirtilmiştir (Tilden and West, 1985).

Sivritepe and Dourado (1994), bezelye tohumlarında (cv. Kelvedon Wonder) hem yaşlanmadan hem de çimlenme sırasında ani su alınımından kaynaklanan zararlanmayı iyileştirmek için humidifikasyon uygulamalarının etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında; depolama sonrası uygulamaların çimlenme gücünü artırması yanı sıra kromozom anormalliklerinde ve kromotid tipi anormalliklerinde önemli azalmalar saptamışlardır. Yaşlanmış tohumlar için optimum humidifikasyon sıcaklığının 16°C, yaşlanmamış tohumlar için de 20°C olduğunu ve bu uygulamalar sonunda tohumun nem seviyesinin %16.3 ile %18.1'e ulaştığını belirlemişlerdir.

Yaşlanan soğan tohumlarının %25 veya %35 PEG ile ön uygulama sonucu, elektrolit sızıntısının büyük oranda azaldığı ancak bu etkinin ön uygulama sonrası kurutulan tohumlarda daha az olduğu saptanmıştır. Yaşlanmış tohumda artan elektrolit sızıntısının ön uygulamalarla geriye döndürülmesi, ön uygulama sırasında membran zararını iyileştirici bir mekanizmanın varlığına yorumlanmıştır. Ayrıca, yaşlanmış tohumlarda osmotik ön uygulamaların canlılık artışıyla birlikte lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı, serbest radikalleri parçalayan peroksidaz ve katalaz enzimi aktivitelerini arttırdığı ve askorbik asit ve E vitamini (tocopherol) gibi antioksidant seviyelerini arttırdığı saptanmıştır (Basra and Malik, 1994).

Soğan tohumlarında doğal yaşlanmayla oluşan zararlanmaların iyileştirilmesinin araştırıldığı çalışmada Pandey (1989a), %9 tohum neminde $28 \pm 4^\circ\text{C}$ 'de 3 yıla kadar yaşlandırdığı tohumlara 20°C 'de 48 saat su ile uygulamayı takiben kurutmuştur. Ön uygulamanın elektrolit, UV absorbe eden madde ve potasyum gibi maddelerin tohumdan sızma miktarını azaltarak tohumların canlılık ve vigorunu önemli derecede arttırdığını belirlemiştir. Ön uygulamanın yaşlanmanın olumsuz etkilerini iyileştirme gücünün, 1 ve 2 yıl depolanan tohumlarda en fazla iken 3 yıl

depolanan tohumlarda azaldığını saptamıştır. Bu azalmanın, bu dönemde membran bozulmasının ön uygulamalarla çok az oranda iyileştirilmesinden kaynaklandığını belirtmiştir.

Yaşlanmamış fasulye tohumunda, ön uygulamayla kök ve hipokotil uzunluğu ile fide yaş ağırlığının azaldığı, tohumdan UV absorblayan madde, şeker, aminoasit ve fosfor sızıntısının arttığı buna karşın potasyum ve fenolik asit sızıntısının azaldığı saptanarak ön uygulamanın tohum vigoruna zarar verici etkide olduğu belirtilmiştir. Buna karşın 28°C'de 3 yıla kadar depolanan tohumlarda, depolama sonrası ön uygulamanın yaşlanan tohumdaki membran bozulmasını azaltarak vigoru artırıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Ön uygulamalarla yaşlanmış tohumdan UV absorblayan madde, fenolik asit, fosfor ve potasyum sızıntısında azalma olurken aminoasit ve şeker sızıntısında artış olmuştur. Aminoasit ve şeker sızıntısındaki bu artış, ön uygulama sırasında büyük oranda metabolik aktivitenin göstergesi olarak yorumlanmıştır. Ayrıca 4 yıl depolanan tohumlarda ön uygulamaların iyileştirici etkisinin görülmeyişi, ön uygulamaların vigoru iyileştirmede kritik zararlanma safhasının varlığı olarak nitelendirilmiştir (Pandey, 1989b).

Dell'Aquila and Tritto (1990), %15 tohum neminde 30°C'de 8 haftaya kadar depoladıkları buğday tohumlarından 2 hafta aralıklarla örnek alıp ön uygulama sonrası tekrar %15 nemde 30°C'de 2 hafta daha depolamışlardır. Ön uygulamaların çimlenme gücünü değiştirmeksizin ortalama çimlenme zamanını azalttığını saptamışlardır.

Clarke and James(1991), osmotik ön uygulama (-1MPa PEG₈₀₀₀) sonrası pırasa tohum ve embriyolarında tüm RNA türlerinin seviyelerinde artış olduğunu ve bunun çimlenme sırasında da korunduğunu belirlemişlerdir. Ön uygulama sonrası tohumda saptanan rRNA/DNA oranındaki artışı, ön uygulama sırasında tohum hücrelerinde DNA birikiminin olmadığını göstergesi olarak belirtmişlerdir. Ayrıca ön uygulama sırasında artan rRNA'nın, çimlenme sırasında hücrelerin daha fazla protein sentezleyebilme yeteneğini sağlayarak ön uygulamaların etkili olabileceği vurgulanmıştır. Ancak hızlandırılmış yaşlanma sonrası ön uygulamaların olumlu etkileri görülmemiştir. Yaşlanmış tohumlarda ön uygulama sırasında DNA içeriğindeki azalışı, cansız endospermik hücrelerde DNA'nın parçalandığının göstergesi olarak yorumlamışlardır. Yaşlanmayı takiben ön uygulama sonrası rRNA miktarında da kaybın

olduğunu ve bu kaybın cansız endospermik hücrelerde RNA mobilizasyonu nedeniyle olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tohumlarda yaşlanmayla oluşan zararın depolama sonrası uygulamalarla iyileştirilmesi yerine, depolama öncesi uygulamalarla tohumun yaşlanmayla oluşacak zararlanmalara karşı korunumu ile ilgili çalışmalar da vardır. Rao et al. (1987) tohum ömrünün tohum neminde az bir değişimle önemli ölçüde etkilenmesi nedeniyle böyle çalışmalarla ilgili en büyük problemin, depolama öncesi ön uygulamalar veya hidrasyon uygulamaları sonrası farklı tohum kütlelerini aynı nem derecesine getirmenin güç olmasından kaynaklanabileceğini belirtmektedirler.

$KNO_3+K_2PO_4$ ile muamele edildikten sonra %6 tohum neminde 12 aya kadar depolanan domates tohumlarının, 4°C sıcaklıkta hiçbir canlılık kaybı olmaksızın uzun süre depolanabileceği belirlenmiştir. Buna karşın, 30°C'de depolananlarda canlılık ve çimlenme hızının azaldığı gözlenerek ön uygulama yapılan tohumların yüksek sıcaklıkta depolanmasının büyük zararlanmalara neden olduğu belirtilmiştir (Argerich, Bradford and Tarquis, 1989).

Marul tohumlarında kontrollü yaşlandırma testi öncesi hidrasyon veya PEG ile ön uygulamaların canlılık kaybını arttırdığı ve uzayan uygulama sürelerinin çimlenme hızını arttırmasına karşın tohumun ortalama canlı kalma süresini azalttığı ve anormal fide oluşumunu arttırdığı saptanmıştır. Yine hidrasyon ortamına ABA eklenmesiyle tohum ömrünün azaldığı ve ne ABA ne de uygulamalar sonrası yavaş dehidrasyon uygulanmasının iyileştirici bir etkiye sahip olmadığı belirtilmiştir (Tarquis and Bradford, 1992).

Georghiou et al. (1987), 6 aya kadar 35°C'de depoladıkları biber tohumlarında, depolama öncesi mannitol ile osmotik uygulamanın çimlenme gücü ve hızını arttırarak yaşlanma hızını geciktirdiğini saptamışlardır.

Fasulye, bezelye, mercimek ve kumdarı (*Panicum miliaceum*) tohumları %98.2 nemde 2 haftaya kadar yaşlandırılmadan önce sodyumdişkegulak (1000 ve 2000µg/ml), askorbik asit (500 ve

1000µg/ml), IAA (100 ve 200µg/ml) ve su ile 10 saat muamele edilmiştir. Sodyumdikegulak ve askorbik asit uygulamasının çimlenme hızını artırarak ve çimlenme gücündeki azalmayı yavaşlatarak yaşlanmanın olumsuz etkilerini azalttığı saptanmıştır. Ancak, IAA ve su ile muamele edilen tohumlarda çimlenme, fide gelişimi ve metabolizmada olumlu bir etki sağlanamamıştır (Chhetri et al., 1993).

Dearman et al.(1986), soğan tohumlarına hızlandırılmış yaşlanma (%18 tohum nemi ve 40°C) öncesi ve sonrası PEG (342g/kg su) ile osmotik ön uygulama yapmışlardır. Yaşlanma öncesi ön uygulamaların uygulanmayanlara göre çimlenme performansı ve hızını artırarak yaşlanmayla oluşan canlılık kaybını geciktirdiğini, buna karşın yaşlanma sonrası ön uygulamaların canlılık üzerine olumlu etkisinin olmadığını saptamışlardır. Ön uygulama sonrası kurutulan tohumların %9 tohum neminde 10°C'da, canlılıkta hiç bir kayıp olmaksızın 18 aya kadar depolandığını gözlemişlerdir. Ayrıca artan yaşlanma süresiyle birlikte daha uzun süreli ön uygulamaya gerek duyulduğunu belirtmişlerdir. Bunun muhtemel nedenini, yaşlanma süresinin artışıyla tohumda meydana gelecek zararlanmanın da büyük olacağı ve bu zararın etkili bir şekilde iyileştirilmesi için daha uzun bir süre ön uygulamanın gerekli olduğu şeklinde açıklamışlardır.

Thanos et al. (1989), 5 ve 25 °C'de 3 yıla kadar depoladıkları biber tohumlarına depolama öncesi ve sonrası mannitol ile ön uygulama yapmışlardır. Depolama öncesi uygulamaların, yaşlanmanın olumsuz etkilerinin görüldüğü 25°C'de depolanan tohumlarda çimlenme hızı ve gücünü arttırarak yaşlanma işlevini geciktirici etkide olduğunu saptamışlardır. Buna karşın, depolama sonrası osmotik uygulamaların yaşlanmayla oluşan zararlanmaları iyileştirici etkisinin artan depolama süresiyle azaldığını belirleyerek, depolama öncesi uygulamaların tercih edilmesi gerekliliğini önermişlerdir.

Rao et al. (1987), marul tohumlarını depolama öncesi radyasyon koruyucu (potasyum iodid, sistein) ve antioksidant (sodyum tiostülfat) ile muamele etmişler; depolama sonrası ise humidifikasyon ve PEG ile ön uygulama yapmışlardır. Depolama öncesi uygulamaların hiçbirisi tohum ömrü, kromozom anormallikleri ve çimlenme gücü üzerine önemli etkide bulunmamıştır. Buna karşın depolama sonrası her iki uygulamayla da yaşlanmayla oluşan zararlanmaların bazısında iyileşme elde etmişlerdir.

Uygulamaların kromozom anormalliklerini ve morfolojik olarak anormal fide oranını azalttığı, kök gelişim hızını artırdığı saptanmıştır. Yararın en çoğu, tohum nemi %34'e çıkıncaya kadar 3 gün humidifikasyon veya tohum nemi %44'e çıkıncaya kadar 7 gün ön uygulamalarıyla sağlanmıştır. Buna karşın, Van Pijlen et al. (1995), domates tohumlarına yaşlanma sonrası osmotik ön uygulamaların, çimlenme hızı, uniformluğu ve normal fide oranını artırarak tohum kalitesini iyileştirmekle beraber, kök ucu anormal anafaz hücresi oluşumunu azaltmadığını saptamıştır.

Rao et al. (1987), yaşlanmayla oluşan kromozom zararlanmalarının iyileştirilmesi için tamir enzimlerinin gerekliliği ve bunların da aerobik ortamlarda teşvik edildiğini ifade ederek, Khan et al.'a (1978) atfen osmotik solüsyonlarla muamele edilmiş marul tohumlarının RNA ve protein sentezi yapabildiklerini ayrıca bunlarda asit fosfataz ve esteraz aktivitelerinin devam ettiğini belirtmişlerdir.

Rao et al. (1987), depolamayı takiben yavaş hidrasyon uygulamalarının, depolama sırasında oluşan nükleus ve sitoplazmik zararların bazısının iyileştirilmesinde faydalı olabileceğini belirtmişlerdir. Bu iyileştirme etkisinin, çimlenme sırasında başlangıç su alımı döneminde otomatik olarak görülmekle birlikte kromozomların tamiri için iyileştirme periyodunun, hücre bölünmesi sırasında DNA replikasyonu öncesine kadar sürdürülmesinin daha etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu yaklaşıma göre hidrasyon uygulamalarının su potansiyelinin çimlenme için gerekli olanın altında olması önerilmiştir. Roberts'da (1988) yaşlanmayla oluşan genom zararını geriye döndüren iyileştirme mekanizmasının aktif olduğu kritik su potansiyelinin -14.5MPa olduğunu belirtmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

Kurutularak metabolik aktivitesi minimuma indirilen tohum, uzayan depolama sırasında zararlanıp çimlenme gücünü kaybetmektedir. Depolama sırasında tohum ömrünü etkileyen esas faktörler, tohumun nem içeriği ve ortam sıcaklığıdır. Bu faktörlerin uygun olmaması yanısıra tohumun genetik yapısına da bağlı olarak tohum yaşlanıp canlılığını kaybetmektedir (Roberts and Ellis, 1989; Ellis et al., 1990).

Tohumda zamana bağlı olarak çimlenme gücünün ve sonraki aşamada gelişen fidenin vigorunun kademeli azalmasının, tohumda meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin sonucu olduğu belirtilmiştir (Leopold, 1986).

Yaşlanma çok ilerlememişse bu zararlanmalar geriye dönüşümlü olabilmektedir. Birçok fiziksel veya kimyasal yöntemlerle tohumun canlılığının korunması ve zararlanmasının önlenmesi mümkün olmaktadır (Come, 1983).

Tohumda yaşlanma ile oluşan değişimler ve bunların değişik uygulamalar ile kontrolü konularında soğan tohumları bir model olarak ele alınmış ve konu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Farklı araştırmacılarca farklı çeşitlerde ve ortamlarda yapılmış bu çalışma sonuçlarının değişik yaklaşımları bir arada içeren bir çalışmada test edilmediği görülmektedir.

Soğan tohumlarında depolama koşullarına bağlı olarak değişen yaşlanma seviyelerinin hangi parametrelerle en iyi belirlenebileceğinin yanısıra tohuma yapılacak değişik uygulamalarla bu parametrelerde ne gibi değişimlerin olabileceği ve hangi koşullarda ne kadar süreyle yaşlanmanın kontrol edilebileceğinin ortaya konmasının daha ilginç olacağı düşünülmüştür.

Buna yönelik olarak yaşlanmayı kontrol etmede en etkili tohum uygulama yöntem ve zamanını belirlemek, soğan tohumlarında farklı depolama sıcaklığı ve tohum nemi koşullarında zaman içerisinde oluşan yaşlanmayı en iyi ortaya koyacak parametrelerin belirlenmesi ve etkisi

belirlenmiş tohum uygulamaları ile yaşlanmanın hangi koşullarda ne oranda kontrol edilebileceğinin ortaya konması amacıyla bir dizi çalışma planlanmıştır. Üç ayrı deneme şeklinde yürütülen çalışmada, yukarıda açıklanan varsayımların test edilmesi amaçlanmıştır.

3.1. Materyal

Çalışmamızda Agromar Tohum Firmasının 1994, 1995 ve 1996 yıllarında ürettiği 'Texas Early Grano' soğan çeşidinin tohumları kullanılmıştır.

Soğan tohumlarında yaşlanmayı kontrol etmek amacıyla birçok uygulamanın denendiği Deneme 1'de; 1994 yılında üretilen, % 92.5 canlılığında ve %8.05 nem içeriğindeki soğan tohumları kullanılmıştır.

Soğan tohumlarında yaşlanmayla meydana gelen değişimlerin belirlenmesinin amaçlandığı Deneme 2, 2 yılda gerçekleştirilmiş olup, ilk yılda 1995 yılı üretimli %95.25 çimlenme gücünde ve %8.2 nem içeriğinde, 2. yılda ise 1996 yılı üretimli %96 çimlenme gücünde ve %9.5 nemdeki tohumlar kullanılmıştır.

Deneme 1'de yaşlanmayı kontrol etmede etkinliği belirlenen uygulamaların, depolama koşullarına bağlı olarak soğan tohumlarında canlılık ve vigor (tohum gücü) kaybını geciktirme etkisinin araştırıldığı Deneme 3'te ise, 1996 yılında üretilmiş %96 çimlenme gücünde, %9.5 nemdeki soğan tohumları kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada yukarıda açıklanan varsayımları test etmek üzere üç ayrı deneme yürütülmüştür.

Yaşlanma ile oluşan kayıpları azaltmada hangi uygulamaların, yaşlanmanın hangi aşamasında etkin olduğunun belirlenmesi ilk deneme grubunu oluşturmuştur (Deneme 1).

Bunun yanında değişik nemlere sahip tohumların, farklı depo sıcaklıklarında bekletilmeleri sonucu zaman içerisinde metabolik düzeyde hangi parametrelerde ne gibi değişimlerin olduğunun belirlenmesine yönelik ikinci bir çalışma yürütülmüştür (Deneme 2).

Bunların dışında Deneme 1’de elde edilen en etkili tohum uygulamaları ve uygulama zamanlarını kullanarak muamele edilmiş tohumlarda, Deneme 2’de ele alınan yaşlanmanın değişimini ortaya koyan parametreler aracılığı ile farklı tohum nemi ve depo sıcaklığı koşullarında oluşabilen yaşlanma kayıplarının ne oranda iyileştirilebildiğı konusunda üçüncü grup denemeler yürütülmüştür (Deneme 3).

3.2.1. Tohum uygulamaları ve uygulama dönemi etkinliklerinin belirlenmesine yönelik deneme (Deneme 1)

1994-1995 döneminde gerçekleştirilen bu çalışmada soğan tohumlarında hasat sonrası depolama dönemi içerisinde meydana gelen yaşlanmanın kontrolünde etkili olabileceğı varsayılan değişik tohum uygulamalarının hangilerinin depolamanın hangi aşamasında uygulanmalarının daha etkili olduğunun belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla yaşlanma zararını gidermede etkin oldukları belirlenen PEG₆₀₀₀, KNO₃, KH₂PO₄, Askorbik asit, GA₃ ve tohumları doygun nemli atmosferde bekletme (hidrasyon) uygulamaları test edilecek uygulamalar olarak belirlenmiştir (Bradford, 1986; Dearman et al., 1986; Rao et al., 1987; Varier et al., 1991; Chhetri et al., 1993; Basra and Malik, 1994).

Ancak bu tohum uygulamalarının, ‘tohumda yaşlanma olmadan veya olduktan sonra mı?’ daha etkili olduklarını ortaya koymak için tohumlar Deluche and Baskin (1973) ve Ward and Powell’in (1983) önerdikleri şekilde kontrollü bozulmaya tabi tutulmuşlardır.

Yukarıda belirtilen tohum uygulamaları Çizelge 3.1’de belirtilen doz ve sürelerde, bir kısım tohuma kontrollü bozulma öncesi, diğerk kısım tohuma ise kontrollü bozulma uygulaması sonrası tatbik edilmişlerdir. Böylece yaşlanmanın iki farklı aşamasında olan tohumlarda, uygulamaların olası etkileri incelenmiştir.

Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere yaşlanma öncesi 16 farklı tohum uygulamasından askorbik asitin 0.3M ve 0.5M dozları tohumlarda toksik etki oluşturmuş ve bu nedenle yaşlanma sonrası uygulamalar içine alınmamıştır. Diğer yandan yaşlanma öncesinde etkisi incelenen GA_3 4 ve 24 saat süreli olarak uygulanmasına karşın, etkiyi daha da belirginleştirmek amacı ile yaşlanma sonrası uygulamalarında 4, 24 ve 48 saat süreli olarak uygulanmıştır.

Sonuçta yaşlanma öncesi grupta kontrol dahil 16 uygulama söz konusu iken yaşlanma sonrası grupta 15 uygulama test edilmiştir.

Çizelge 3.1 Yaşlanma öncesi ve sonrası tohumlara uygulanan yöntemler ve bunların uygulama doz ve süreleri.

Uygulamalar	Kontrollü Bozulma Öncesi Uygulama Süreleri	Kontrollü Bozulma Sonrası Uygulama Süreleri
%25 PEG	6 gün	10 gün
%35 PEG	8 gün	11 gün
0.1M KNO_3	3 gün	4 gün
0.3M KNO_3	3 gün	4 gün
0.1M KH_2PO_4	3 gün	6 gün
0.5M KH_2PO_4	6 gün	8 gün
100ppm GA_3	4 ve 24 saat	4, 24 ve 48 saat
0.3M Askorbik asit	4 gün	-
0.5M Askorbik asit	4 gün	-
0.06M Askorbik asit	3 gün	4 gün
Hidrasyon Uygulamaları	6, 12, 18 ve 24 saat	6, 12, 18 ve 24 saat

Hem yaşlanma öncesi hem de yaşlanma sonrası bu uygulama etkileri, 4 tekrarlı olarak tesadüf parselleri temel desenine göre test edilmiştir.

Petri kabına filtre kağıdı üzerine yerleştirilen tohumlara (1.5 g), 15ml uygulama solüsyonu konduktan sonra petrilerin kapağı kapatılıp 20°C'deki çimlenme dolabına konmuştur. Uygulama üreleri sonunda tohumlar, elek içinde öce çeşme suyu sonra saf su ile iyice yıkanmıştır. Hidrasyon uygulamalarında ise tohumlar, içine su konarak nispi nemi %100'e getirilen dessikatörde -suyla direk temas etmeyecek şekilde- ağzı açık petrilere bekletilmiştir.

Yaşlanma öncesi uygulamalarda, tohumlar uygulamalardan sonra oda sıcaklığında yüzey kurusu hale getirilip daha sonra nemi %18 oluncaya kadar kurutulup kontrollü yaşlandırmaya alınmıştır. Kurutma işlemi sırasında tohumlar içinde nem alıcı olarak CaCl_2 bulunan dessikatörde bekletilmişlerdir. Kontrollü yaşlandırma sonrası uygulamalarda ise tohumlar yüzey kurusu oluncaya kadar bekletilmişlerdir.

Yaşlanma öncesi ve sonrası uygulanan yöntemlerin yaşlanmayı iyileştirici yetenekleri, hiçbir uygulama yapılmayıp sadece yaşlandırılmış kontrol tohumlarının performanslarıyla karşılaştırılarak belirlenmiştir. Tohum performansının karşılaştırılmasında, çimlenme ve sürme gücü, ortalama çimlenme zamanı, ortalama fide boyu, anormal fide oranı ve tohumdan sızan maddelerin elektrik iletkenliğindeki değişim kriteri olarak kullanılmıştır.

Uygulamalara tesadüf parselleri deneme desenine göre varyans analizi yapılmış ve uygulamalar arası farklılıklar Duncan'ın çoklu sınıflandırma testi ($p < 0.05$) ile belirlenmiştir.

3.2.2. Soğan tohumlarında yaşlanmayla meydana gelen değişimlerin belirlenmesine yönelik deneme (Deneme 2)

1995-1997 yılları arasında iki yıl tekrarlanan bu çalışmada, farklı nem içeriğindeki tohumların farklı sıcaklıklarda depolanması sırasında zamana bağlı olarak fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde ne gibi değişimlerin olabileceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla denemenin 1. yılında, tohumlar 2 farklı depo sıcaklığı (5 ve 30°C) ve 2 farklı tohum nemi (%6 ve %12) olmak üzere 4 kombinasyonda 2 tekerrürlü olarak 9 ay; denemenin 2. yılında ise tohumlar yine 2 farklı sıcaklık (5 ve 30°C) ve 3 farklı nemde (%6, %9 ve %12) 6 kombinasyonda 2 tekerrürlü olarak 11 ay depolanmışlardır. Denemeler basit faktörlü tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenlenmiştir.

Nemleri düşük sabit sıcaklık yöntemiyle (ISTA, 1990) belirlenen tohumlar, depolamada kullanılacak olan %6, %9 veya %12 nem seviyelerine dessikatörde kurutmak veya nemli kağıt arasında bekletilmek suretiyle getirilmiştir. Nemleri ayarlanan tohumlar, her bir depolama faktöründe, 20g tohum 2³ tekrarlı olarak ağzı kapalı şişelerde depolanmıştır. 30°C'lik depolama koşulu, tohumların 30±2°C'deki etüvde depolanmasıyla sağlanmıştır. 5°C'lik depolama koşulu da 5-7°C'deki buz dolabında gerçekleştirilmiştir.

Depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanma sırasında soğan tohumlarında ne gibi değişimlerin olduğunun belirlenmesi için 1. yıl denemesinde depolamanın 3., 5., 7. ve 9. aylarında örnek alınmıştır. Denemenin 2. yılında ise örnek alımı 2.5, 5, 8 ve 11. aylarda yapılmıştır. Alınan bu örneklerde, çimlenme ve sürme testleri, düşük sıcaklıkta sürme testi ve tetrazolium testi yapılarak tohumda yaşlanmayla oluşan fizyolojik değişimler incelenmiştir. Ayrıca tohumdan sızan madde miktarındaki değişim ile tohumun total protein, şeker, yağ ve yağ asidi içeriğindeki değişimler incelenerek yaşlanmayla oluşabilecek biyokimyasal değişimler belirlenmiştir.

Ayrıca depolamayla tohumda oluşabilecek genetik zararlanmayı belirlemek amacıyla denemenin 2. yılında 16 aylık depolama sonrasında tohumlarda depolama koşullarına bağlı olarak kök ucu kromozom anormalliklerindeki değişimler incelenmiştir.

3.2.3. Soğan tohumlarında depolama öncesi uygulamaların depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmayı kontrol edici etkilerinin araştırıldığı deneme (Deneme 3)

1996-1997 döneminde gerçekleştirilen bu denemede ise ilk deneme grubunda belirlenen yaşlanmayla oluşan zararlanmayı optimum iyileştirme yeteneğine sahip uygulama zamanı ve yöntemi kullanılarak, depolama sıcaklığı ve tohum nemine bağlı olarak doğal yaşlanmanın ne ölçüde geriye döndürülebileceği veya geciktirilebileceği ve bu etkinin ne kadar süreceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla Deneme 1'de, yaşlanmayla oluşan canlılık ve vigor (tohum gücü) kaybını azalttığı belirlenen depolama öncesi 2 farklı uygulama (0.1M KNO_3 ve 0.1M KH_2PO_4) yapılmış tohumlar, 2 farklı depo sıcaklığı (5 ve 30°C) ve 3 farklı tohum nemi (%6, %9 ve %12) olmak üzere toplam 12 kombinasyon 2 tekrarlı olarak 11 ay depolanmıştır. Deneme basit faktöriyel tesadüf parselleri deneme desenine göre düzenlenmiştir.

Depolama öncesi, herbir petride 2g tohum olacak şekilde 0.1M KNO_3 veya 0.1M KH_2PO_4 ile 20°C'de 3 gün muamele edilmiştir. Uygulama sonrası tohumlar, saf suyla yıkanmış ve yüzey kurusu oluncaya kadar oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. KNO_3 veya KH_2PO_4 uygulamalı tohumlar, ağırlık kaybı esasına göre depolamada kullanılacak %6, %9 ve %12 nem seviyelerine gelinceye kadar kurutulduktan sonra her bir depolama kombinasyonunda 20g'lık gruplar halinde 2 tekerrürlü olarak ağzı kapalı şişelerde depolanmışlardır. 30°C'lik depolama koşulu 30±2°C'deki etüvde; 5°C'lik depolama koşulu da 5-7°C'deki buz dolabında tohumların depolanmasıyla gerçekleştirilmiştir.

Depolamanın 2.5, 5, 8 ve 11. aylarında örnek alınarak, bunlarda çimlenme ve sürme testleri, düşük sıcaklıkta sürme testi ile tohumdan sızan madde miktarı, tohumların total protein ve şeker içeriğindeki değişimler belirlenmiştir. Ayrıca farklı sıcaklık ve nem içeriğinde 16 aydır depolanan uygulamalı tohumlarda kromozom anormallikleri de belirlenerek, depolama öncesi bu uygulamalarla yaşlanmayla oluşan genetik zararlanmanın ne oranda iyileştirilebileceği araştırılmıştır.

3.2.4. Analiz yöntemleri

3.2.4.1. Tohum neminin saptanması

Tohumun nem içeriği, kurutma sırasında meydana gelen nem kaybının tohumun orjinal (yaş) ağırlığına göre % olarak ifade edilmesidir.

Tohumların nem içeriği 'düşük sabit sıcaklık fırın' yöntemi (ISTA, 1990) ile belirlenmiştir. 4 tekerrürlü olarak yapılan analizde, her bir tekerrürde 4g tohum örneği (M_1) kurutma kabına konmuştur. İçinde tohum örneğiyle beraber kapaklı olarak kabın ağırlığı (M_2) belirlenmiştir. Tohum örnekleri kapların ağzı açık olarak 103 ± 2 °C'deki etüvde 17 saat kurutulmuştur. Etüvden çıkarılan örnek, kapağı kapatılarak soğutulmak üzere içinde $CaCl_2$ bulunan desikatörde 45 ± 15 dakika bekletildikten sonra tekrar tartılmıştır (M_3). Tohumların % nem içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Tohum nem içeriği} = \frac{M_2 - M_3}{M_1} \times 100$$

Her bir tekerrürden elde edilen değerler ISTA'da (1993) belirtilen tolerans sınırını aşmadıysa tekerrürlerin aritmetik ortalaması alınarak nem içeriği belirlenmiştir. Eğer tekerrürler arası fark, tolerans sınırının üzerindeyse analiz yinelenmiştir.

3.2.4.2. Tohum neminin ayarlanması

Nem içeriği belirlenen tohumları gerek depolama sırasında gerekse kontrollü yaşlandırma testinde istenen nem seviyelerine getirmek için Sivritepe'nin (1992) belirttiği aşağıdaki eşitlikten yararlanılmıştır.

$$c = a(100 - b) / (100 - d)$$

c: tohumun son ağırlığı; a: tohumun başlangıç ağırlığı;

b: tohumun başlangıç nem içeriği; d: tohumda istenen nem içeriği

Tohumun nem içeriğini arttırmak için ağırlığı ve nemi belli olan tohum kütlesi, oda koşullarında nemli iki kağıt arasında ağırlığı yukarıda belirtilen eşitlikten hesaplanan ağırlığa gelinceye kadar bekletilmiştir. Nem içeriğini düşürmek için ise belli ağırlık ve nemdeki tohumlar, CaCl_2 içeren desikatörde belirlenen ağırlığa düşüncüye kadar bekletilmiştir.

Nemi istenilen seviyeye gelen tohumlar, ağzı kapalı şişelere konarak nemin tohumlara eşit dağılımını sağlamak için bir gece $+10^\circ\text{C}$ 'deki buz dolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.4.3. Kontrollü yaşlandırma uygulaması

Ward and Powell(1983), en fazla metobolizma bozuklukları ve hücrel organizasyon bozukluklarının görüldüğü düşük vigorlu tohumların, tohum iyileştirme uygulamalarına en iyi tepkiyi verdiğini bildirmektedir. Delouche and Baskin (1973) ise tohumları zararlanma hızını etkileyen kötü koşullara maruz bırakıp suni olarak yaşlandırmak suretiyle depolama potansiyellerinin saptaması ve vigorlarının karşılaştırılmasının, mümkün olabileceğini belirtmektedir. Bu çalışmada da tohumların depolama potansiyellerini arttırmak amacıyla denediğimiz ön uygulamalar arasındaki farkı belirginleştirmek için vigoru azaltan kontrollü yaşlandırmayı uyguladık.

Soğan tohumlarında kontrollü yaşlandırma için ISTA'da (1993) tohum neminin %18 olması gerektiği belirtilmektedir. Nemi %8.05 olan soğan tohumları, nemi %18 oluncaya kadar nemli kağıt arasında bekletilmiştir. Daha sonra tohumlar, Tarquis and Bradford'un (1992) yöntemine göre hava geçirimsiz şişelere konup, 10°C 'deki buz dolabında nemin tohumlara eşit dağılması için 1 gece bekletildikten sonra $96 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'deki su banyosuna konmuştur (ISTA,1993).

3.2.4.4. Çimlenme testleri

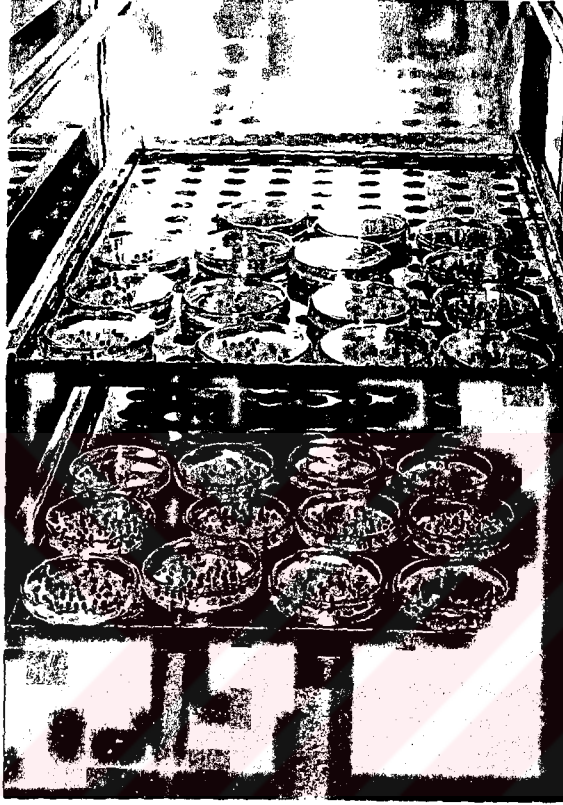
Tohumların çimlenme gücü ve canlılık yüzdesini belirlemek için ISTA (1993) kurallarında belirtildiği gibi çimlenme testleri kurulmuştur. 4 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 100 adet tohum, petri kaplarında nemli kağıt üzerine yerleştirilmiştir. Çimlenme testi 20°C'de, 12 sa / 12 sa (gece/gündüz) koşullarındaki 'Nüve marka' iklim dolabında 15 gün süreyle gerçekleştirilmiştir. Çimlenme sırasında tohumlardan nem kaybını önlemek için petrilerin ağzı kapatıldıktan sonra kenarları streç filmle kaplanmıştır (Şekil 3.1). Sayımlar günlük olarak yapılmış ve kökçüğü 2mm olan tohum 'çimlenmiş' olarak kabul edilmiştir. Test sonucunda günlük sayımlar toplanarak ve tekerrürlerin aritmetik ortalaması alınarak çimlenme gücü (%) hesaplanmıştır. Tekerrürler arası fark ISTA'nın (1993) tolerans sınırını aşıyorsa test tekrar edilmiştir.

Çimlendirme testlerinde yapılan günlük sayımlardan Pedersen et al'ın (1993) belirttiği eşitlik kullanılarak ortalama çimlenme zamanı ($\bar{C}_{50}$) gün olarak hesaplanmıştır. Bu eşitliğe göre,

$$\text{Ortalama çimlenme zamanı } (\bar{C}_{50}) = S(g \times n) / S_n$$

g: testin başlangıcından itibaren sayımın yapıldığı gün,

n: sayımın yapıldığı gün çimlenen tohum sayısı



Şekil 3.1 Çimlendirme testinde petrilere ekilmiş tohumlar.

3.2.4.5. Fide oluşum oranlarının belirlenmesi

Çimlenme gücü parametresinde tohum fizyologlarının kabul ettiği, tohumdan kökçük çıkışı esas alınmıştır. Ancak kökçük çıkışı olan, çimlenebilen her tohumun eksiksiz ve kusursuz organlara sahip normal bir bitki oluşturması beklenemez. Bu nedenle tohumların çimlenme testinden farklı olarak fide oluşturabilme gücünü belirlemek için kumda yada çimlendirme testinin devamı olarak petride fide oluşum oranları incelenmiştir.

Kontrollü yaşlandırma testi öncesi ve sonrası tohumlarda çeşitli uygulamaların yapıldığı deneme 1'de ve tohumların farklı koşullarda depolandığı deneme 2'nin ilk yılında tohumların fide oluşturabilme gücü tohumların kum ortamına ekilmesiyle belirlenmiş ve kumda fide oluşum oranı (KFOO) olarak nitelendirilmiştir. Bu testte, çimlendirme testinde olduğu gibi 4 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 100 adet tohum, plastik kaplara nemli kum ortamına ekilmişlerdir. Test süresince nem kaybını önlemek için kapların üzeri plastik örtüyle kapatılmıştır (Şekil 3.2). Bu testin koşulları da çimlenme testiyle aynı olarak 20°C'de 20 gün süreyle iklim dolabında devam etmiştir. Test sonunda her bir tekerrürde kum üzerine çıkan çimler sayılmıştır. Tekerrürlerin ortalaması alınarak kumda fide oluşum oranı (KFOO) belirlenmiştir.

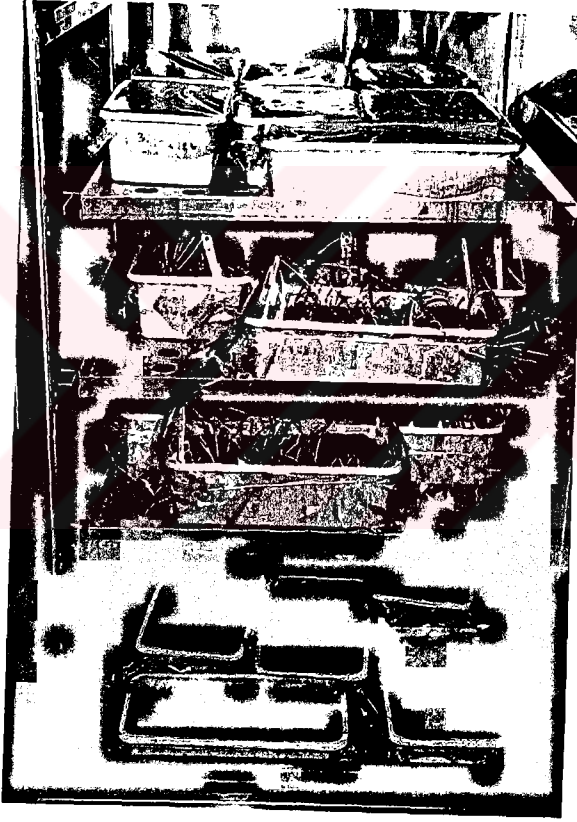
Tohumların farklı koşullarda depolandığı deneme 2'nin ikinci yılı ve depolama öncesi uygulamaların yapıldığı deneme 3'te tohumların fide oluşturabilme gücü ise tohumların petride kağıt ortamına ekilmesiyle belirlenmiş ve petride fide oluşum oranı (PFOO) olarak nitelendirilmiştir. 3.2.4.4.'te açıklandığı gibi gerçekleştirilen çimlenme testinde günlük sayımı yapılan tohum ortamdan uzaklaştırılmayarak test sonunda (15 gün) her bir tekerrürde oluşan çimler sayılmış ve tekerrür ortalaması petride fide oluşum oranını (PFOO) oluşturmuştur.

Hem kumda hem de petride fide oluşum oranı belirlenmesinde ISTA (1993) da belirtilen normal fide kavramı baz alınarak değerlendirme yapılmıştır.

Test sonunda kökçüğü kısa küt, çatlamış, camsı görünümlü olanlar; kotiledonu kalın-kısa, halka veya spiral oluşturmuş, dirsek çıkıntısı olmayan çimler (Şekil 3.3) anormal fide grubuna alınmıştır. Toplam çimlenenlere oranlanmak suretiyle % olarak anormal fide oluşumu belirlenmiştir.

Ayrıca Deneme 1 ve Deneme 2'nin ilk yılında, testin sonunda (20 gün) her bir tekerrürden çıkış yapan 20 adet fidenin koleoptil uzunluğu ve yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Ölçümlerin ortalaması alınarak, ortalama koleoptil uzunluğu (cm/bitki) ve yaş ağırlığı (mg/bitki) olarak belirlenmiştir. Nitekim Halmer and Bewley (1984), çimlenme hızı, fide

uzama hızı ve fidenin yaş ağırlığı gibi kolay ölçülebilen parametrelerle tohumun vigorunun belirlenebileceğini belirtmektedir.



Şekil 3.2 Kum ortamına ekilen tohumlar ve gelişen çimler.



Şekil 3.3 Anormal fide oluşumları a) kısa-küt kökçüklü, b) spiral kotiledonlu, c) dirsek oluşturmamış çimler.

3.2.4.6. Düşük sıcaklıkta sürme testleri

Harrigton'a (1973) göre tohum yaşlandıkça çimlenebileceği koşullar daralmaktadır. Son yıllarda, tohum vigorunu belirleyen çalışmalarda stres koşullarında çimlendirme testleri gerçekleştirilmektedir (Perry, 1986; Ram and Wiesner, 1988). Thanos et al. (1989), depolama koşullarına bağlı olarak biber tohumlarının çimlenmesinde meydana gelen kayıpların ve dolayısıyla yaşlanmanın etkilerinin en iyi optimal-altı sıcaklıkta çimlendirme denemesiyle belirginleştiğini belirtmektedir.

Depo koşullarına bağlı olarak tohumlarda yaşlanmayla meydana gelebilecek değişimleri incelendiğimiz deneme 2'nin ikinci yılında ve depolama öncesi bazı uygulamalarla depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmanın geciktirilip geciktirilemeyeceğini araştırdığımız deneme 3'te tohumların vigorları arasındaki farkı daha iyi belirleyebilmek için düşük sıcaklıkta sürme testi gerçekleştirilmiştir. Bu testte de, kumda fide oluşum oranının belirlenmesinde (3.2.4.5.) belirtildiği gibi 100 adet tohum 4 tekerrürlü olarak plastik kaplardaki kumlara ekilmiş ve nem kontrolü için üzerleri plastik örtüyle kapatılmıştır. Bu test 10-12°C'deki ortam sıcaklığındaki çimlendirme dolabında 20 gün devam etmiştir. Test sonunda kum üzerine çıkış yapan normal çimler (ISTA, 1993) sayılıp tekerrür ortalamaları hesaplanarak tohumların düşük sıcaklıkta sürme gücü (%) belirlenmiştir.

Deneme 2'nin 2.yılında KFOO'nun belirlenmesinde olduğu gibi bu testin sonunda da normal çıkış yapan 10 adet çimin koleoptil uzunluğu ölçülerek ortalama fide boyu (cm/bitki) ve bunların yaş (mg/bitki) ve kuru ağırlıkları (mg/bitki) saptanmıştır.

3.2.4.7. Tohumdan madde sızıntısının belirlenmesi

Powell and Matthews(1978), iki yıla kadar ticari ambarda depoladıkları 13 bezelye partisinden depolama süresince en az vigor kaybını gösterenlerin seçiminin ve tohum partilerinin depolama potansiyelinin tahmininin, tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenlik analiziyle mümkün olabileceğini belirtmektedir. Nitekim dokudan elektolit sızıntısı madde difüzyonuna engel olan membran etkinliğinin bir indeksi olarak gözönüne alınabilmektedir (Simon,1974; Parrish and

Leopold, 1978). Sağlıklı tohumda su alınımla membranın biyokimyasal ve yapısal bütünlüğünü korumak için hızlı bir iyileşme olurken, bu durum zararlanmış tohumda yoktur ve elektrolit kaybı artmaktadır (Parrish and Leopold, 1978; Priestley, 1986).

Çalışmamızda membran zararlanmasının bir göstergesi olarak tohumdan sızan madde miktarı belirlenmiştir. Bunun için tohumların içinde bekletildikleri süzüntünün elektriki iletkenliği ve bu süzüntü içindeki potasyum ve aminoasit miktarı ölçülmüştür.

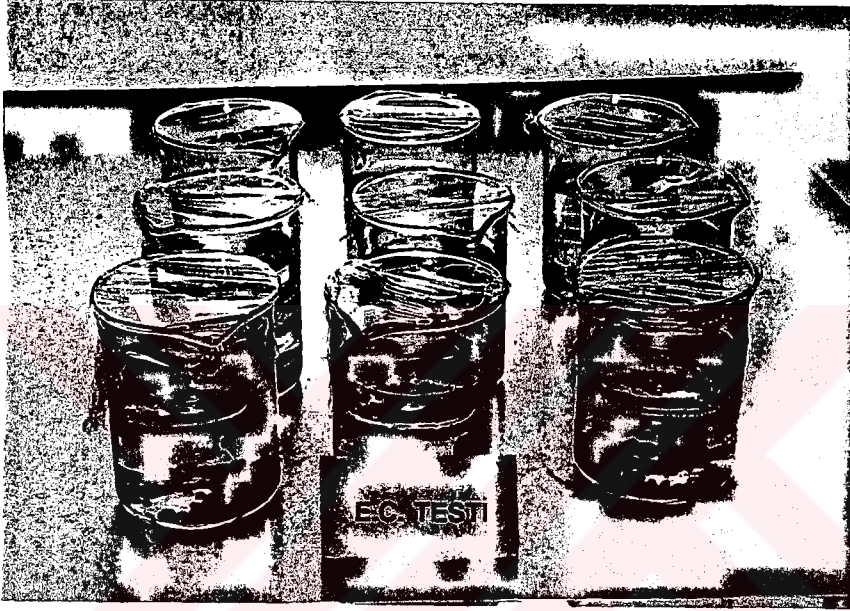
Tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğinin ölçümü için, Pandey'in (1989) çalışmasından modifiye edilerek 200 adet soğan tohumu tartıldıktan sonra 30°C'de 80ml saf suda 24 saat bekletilmiştir. Bekletme sırasında beherden suyun buharlaşmasını engellemek için beherlerin ağzı streç filmle kapatılmıştır (Şekil 3.4). Bekletilen su filtre kağıdından süzülüp süzüntünün 'YSI Model 33' marka kondüktimetrede elektriki iletkenliği ölçülmüştür. Ölçüm sonrası mMhos olarak elde edilen değer, tohum ağırlığına bölünerek tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği mMhos/g tohum olarak belirlenmiştir.

Elektrolit sızıntı miktarını belirlemek için hazırlanan süzüntü içindeki potasyum miktarı da flame fotometrede 10, 20, 40, 60, 80, 100 ppm'lik potasyum standartlarına karşı okuma yapılmak suretiyle belirlenmiştir. Belirlenen bu değerler ppm/g tohum olarak hesaplanmıştır.

Aynı süzüntü Whatmann No1'den süzüldükten sonra tohumdan sızan aminoasit miktarı Taylor et al.'dan(1995) modifiye edilerek belirlenmiştir. Süzüntüden alınan 5ml örnek üzerine 5ml reaksiyon tamponu¹ ilave edildikten sonra örnekler yaklaşık 12 dakika kaynar su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan çıkan örnekler soğuk su içinde 10 dakika kadar soğutulduktan sonra 570nm dalga boyundaki Bosh and Lomb marka spektrofotometrede transmittans değerleri ölçülmüştür. Örneklerin okuması, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ve 0.7mM'lık

¹ Reaksiyon tamponunun hazırlanması: 0.7g ninhidrin 100ml 0.5M sitrat tamponunda (pH 5.5) eritilir. Bu ninhidrin çözeltisinden 7 kısım alınarak 12 kısım gliserolle karıştırılır.

glisin standartlarına karşı yapılarak, süzüntüdeki miktarı $\mu\text{M/g}$ tohum cinsinden saptanmıştır.



Şekil 3.4 Elektriki iletkenlik testi için tohumların saf suda bekletilmesi.

3.2.4.8. Total protein tayini

Tohumların protein içeriklerinde meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla Kjeldahl Yöntemi kullanılmıştır. 0.5g tohum üzerine 5g katalizör karışımı ($1\text{kg K}_2\text{SO}_4 + 100\text{g CuSO}_4 + 5\text{g Se}$) ve 15 ml teknik sülfürik asit ilave edilerek 380°C 'de 2.5-3 saat yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yakma işleminden sonra örnek üzerine %40'lık NaOH ilave edilerek distilasyon safhasına geçilmiştir. Bu işlem sırasında açığa çıkan amonyak (NH_3), %2'lik borik asit içinde sıvı formda tutulmuştur. Distilasyon sonrası örnek, 0.2 N sülfürik asit ile titre

edilmiştir. Titrasyonla bulunan sarfiyat aşağıdaki formüle uygulanarak tohumların protein içeriği % olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Protein} = \frac{(\text{sarfiyat-tanık}) \times N \times F \times 1.4}{\text{örnek miktarı(g)}} \times 6.25$$

N=normalite (0.2) , F= faktör (1)

3.2.4.9. Total yağ tayini

Depolama koşullarına bağlı olarak soğan tohumlarının total yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler Nükleik Manyetik Rezonans (NMR) aletinde belirlenmiştir. Benzer şekilde Bacic et al. (1992) mısır embriyolarının su ve yağ içeriğini belirlemiştir.

Soğan tohumları havanda iyice dövüldükten sonra petrol eterinde bekletilmek suretiyle saf yağı alınmıştır. Bu yağın 4g ile NMR aletinin kalibrasyonu yapıldıktan sonra tohumların yağ miktarı ölçülmüştür. Farklı depolama koşullarından alınan tohumlar 4g x 3 tekerrürlü olarak 105°C'de 3 saat bekletildikten sonra NMR aletinde % yağ içerikleri okunmuştur.

3.2.4.10. Total yağ asidi içeriğinin belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunu saptamada farklı doymuşluk seviyelerindeki yağ asitlerinin nispi değişimlerinin analiz edilmesinin daha hassas bir yöntem olduğu, doymamış yağ asitleri daha kolay okside olduğundan bu asitlerin kaybının lipid peroksidasyonu için güzel kanıtlar sağlayacağı belirtilmektedir (Wilson and McDonald, 1986). Ayrıca tohumda biriken yağ asitlerinin ya fide gelişiminde enerji kaynağı olarak ya da hücrel membran yapılarının bir parçası olarak iş gördüğü belirtilmektedir (Perl et al., 1987)

Depolama koşullarına bağlı olarak bazı türlerde yağ asidi içeriklerinin değiştiği belirlenmiştir (Steward and Bewley, 1980; Perl et

al, 1987). Bu çalışmalara dayanarak farklı koşullarda ve sürelerde depolanan soğan tohumlarının yağ asidi içeriğindeki değişimler gaz kromatografisi yöntemiyle incelenmiştir.

Bunun için yaklaşık 2g tohum örneği dövülüp petrol eterinde bekletildikten sonra yağı alınmıştır. Alınan bu yağ örneği üzerine 0.5ml metilen-t çözeltisi² konup iyice çalkalanmıştır. Bir gece beklemeye bırakılan örnek üzerine 0.25ml iso-octan ilave edilerek tüp içindeki yağın iki faza ayrılması sağlanmıştır. Üstteki faz alınıp, 2.5m cam kolon içinde %10'luk DEGS (dietilen glikoz suksinat)-Chromosorb W/AW DMCS materyali kullanılarak gaz kromatografisinde yağ asitlerinin ayrımı sağlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 30ml/dak. hızındaki azot gazı kullanılmıştır. Ayırma işlemi sırasında fırın sıcaklığı 190°C, enjektör ve dedektör sıcaklığı 250°C'de tutulmuştur. Ayırma işlemi sonunda elde edilen piglerin alanlarına göre örneğin yağ asidi içeriği % olarak hesaplanmıştır.

3.2.4.11. Total şeker miktarının belirlenmesi

Soğan tohumlarının depolama koşullarına bağlı olarak toplam şeker miktarındaki değişim Bolat'tan (1989) modifiye edilerek belirlenmiştir.

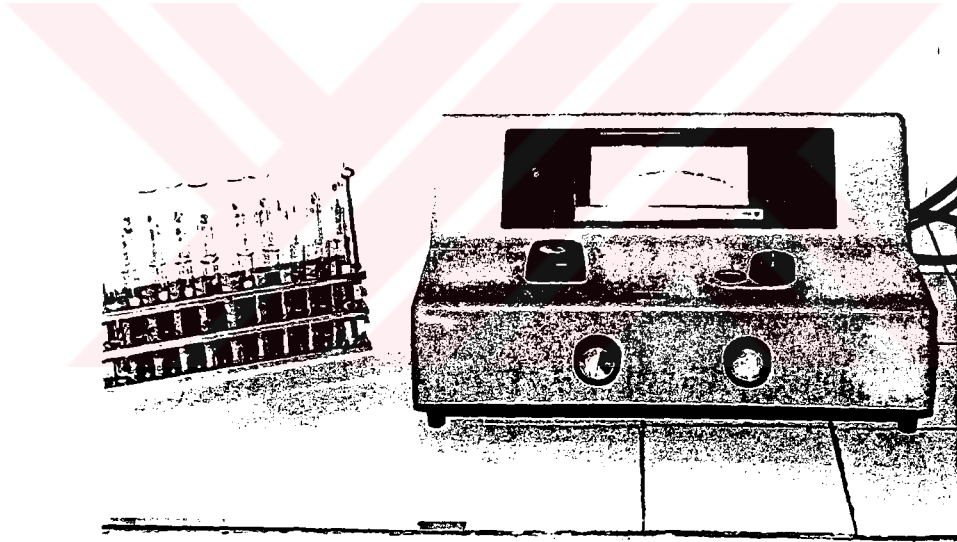
2g dövülmüş tohum örneği 50ml %80'lik alkolde bir gece bekletildikten sonra filtre kağıdından (Whatmann No.1) süzölmüştür. Bu süzöntüden 1ml alınıp saf suyla 50ml'ye tamamlanmıştır. Bu solüsyonun 3ml'si bir tübe alınıp buz banyosunda, üzerine 6ml soğuk %0.2'lik anthrone çözeltisi³ ilave edilmiştir. Bu karışım önce 10 dakika kaynayan su banyosunda sonra da 10 dakika buz banyosunda bekletilmiştir. Soğuyan örneğin 620nm dalga boyunda Bosh and Lomb marka spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuştur (Şekil 3.5).

² metilen-t çözeltisi: 0.5g sodyum metilat + 80ml metil alkol + 20ml iso-octan

³ Anthrone çözeltisinin hazırlanması: 0.2g anthrone 100ml %95'lik sülfürik asit içinde çözöndürölmöür.

10, 20, 30, 40 ve 50ppm'lik glikoz-D ile hazırlanan standartların okuma değerleriyle kurve faktörü⁴ hesaplanmıştır. Bu kurve faktöründen yararlanılarak aşağıdaki eşitlik kullanılmak suretiyle örneklerin total şeker miktarı belirlenmiştir.

$$\text{Total Şeker (\%)} = \frac{\text{Örnek Absorbansı} \times \text{Kurve Faktörü}}{\text{Kullanılan Örnek Miktarı}^5 \times 10000}$$



Şekil 3.5 Total şeker tayininde spektrofotometrede okuma.

$$^4 \text{ Kurve faktörü} = \frac{\text{S.K.}_1 \times \text{S.M.}}{\text{S.A.}_1} + \frac{\text{S.K.}_2 \times \text{S.M.}}{\text{S.A.}_2} + \dots + \frac{\text{S.K.}_n \times \text{S.M.}}{\text{S.A.}_n} / n$$

S.K. : n sayıda kullanılan standart konsantrasyonu,

S.M.: Ölçümde kullanılan standart miktarı (3ml)

S.A.: n sayıdaki standardın 620nm'deki absorbans değeri

⁵ Örnek miktarı= örnek ağırlığı/ 50ml (alkol miktarı)/ 50ml (seyreltmedeki su miktarı)

3.2.4.12. Tetrazolium testi

Tohumların canlılıklarını belirlemek ve canlılık kaybının hangi dokularda olduğunu görmek amacıyla çimlenme testleri yanı sıra tetrazolium testleri de yapılmıştır.

Depolama koşullarına bağlı olarak canlılık kaybının başladığı aşamada tohumlardan örnek alınmıştır. Alınan tohumlar testanın yumuşaması için nemli kağıt arasında 20°C'de 18 saat bekletildikten sonra tohumlar tepesinin yaklaşık 1/3' lük kısmı düz yüzeyine paralel olacak şekilde (Moore, 1985) -embriyoya zarar vermeden- enine kesilmiştir. Daha sonra tohumlar %0.1'lik 2,3,5-trifenil tetrazolium klorid tuzu ile hazırlanmış boya çözeltisinde 20°C'de 24 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Bu sırada tetrazolium tuzu canlı dokularda oksidaz enzimleri tarafından indirgenmek suretiyle dokuları kırmızıya boyamaktadır (Moore, 1985). Boyama sonrası tohumlar saf suda yıkanmış ve binoküler altında embriyoları çıkartılmıştır. Embriyolar boyanma durumuna göre değerlendirilmiştir.

3.2.4.13. Sitolojik çalışmalar

Bewley and Black'in (1994) belirttiği gibi depolama sırasında tohumda meydana gelen genetik zararlanmanın belirlenmesi için kök ucu 1.mitoz bölünmenin anafaz safhasında görülebilen kromozom anormallikleri incelenmiştir. Bunun için 25°C'de çimlenen tohumlardan kökü 0.5 ile 2cm olanlar 3:1 oranında hazırlanmış alkol:asetik asit fiksatifine alınmıştır. Örnek alımı sabah erkenden (8:30-9:00 arası) mitotik aktivitenin fazla olduğu dönemde yapılmıştır. Örnekler bu fiksatifte yaklaşık 3 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra preparat hazırlanıncaya kadar buz dolabında muhafaza edilmiştir. Fiksatiften çıkarılan kökler, saf su ile iyice yıkandıktan sonra 60°C'deki su banyosunda bekletilen 1N HCl içinde 8-9 dakika hidroliz edilmişlerdir. Hidrolizi durdurmak için HCl'den çıkarılan kökler hemen saf su ile yıkanarak boyanma aşamasına gelmiştir. Feulgen boyasında (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995) yarım saat bekleyen örnekler boyadan çıkarılır çıkarılmaz fazla boyanın uzaklaştırılmasını sağlamak için saf su içinde bir süre bekletilmiştir. Boyama sonrası kök, lam üzerinde 1-2mm'lik kök ucu

kalacak şekilde kesilmiştir. Kök ucu üzerine %45'lik asetik asit damlatıldıktan sonra lamelle kapatılarak ezme preparat hazırlanmıştır. Mikroskobik incelemeler Olympus ışık mikroskobunda yapılarak anafaz hücrelerinde görülen kromozom anormallikleri saptanmıştır. Abdul Baki and Anderson (1972) ise kromatidlerden ziyade kromozomlarda köprü oluşumu, parçalanma veya halka oluşumu gibi anormalliklerin oluştuğunu ifade etmişlerdir. Bizim incelemelerde kromozomda köprü oluşumları, parça ayrılmaları ve kalgın kromozomlu (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995) anafaz hücreleri (Şekil 3.6) belirlenmiştir.

Kök ucu anafaz hücrelerinde kromozom anormallikleri 15 aylık depolama sırasında canlılığını sürdürebilen 5°C'de %6, 9 ve 12 nem içeriğindeki tohumlar ile 30°C'de %6 nemde muhafaza edilen tohumlarda incelenebilmiştir. Yaklaşık 400-450 anafaz hücresi incelenerek, bunlar içinde anormal kromozomlular sayılmış ve anormal anafaz hücreleri incelenen tüm anafaz hücrelerine oranlanarak % anormal anafaz hücresi hesaplanmıştır.



Şekil 3.6 Anafaz hücrelerinde anormal kromozom oluşumları a) köprü oluşumu, b) kalgın kromozom, c) parça kopması.

3.2.4.14. İstatistiki değerlendirme

İstatistiki değerlendirmelerde, SPSS (5.0 for Windows) paket programı kullanılmıştır. Çimlenme ve sürme gücü (%) ile anormal fide oranı (%) değerlerine Snedecor and Cochran'nın (1967) belirttiği şekilde açısal transformasyon uygulandıktan sonra istatistiki değerlendirmeye alınmıştır.

Uygulamalar arasındaki farklılıkları belirlemede Duncan'ın çoklu sınıflandırma testi ($p<0.05$) kullanılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Tohum Uygulamaları ve Uygulama Dönemi Etkinliklerinin Belirlenmesine Yönelik Deneme (Deneme 1) Bulguları

Bu denemede, soğan tohumlarında yaşlanmayla oluşan zararlanmaların geciktirilmesi veya iyileştirilmesinde hangi yöntemin hangi uygulama döneminde daha etkili olabileceğinin saptanması amaçlanmıştır. Bu amaçla tohumlar, kontrollü yaşlandırma öncesi ve sonrası dönemlerde PEG₆₀₀₀, potasyum tuzları (KH₂PO₄ ve KNO₃), askorbik asit, giberelik asit (GA₃) ve hidrasyon uygulamaları ile muamele edilmiştir.

4.1.1. Yaşlanma öncesi uygulama etkinlikleri

Tohumlara Çizelge 3.1'de belirtilen uygulamalar yapıldıktan sonra 3.2.4.3'te açıklanan yöntem uyarınca kontrollü yaşlandırmaya alınmıştır. Yaşlandırma sonrası tohumlarda çimlenme gücü, kumda fide oluşum oranı (KFOO), anormal fide oranı, ortalama çimlenme zamanı, fide boyu ve tohumdan oluşan sızıntı kayıpları belirlenerek uygulama etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

Bu uygulamalar sonucu elde edilen veriler Çizelge 4.1'de görülmektedir.

Çimlenme gücü bakımından değerlendirdiğimizde, tohumların, kontrollü yaşlandırma öncesi 0.1M KNO₃ ile uygulanması, kontrole nazaran çimlenme gücünü kontrol grubuna nazaran istatistiki önemde arttırmıştır. Kontrol grubu tohumların çimlenme gücü %79.5 iken 0.1M KNO₃ ile uygulanması ile bu değer %90.5'a çıkmıştır (Şekil 4.1). Çimlenme gücünü artırma bakımından bu uygulamayı sırasıyla 0.1M ve 0.5M KH₂PO₄ (%88 ve %83.25), 24 saatlik giberelik asit (%83) ve 0.3M KNO₃ (%82) uygulamaları izlemiştir. Ancak bu uygulamalar kontrole göre istatistiki önemde büyük fark yaratmamışlardır (Çizelge 4.1).

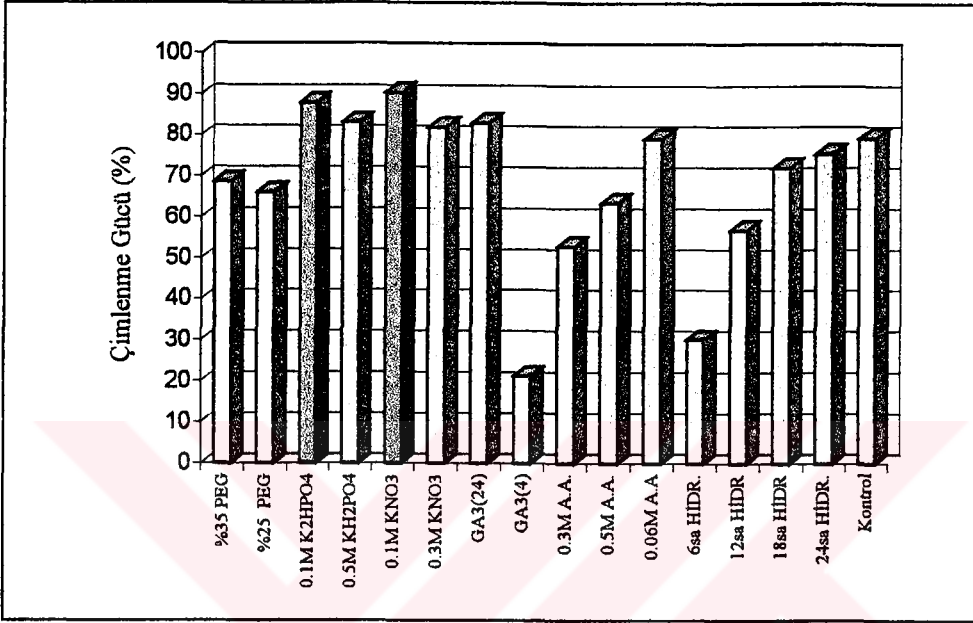
Yaşlanmayı geciktirmede, %25 ve %35'lik PEG uygulamaları, tüm askorbik asit uygulamaları ve 4 saatlik GA₃ uygulaması olumsuz etkide

bulunmuştur. Özellikle 0.3M ve 0.5M askorbik asitleri ile uygulanan tohumların endosperm dokularının karardığı gözlenmiştir.

Çizelge 4. 1 Yaşlanma öncesi uygulamaların etkileri

Yaşlanma Öncesi Uygulamalar	Çimlenme Gücü* (%)	KFOO* (%)	Anormal Fide Oranı* (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)	Fide Boy (cm)	Elektriki İletkenlik (mMhos/g)
%35 PEG	68,75 efgh 56,12	67,50 bc 55,46	13,81 de 21,83	10,31 ef	8,44 gh	62,76 a
%25 PEG	66,00 fgh 54,40	50,40 de 45,31	13,81 de 21,83	11,05 f	7,98 h	65,18 ab
0.1M KH ₂ PO ₄	88,00 ab 69,94	81,50 a 64,87	3,05 a 8,63	4,37 a	9,49 cde	75,32 c
0.5M KH ₂ PO ₄	83,25 abc 66,00	69,00 bc 56,43	7,32 bc 15,47	3,94 a	9,79 bc	123,48 d
0.1M KNO ₃	90,50 a 72,32	77,50 ab 61,95	4,10 ab 11,41	4,63 a	10,31 a	77,04 c
0.3M KNO ₃	82,00 abcd 65,10	77,30 ab 61,65	3,77 ab 11,11	5,54 b	10,19 ab	133,90 e
24 sa GA ₃	83,00 abc 66,10	75,00 ab 60,22	13,81 de 21,83	7,00 d	9,35 cde	65,40 ab
4 sa GA ₃	21,25 i 27,37	12,50 f 20,81	40,45 f 39,51	9,61 e	8,75 fg	150,41 f
0.3M Askorbik Asit	53,00 i 46,75	40,20 e 39,37	16,00 de 23,41	4,57 a	8,69 fg	64,16 a
0.5M Askorbik Asit	63,50 gh 52,90	51,60 de 45,90	15,10 de 21,76	4,09 a	8,63 fg	72,07 bc
0.06M Askorbik Asit	79,25 bcde 63,13	61,00 cd 51,44	2,88 ab 9,45	5,67 bc	9,76 bcd	66,54 ab
6 sa Hidrasyon	30,25 i 33,32	10,00 f 18,43	32,15 f 34,50	6,54 cd	7,10 i	195,66 h
12 sa Hidrasyon	57,00 hi 49,10	19,00 f 25,85	22,20 e 27,97	5,61 bc	8,36 gh	189,79 h
18 sa Hidrasyon	72,25 defg 58,47	44,50 e 41,86	10,63 cd 19,00	5,99 bc	9,11 ef	169,23 g
24 sa Hidrasyon	75,75 cdef 60,96	47,50 de 43,56	7,22 bc 15,28	5,85 bc	9,26 de	145,31 f
Kontrol	79,50 bcd 63,41	66,00 bc 54,84	14,67 de 22,21	6,12 bcd	9,83 abc	172,73 g

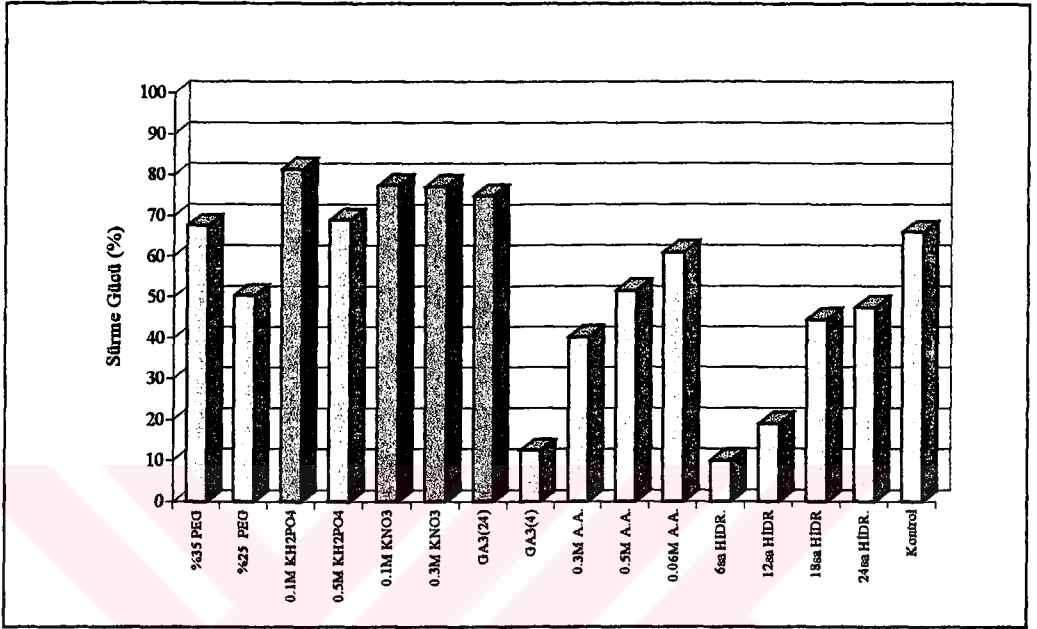
* İtalik yazılı değerler açılma transformasyon değerleri



Şekil 4.1 Yaşlanma öncesi uygulamaların çimlenme gücü üzerine etkileri

Hidrasyon uygulamalarında artan hidrasyon süresiyle çimlenme gücü de artmış ancak bu artış yaşlanmayı geciktirmede kontrole nazaran istatistiki olarak etkili olmamıştır (Çizelge 4.1).

Diğer parametre olarak fide oluşum oranını ele aldığımızda; kontrole göre istatistiki önemde iyi performans gösteren uygulama %81.5 fide oluşum oranı ile 0.1M KH₂PO₄ uygulaması olmuştur (Şekil 4.2). Bu uygulamayı sırasıyla 0.1M ve 0.3M KNO₃ (%77.5 ve 77.3) ve 24 saat giberellik asit (%75), uygulamaları izlemiştir. Ancak bu uygulamalar fide oluşum oranını kontrole göre istatistiki önemde arttırmamışlardır. 0.3 ve 0.5M askorbik asit, 4 saat GA₃ ve %25'lik PEG uygulamaları ile hidrasyon uygulamaları kontrole kıyasla fide oluşum oranını önemli derecede azaltarak olumsuz etkide bulunmuştur (Çizelge 4.1).



Şekil 4.2 Yaşlanma öncesi uygulamaların fide oluşum oranına etkileri

Anormal fide oranı açısından incelediğimizde (Çizelge 4.1) yaşlanma öncesi 0.1M K₂HPO₄ (%3.05), 0.06M askorbik asit (%2.88), 0.3M ve 0.1M KNO₃ (%3.77 ve %4.1) uygulamaları anormal fide oluşumunu kontrole nazaran istatistiki önemde azaltmıştır. Bu uygulamaların yanı sıra 24 saat hidrasyon (%7.22) ve 0.5M K₂HPO₄ (%7.32) uygulamalarında da kontrole göre anormal fide oranı azdır. Buna karşın sırasıyla %32.15 ve %40.45'lik oranlarıyla 6 saat hidrasyon ile 4 saat GA₃ uygulamaları kontrole kıyasla anormal fide oranını istatistiki önemde artırmıştır.

Ortalama çimlenme zamanı ise 0.1 ve 0.5 K₂HPO₄ (4.37 ve 3.93 gün), 0.1M KNO₃ (4.63 gün) ile 0.3M ve 0.5M askorbik asit (4.57 ve 4.08 gün) uygulamalarıyla kontrole (6.12 gün) nazaran istatistiki önemde azalmıştır. 4 saatlik giberelik asit ve her iki PEG dozu (%35 ve %25) ise sırasıyla 9.61, 10.31 ve 11.05 değerleriyle çimlenmeyi önemli oranda geciktirmiştir (Çizelge 4.1).

Fide boyu bakımından uygulamaların hiçbirisi kontrol grubunu geçememiştir. Ancak her iki dozdaki KH_2PO_4 ve KNO_3 tuzları, 0.06 M'lık askorbik asit ve 24 saat GA_3 uygulamaları kontrol ile aynı grupta yer almıştır. Tüm hidrasyon ve PEG uygulamaları kontrolün altında değerlere sahip olmuştur (Çizelge 4.1).

Yaşlanma nedeniyle bozulan hücre membranı geçirgenliği sonucu tohumdan madde sızıntısı artmaktadır. Hücre membranındaki bu bozulma da tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğini ölçmek suretiyle belirlenebilmektedir. Bu açıdan yapılan analiz sonuçlarına baktığımızda 6 ve 12 saat hidrasyon uygulamaları dışındaki tüm uygulamalarda tohumdan sızan madde miktarı kontrol grubuna göre önemli oranda az bulunmuştur. Bu bakımdan uygulamalar içerisinde %35 ve 0.3M askorbik asit uygulamaları ilk grubu oluşturmuştur. Kontrol grubu tohumlardan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 172.73 mMhos iken %35 PEG uygulamasıyla 62.76 mMhos'a, 0.3M askorbik asit uygulamasıyla 64.16 mMhos'a düşmüştür (Çizelge 4.1).

4.1.2. Yaşlanma sonrası uygulama etkinlikleri

Tohumlara 3.2.4.3'te açıklandığı şekilde kontrollü yaşlandırmaya tabi tutulduktan sonra Çizelge 3.1'de belirtilen uygulamalar yapılmıştır. Yaşlandırma sonrası tohumlara yapılan bu uygulamaların etkinlikleri, çimlenme gücü, fide oluşum oranı, anormal fide oranı, ortalama çimlenme zamanı, fide boyu ve tohumdan oluşan sızıntı kayıpları belirlenmek suretiyle karşılaştırılmıştır.

Kontrollü yaşlandırma sonrası yapılan tohum uygulamalarının etkileri Çizelge 4.2'de görülmektedir.

Kontrollü yaşlandırma sonrası yapılan uygulamalardan hiçbirisi kontrole nazaran tohumların çimlenme ve fide oluşum oranını arttırmada, anormal fide oluşumunu azaltmada ve fide boyunu arttırmada istatistiki önemde etkili olmamıştır.

Yaşlandırma sonrası uygulamalardan 0.5M KH_2PO_4 uygulaması kontrole göre ortalama çimlenme zamanını önemli derecede azaltarak

çimlenmeyi hızlandırmıştır. Kontrol grubu tohumun ortalama çimlenme zamanı 6.12 gün iken 0.5M KH_2PO_4 uygulamasıyla 4.38 güne azalmıştır.

Tohumdan elektrolit sızıntısı bakımından ise 0.3M KNO_3 , 6 ve 24 saat hidrasyon uygulamaları dışındaki tüm uygulamalar kontrole kıyasla tohumdan madde sızıntısını istatistiki önemde azaltmışlardır. Tohumdan elektrolit sızıntısını azaltmada ilk sırada yer alan uygulamalar, %35 ve %25 PEG uygulamalarıdır. Kontrollü yaşlandırma sonrası tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 172.73 mMHos iken %35 PEG uygulamasıyla 63.16 mMHos'a, %25 PEG uygulamasıyla da 64.91 mMHos'a düşmüştür (Çizelge 4.2). Bu azalmayı 48 saat GA3 (75.64 mMHos) ve 24 saat GA3 (76.11) uygulamaları izlemiştir.

Çizelge 4. 2 Yaşlanma sonrası uygulamaların etkileri

Yaşlanma Sonrası Uygulamalar	Çimlenme Gücü* (%)	KFOO* (%)	Anormal Fide Oranı* (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)	Fide Boyu (cm)	Elektriki İletkenlik (mMhos/g)
%35 PEG	49,25 d 44,59	38,00 f 38,03	25,20 bcd 30,15	8,98 f	7,32 h	63,16 a
%25 PEG	57,00 d 49,09	40,75 ef 39,69	25,20 bcd 30,15	9,04 f	7,53 gh	64,91 a
0.1M KH ₂ PO ₄	67,00 c 54,99	44,75 def 42,01	20,43 bc 26,86	5,11 ab	9,27 bcd	113,31 d
0.5M KH ₂ PO ₄	71,00 bc 57,53	56,00 c 48,48	14,40 ab 22,10	4,38 a	9,36 abc	133,32 e
0.1M KNO ₃	76,00 ab 60,77	57,50 bc 49,36	11,78 ab 20,01	5,12 ab	9,55 abc	118,83 d
0.3M KNO ₃	70,50 bc 57,14	57,50 bc 49,34	6,83 a 14,92	5,41 abc	10,21 a	194,22 ı
24 sa GA ₃	82,25 a 65,25	65,75 ab 54,25	11,98 ab 20,24	6,47 cde	9,87 ab	76,11 b
4 sa GA ₃	79,58 ab 63,32	53,92 cd 47,32	21,97 bcd 27,74	6,18 bcde	9,36 cde	90,37 c
48 sa GA ₃	71,00 bc 57,54	49,75 cde 44,88	17,33 ab 24,40	6,56 cde	9,82 ab	75,64 b
0.06M Askorbik Asit	22,00 ef 27,95	7,25 g 15,09	39,98 de 38,33	5,72 bcd	8,34 ef	121,67 d
6 sa Hidrasyon	16,00 f 23,57	8,25 g 16,55	40,58 de 39,49	6,94 e	7,97 fgh	167,30 g
12 sa Hidrasyon	20,75 ef 26,94	9,00 g 17,28	45,50 e 42,42	5,63 bcd	8,06 fg	141,64 e
18 sa Hidrasyon	20,75 ef 26,96	7,00 g 15,35	45,13 e 42,15	6,63 de	8,94 cde	154,54 f
24 sa Hidrasyon	27,50 e 31,57	9,75 g 17,94	33,88 cde 35,27	7,11 e	8,80 de	179,55 h
Kontrol	79,50 a 63,41	66,25 a 54,84	14,68 ab 22,21	6,12 bcde	9,83 ab	172,73 gh

* İtalik yazılı değerler açısıl transformasyon değerleri

4.1.3. Deneme 1 bulgularının değerlendirilmesi

Yaşlanmayı geciktirmek veya yaşlanma sırasında oluşan zararlanmaları iyileştirmek amacıyla kontrollü yaşlandırma öncesi ve sonrası soğan tohumlarına uyguladığımız uygulamaların etkileri Çizelge 4.1 ve 4.2’de görülmektedir. Çimlenme ve fide oluşum oranı, anormal fide oluşumu, ortalama çimlenme zamanı, tohumdan sızan maddelerin elektriki geçirgenliği ve fide boyundaki farklılıkları kıyaslamak suretiyle yaptığımız değerlendirmeler sonunda yaşlandırma öncesi tohumlara yaptığımız uygulamalardan bazısının kontrole nazaran istatistiki önemde yaşlanmayı kontrol edebildiği belirlenmiştir. Buna karşın yaşlandırma sonrası uygulamalardan hiçbirisi incelenen parametreler bakımından kontrol grubunu istatistiki önemde geçemeyerek yaşlanmayla oluşan zararlanmaları iyileştirmede etkisiz kalmışlardır.

Yaşlanmayı kontrol edebilmek amacıyla soğan tohumlarına yaptığımız uygulamalardan, yaşlanma öncesi uygulamaların yaşlanma sonrası yapılan uygulamalara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Dearman et al. (1986) da soğan tohumlarına yaşlanma öncesi ön uygulamaların canlılık kaybını geciktirmesine karşın, yaşlanma sonrası ön uygulamaların canlılık üzerine olumlu etkisi olmadığını belirlemiştir. Benzer şekilde biber tohumlarına depolama öncesi osmotik olarak ön uygulamaların, zararlanma hızını azaltarak yaşlanmayı geciktirici etkiye sahip olduğu; buna karşın depolama sonrası uygulamaların yaşlanmayı geriye döndürücü etkisinin depolama süresiyle azaldığı saptanmış ve tohum depolanmasında depolama öncesi uygulamaların pratik ve vigoru arttırmada etkili olduğu belirtilmiştir (Thanos et al., 1989).

Soğan tohumlarına depolama sonrası ön uygulamaların, yaşlanmayla artan membran bütünlüğünün bozulmasını iyileştirerek tohumdan madde kaybını azalttığı (Pandey, 1989); lipid peroksidasyonu ve membran zararını azaltarak yaşlanmayla oluşan zararlanmaların iyileştirildiği (Basra and Malik, 1994) saptanmıştır. Çalışmamızda da kontrollü yaşlandırma sonrası uygulamalardan bazısının kontrole nazaran tohumdan madde azalttığı belirlenmesine karşın bu uygulamaların aynı zamanda çimlenme ve fide oluşum oranındaki kayıpları, anormal fide oluşumunu arttırdığı; çimlenme hızını azaltarak fide boyunu azalttığı ve böylece yaşlanmayla oluşan zararlanmaları daha da arttırdığı saptanmıştır. Bunun muhtemel nedeni Clarke and James’in (1991) de belirttiği gibi

hızlandırılmış yaşlanmanın endosperm hücrelerinde kötü etkide bulunması ve yaşlanma sonrası ön uygulamanın nükleik asitlerde parçalanmalara yol açarak bu zararlanmaları arttırması olabilir.

Tohumlara yaşlanma öncesi yapılan uygulamaların, yaşlanma sonrası uygulamalara göre yaşlanmayı daha iyi kontrol edebildiği belirlendikten sonra yaşlanma öncesi uygulamalardan hangisinin yaşlanmayı geciktirmede en etkili olduğunun seçimi yapılmıştır. Bu amaçla uygulama etkinliklerinin kıyaslanmasında kullanılan parametrelere 'Principal Component' esasına göre faktör analizi uygulanmıştır. Genellikle çok sayıda bitki özelliğinin incelendiği ıslah çalışmalarında kullanılan 'Multivariate' analizlerden faktör analizi ile çok sayıda özellikten birbirine yakın olanlar bir arada toplanarak incelenen özelliklerin sayısı azaltılmaktadır (Yıldırım ve ark., 1989).

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi ölçülen parametreler tek tek incelendiğinde yaşlanma öncesi tohumlara uygulanan yöntemlerden en etkili olanının belirlenmesi oldukça zordur. Bu nedenle ölçülen parametreler birbirleriyle ilişkilerine göre faktör analizi uygulanarak gruplandırılmışlardır.

Yaşlanma öncesi uygulamalara ait parametrelerin oluşturduğu faktörler, varyasyon oranlarına göre Çizelge 4.3'te verilmiştir. Faktörlerin varyasyon %'si, o faktör grubundan bir parametreye göre seçim yapıldığında toplam varyasyonunun yüzde kaçının temsil edildiğini gösterir. Faktör analizi ile varyabilitenin tümünü temsil eden parametreler 6 faktör altında toplanmıştır. Faktörler azaltılırken, varyabilitenin diğer ifadesi olan öz değeri 1'in üzerinde olanların alınması önerilmektedir (Yıldırım ve ark., 1989). Denememizde de 1'in üzerinde öz değere sahip faktörler dikkate alındığında parametreler iki faktör altında toplanmıştır. Seçilen bu iki faktör yaşlanma öncesi tohum uygulamalarında toplam varyasyonun %79.8'ini temsil etmektedir. Faktör analizi ile incelenen parametre sayısında azaltma yapılırken gözlenen toplam varyabilitede belli bir kaybın olması kabul edilebilmektedir.

Çizelge 4.3 Yaşlanma öncesi uygulamalara ait parametrelerin faktör analizine göre faktörlerin varyasyon oranı.

Faktör	Öz Değeri	Varyasyon (%)	Toplam Varyasyon (%)
1	3.63886	60.6	60.6
2	1.15127	19.2	79.8
3	0.55587	9.3	89.1
4	0.33387	5.6	94.7
5	0.20944	3.5	98.2
6	0.11068	1.8	100.0

Çizelge 4.4 Yaşlanma öncesi uygulamalarda döndürülmüş faktör matrisine göre parametrelerin gruplandırılması ve ortaklık unsurları.

Parametreler	Ortaklık Unsurları	1.Faktör katsayısı	2.Faktör katsayısı
1.Faktör			
Çimlenme zamanı	0.74221	- 0.83649	0.20614
Fide boyu	0.70731	0.76447	0.35057
Çimlenme gücü	0.84568	0.69099	0.60680
Anormal fide	0.81086	- 0.66881	- 0.60296
2. Faktör			
KFOO	0.90221	0.53288	0.78629
Elektriki iletkenlik	0.78185	0.11199	- 0.87710

Denemede incelenen parametrelerin gruplandırılması Çizelge 4.4'te görülmektedir. Parametrelerin korelasyon katsayılarından 'faktör grupları' oluşturularak, birbiriyle ilişkili olan karakterler aynı faktör grubunda yer almıştır. Çizelge 4.5'de görülen korelasyon matrisinden hesaplanarak elde edilen 'faktör katsayılarına' göre parametreler

gruplandırılmıştır. Faktör katsayıları değerleri 'döndürülmüş faktör matriksi'nden alınmıştır.

Yaşlanma öncesi uygulamalara ait denemede toplam varyasyonun %60.6'sını temsil eden 1. faktörde yer alan parametreler ortalama çimlenme zamanı, fide boyu, çimlenme gücü ve anormal fide oranı olmuştur. Fide oluşum oranı ve tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği toplam varyasyonun %19.2'sini temsil ederek 2. faktör grubunu oluşturmuştur.

Bir faktör grubu içerisinde yer alan parametrelerden birinin diğerlerini temsil edebilme yeteneğini gösteren 'ortaklık unsuru' değerlerine baktığımızda (Çizelge 4.4); yaşlanma öncesi uygulamalarda 1. faktörde yer alan çimlenme gücünün aynı faktör grubunda yer alan diğer parametreleri daha iyi temsil ettiğini belirtebiliriz. Faktör gruplarında yer alan parametrelerin birbiriyle olan ilişkilerine baktığımızda (Çizelge 4.5); çimlenme gücünün, anormal fide oranı ($r=0.79$), fide boyu ($r=0.69$) ve ortalama çimlenme zamanı ($r=0.39$) ile istatistiki önemde ($p<0.01$) ilişkisi vardır. Diğer parametreler arası ilişkiler de istatistiki önemde bulunmuştur. 2. faktör grubunda ise yüksek ortaklık unsuruna sahip fide oluşum oranı, elektriki iletkenlik ($r=-0.55$) ile istatistiki önemde ilişkilidir. Bu faktör grubunda fide oluşum oranını belirlemek suretiyle tohumdan sızan madde miktarını da tahmin edebilmekteyiz. Ayrıca fide oluşum oranının çimlenme gücü ($r=0.85$) ve anormal fide oranı ($r=-0.80$) ile de yüksek düzeyde ilişkisi vardır.

Parametrelerin birbirleriyle olan ilişkileri ve faktör grubunu temsil edebilme yetenekleri dikkate alındığında yaşlanma öncesi uygulamaların seçiminde 1. faktörden çimlenme gücü ile 2. faktör grubundan fide oluşum oranı parametrelerinin incelenmesinin yeterli olabileceğini belirtebiliriz.

Çizelge 4.5 Yaşlanma öncesi uygulamalarda parametrelerin korelasyon matrisi.

	An. fide	Çim. gücü	Çim. zamanı	Elt. iletkenlik	Fide boyu	KFOO
An. fide	1.0000					
Çim. gücü	-0.7888*	1.0000				
Çim. zamanı	0.4165*	-0.3927*	1.0000			
Elt. iletkenlik	0.4128*	-0.3777*	-0.0600	1.0000		
Fide boyu	-0.6294*	0.6864*	-0.4181*	-0.1783	1.0000	
KFOO	-0.7982*	0.8508*	-0.2391	-0.5532*	0.6755*	1.0000

* 0.01 önem düzeyinde

Faktör analizinden elde edilen sonuçlara göre çimlenme ve fide oluşum oranındaki farklılıklar incelenmek suretiyle yaşlanma öncesi uygulamalardan yaşlanmayı geciktirmede en etkili uygulamaların 0.1M KNO₃ ve 0.1M KH₂PO₄ uygulamaları olduğu saptanmıştır. Bu uygulamalardan 0.1M KNO₃ uygulaması, tohumların çimlenme gücünü kontrollü yaşlandırma testine kıyasla %79.5'ten %90.5'e ; 0.1M KH₂PO₄ uygulaması da %88'e yükseltmiştir. Fide oluşum oranındaki değişim bakımından incelediğimizde 0.1M KNO₃ uygulamasının tohumların fide oluşum oranını %66'dan %77.5'a, ; 0.1M KH₂PO₄ uygulamasının ise %81.5'a yükselttiği belirlenmiştir. Çimlenme ve fide oluşum oranındaki olumlu etkileri yanı sıra bu uygulamaların, kontrollü yaşlanma testindekilere göre anormal fide oluşumunu önemli oranda azalttığı, ortalama çimlenme zamanını azaltarak tohumların çimlenme hızını arttırdığı ve tohumdan madde sızıntısını azalttığı da belirlenerek yaşlanmayla oluşan canlılık ve vigor kayıplarını büyük oranda geciktirdiklerini belirtebiliriz.

Tohumlarda yaşlanmayla oluşan zararlanmaların iyileştirmek veya geciktirmek amacıyla tohumlara farklı osmotik ve tuz solüsyonları ile büyüme düzenleyiciler uyguladığımız deneme sonucunda, yaşlanma öncesi uygulamaların yaşlanma sonrası uygulamalara nazaran canlılık ve vigor kayıplarını azalttığı belirlenmiştir.

Yaşlanma öncesi uygulamalardan da en etkili uygulamanın belirlenmesi için yapılan faktör analizi sonucunda seçim, incelenen parametrelerden çimlenme ve fide oluşum oranına göre yapılmıştır. Bu parametreler dikkate alınarak tohumların yaşlanma öncesi 0.1M KNO₃ veya 0.1M KH₂PO₄ ile uygulanmalarının, çimlenme ve fide oluşum oranını arttırmanın yanı sıra çimlenme hızını artırarak, tohumdan sızan metabolitleri azaltarak ve anormal fide oluşumunu azaltarak yaşlanmayı geciktirdiği saptanmıştır.

Bu deneme sonucunda yaşlanmayı geciktirmede etkili olduğu belirlenen 0.1M KNO₃ ve 0.1M KH₂PO₄ uygulamalarının, deneme 3'te kullanılmaları uygun görülerek farklı depolama koşullarında ve sürelerinde bunların yaşlanmayı geciktirmedeki etkileri incelenmiştir.

4.2. Soğan Tohumlarında Yaşlanmayla Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesine Yönelik Deneme (Deneme 2) Bulguları

Bu denemede 3 farklı tohum nemine sahip soğan tohumları iki farklı sıcaklıkta yaklaşık 1 yıl süre ile depolanmışlar ve 2-3 ay aralarla alınan tohum örneklerinde değişik metabolik parametreler belirlenerek yaşlanmanın seyri incelenmiştir. İki yıl gerçekleştirilen bu çalışmada tohum örneklerinde çimlenme gücü ve fide oluşturma oranı yanısıra tohumdan sızan madde miktarındaki değişimler, tohumun protein, yağ ve yağ asidi içeriğindeki değişimler incelenmiştir. Ayrıca, depolama sonunda (15 ay) depolama koşullarına bağlı olarak oluşabilecek genom zararlanmasını belirlemek için kök ucu anafaz hücrelerindeki kromozom anormallikleri gözlenmiştir. Her yıl sonuçları kendi içinde istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

4.2.1. Canlılık ve vigordaki değişimler

Bir çok araştırmada yaşlanmayla beraber tohumların canlılıklarını kaybettikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak tohumların canlılık ve vigorunda meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla tohumların çimlenme gücü, optimum ve

stres koşullarında sürme gücü ile fide özelliklerindeki değişimleri incelenmiştir.

4.2.1.1. Çimlenme gücündeki değişimler

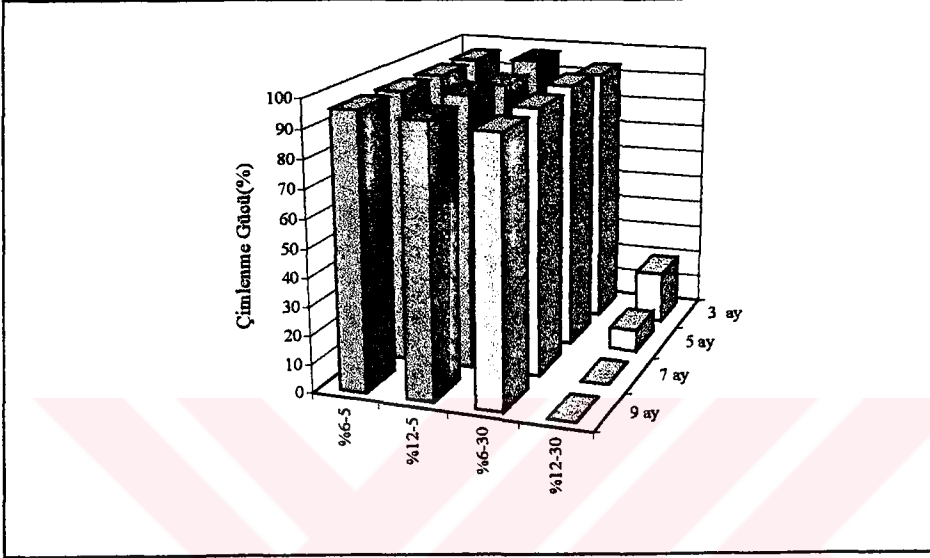
Her iki yılda da depolama koşullarındaki farklılık, depolama süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişimi önemli ($p<0.01$) olarak etkilemiştir.

1. yılda 9 aylık depolama sırasında 5°C 'de %6 ve 12 tohum nemi ile 30°C 'de %6 tohum neminde depolama koşullarında çimlenme gücünde önemli bir azalma olmamıştır. Depolama süresince 30°C 'de %6 nem içeriğindeki tohumların çimlenme gücü, 5°C 'dekilere nazaran daha düşük olmakla birlikte bu azalma önemli bulunmamıştır. Buna karşın uzayan depolama süresiyle canlılık kaybının en fazla 30°C 'de %12 tohum neminde depolanan tohumlarda olduğu görülmüştür. 30°C 'de %12 tohum nemindekilerde çimlenme gücü 3 aylık depolama periyodunda %95.5'tan %18.5'a, 5 aylık depolama periyodunda %7.75'e düşmüş ve 5. aydan sonra canlılığını kaybetmiştir (Çizelge 4.6; Şekil 4.3).

Çizelge 4.6 1.yıl denemesinde depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki (%) değişim.

SICAKLIK	5°C		30°C	
NEM AYLAR	%6	%12	%6	%12
3	95.60 a <i>78.13*</i>	96.75 a <i>79.75</i>	93.00 a <i>74.79</i>	18.50 b <i>24.70</i>
5	95.50 a <i>78.29</i>	93.50 a <i>76.20</i>	95.00 a <i>77.45</i>	7.75 c <i>15.45</i>
7	96.00 a <i>78.72</i>	96.25 a <i>79.58</i>	93.75 a <i>75.87</i>	0 d <i>0.0</i>
9	96.25 a <i>78.94</i>	94.75 a <i>79.89</i>	92.75 a <i>74.5</i>	0 d <i>0.0</i>

* *italik rakamlar açısal transformasyon değerleridir.*



Şekil 4.3 1. yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişim.

1. yıl denemede depolama sıcaklığına bağlı olarak tohum nemindeki değişimin, canlılık kaybını daha fazla etkilediği görülerek 2. yılda tohum neminin canlılık kaybı üzerine olan etkisini daha belirginleştirmek amacıyla %6 ve 12 tohum nemine ilave olarak tohumlar %9 nem içeriğinde depolanmıştır. Özellikle canlılık kaybının daha az görüldüğü depolama koşullarının, tohum yaşlanması üzerine etkilerini saptamak için depolama süresi 11 aya uzatılmıştır.

2. yıl denemesinde de 5°C'de her üç tohum neminde 11 aylık depolama periyodunda çimlenme gücünde önemli değişimler olmamıştır. 30°C'de %6 tohum nemindekilerde 1. yıldan farklı olarak depolamanın 8. ayından itibaren çimlenme gücü, başlangıç canlılık değeri olan %96'dan %78'e düşerek önemli oranda canlılık kaybı meydana gelmiştir. 30°C'de %9 nemde depolanan tohumlarda 2.5 aylık depolama periyodunda çimlenme gücünün %96'dan %83'e, 5. ayda %78'e, 8. ayda

%44.5'a ve 11. ayda ise %4'e düştüğü belirlenmiştir. 30°C'de %12 tohum neminde ise 2.5 aylık depolama sırasında çimlenme gücünün %1'e düştüğü ve canlılıklarını hızla kaybettikleri görülmüştür (Çizelge 4.7; Şekil 4.4).

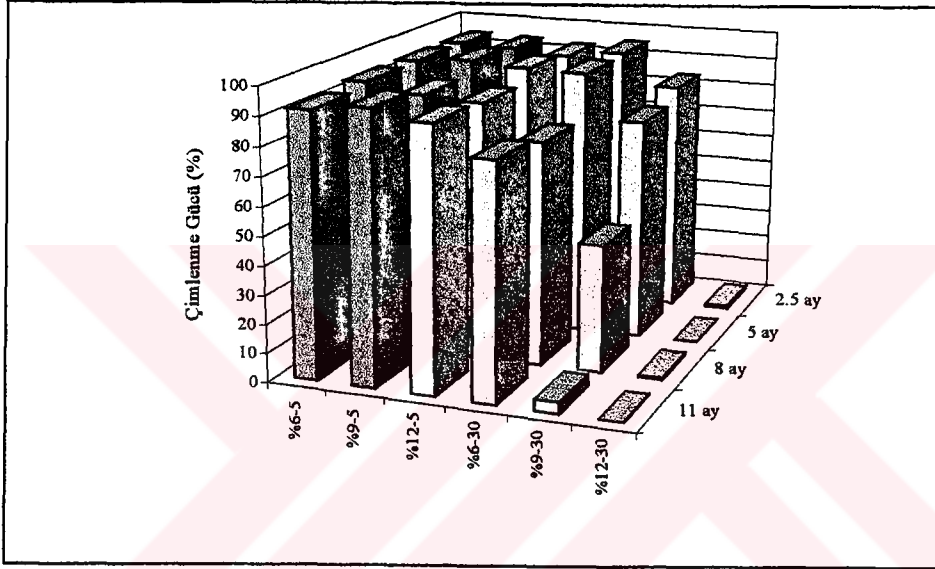
Çizelge 4.7 2.Yıl denemesinde depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişim.

SICAKLIK	5°C			30°C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	93.75 ab 75.72*	93.25 ab 75.01	92.00 ab 73.81	94.50 ab 76.84	83.00 c 65.80	1.00 f 3.93
5	94.00 ab 76.16	95.50 a 77.86	94.25 ab 76.20	94.00 ab 76.06	78.25 c 63.02	0 f 0.0
8	93.75 ab 75.61	90.75 ab 72.63	80.75 b 71.34	78.25 c 62.36	44.50 d 41.86	0.75 f 3.47
11	92.00 ab 74.33	94.25 ab 76.56	91.00 ab 72.59	81.25 c 64.41	4.00 e 11.31	0 f 0.0

* *italik rakamlar açısal transformasyon değerleridir.*

Her iki yıl denemesinde de depolama süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki azalmada en büyük etkinin depolama sıcaklığındaki değişimden kaynaklandığını belirtebiliriz. Depolama süresine bağlı olarak depolama sıcaklığı ve tohum nemi yükseldikçe çimlenme gücü azalmakta ve dolayısıyla canlılık kaybı önemli olarak artmaktadır (Şekil 4.3 ve 4.4). Thanos et al.(1989) 3 yıl süreli depolanan biber tohumlarında 5°C'de depolananlarda çimlenme gücünün koruduğunu buna karşın 25°C'de depolananlarda önemli canlılık kayıplarının olduğunu saptamışlardır. Styer et al. (1987) da farklı sıcaklıkta ve farklı nem içeriklerinde 10 ay depoladıkları soğan tohumlarında sıcaklık ve tohum neminin artmasıyla canlılık kaybının arttığını ve 5°C'de %5 nemdeki tohumlarda depolama süresince canlılık ve fide vigorunun en yüksek değerlerde olduğunu belirlemişlerdir. Bu denemede de soğan tohumlarının bir yıl süreli

depolanmasında optimum depolama koşullarının, 5°C'de %9 tohum nemini takiben %6 ve 12 tohum nemi; 30°C'de ise %6 tohum nemi olduğunu belirtebiliriz.



Şekil 4.4 2. yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak çimlenme gücündeki değişim.

4.2.1.2. Tetrazolium testi ile tohum canlılığındaki değişim

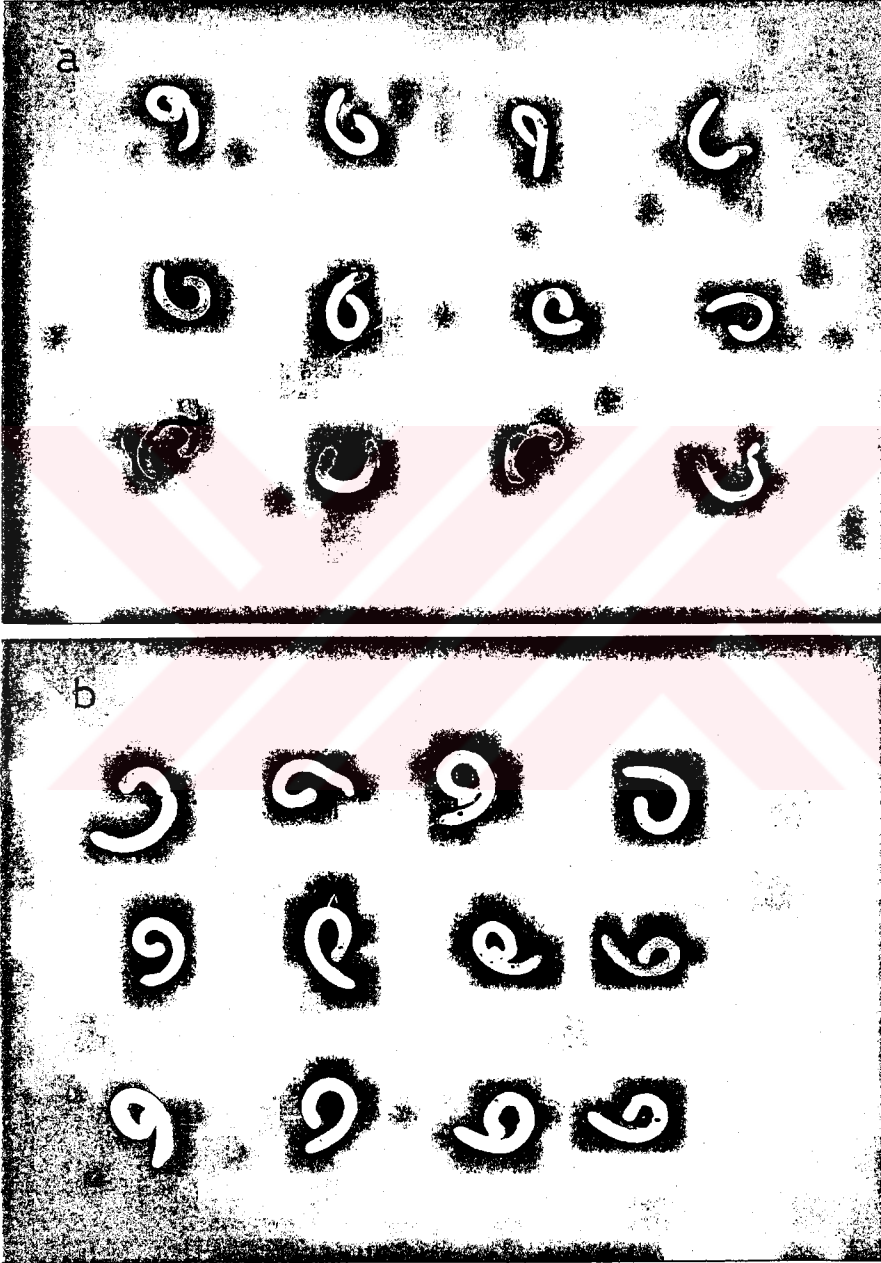
Çimlenme gücüne bağlı olarak canlılık kaybının belirlenmesi yanısıra çimlenme kaybının görüldüğü depolama süresinde tohumlara tetrazolium testi uygulanarak canlılık kaybının embriyonun hangi dokularında başladığı da incelenmiştir.

Şekil 4.5'te her iki yıl denemesinde 30°C'de %12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda embriyoların tamamen canlılıklarını kaybetmeleri nedeniyle tetrazolium ile boyanmadığı görülmektedir. 1. yıl denemesinde 30°C'de %12 tohum nemindekilerde büyük oranda canlılık kaybının

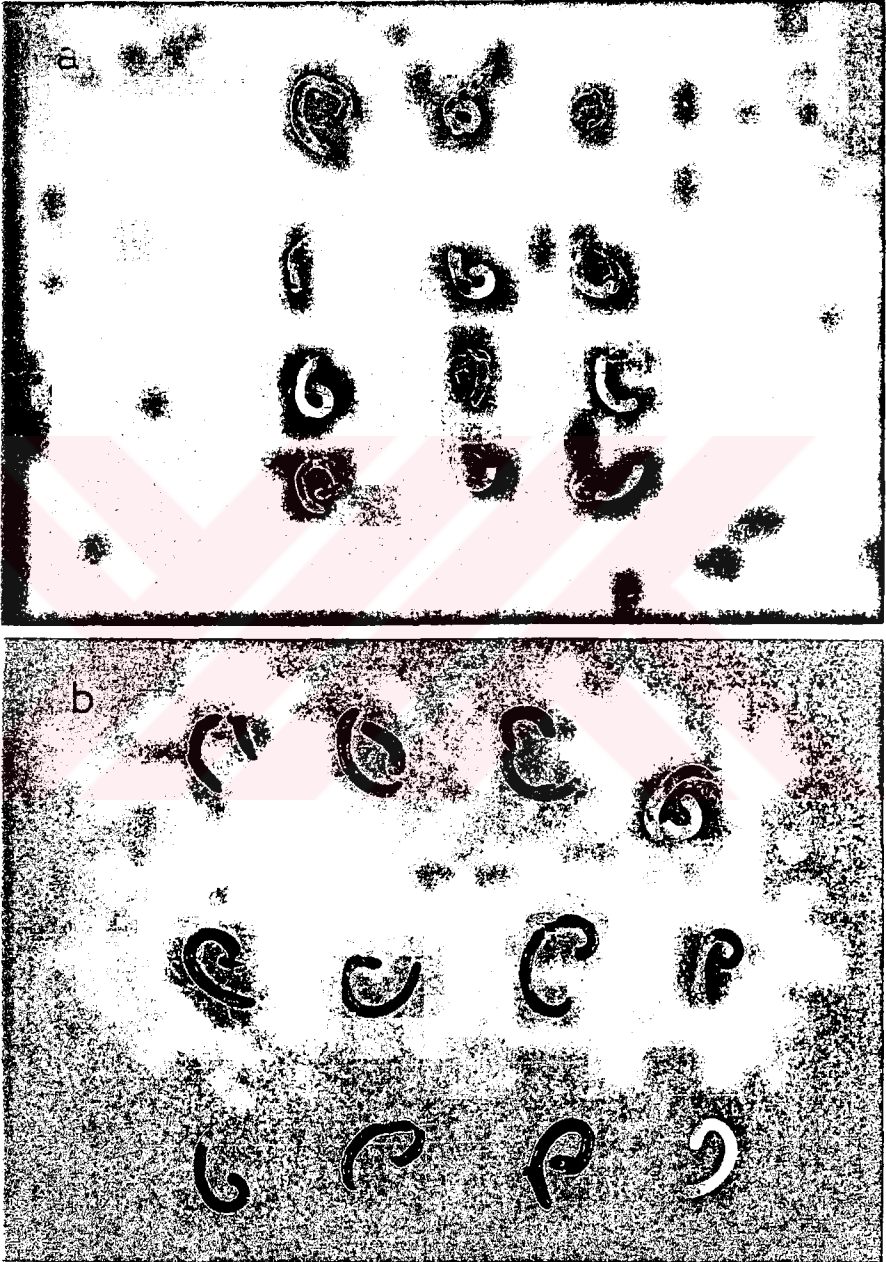
görüldüğü 3 aylık depolama periyodunda, birkaç embriyonun tamamen boyandığı ki bunlarda da çimlenme gücünün olduğu görülmüştür. Bu denemede bir kaç embriyonun kökçük ve hipokotil bölgelerinde az miktarda boyanmaların olduğu görülmekle birlikte embriyonun çoğu kısmının canlılığını kaybetmesi nedeniyle çimlenme güçlerini kaybettiklerini belirtebiliriz (Şekil 4.5a). 2. yıl denemesinde ise aynı depolama koşullarındaki tohumlarda 2.5 aylık depolama periyodu sonrasında tüm embriyoların çimlenme güçlerini kaybettikleri belirlenmiştir (Şekil 4.5b).

30°C'de %6 tohum neminde 8 veya 9 ay depolananlarda tamamen boyanmış canlı embriyolar yanısıra canlılığını büyük oranda kaybetmiş kökçük veya hipokotili boyanmayan embriyolar ile canlılığını tamamen kaybetmiş embriyolar görülmüştür (Şekil 4.6). Burada kökçük bölgesinde boyanma olup hipokotil bölgesinde tamamen yada kısmen boyanma olmayan embriyoların çimlenebileceklerini ancak bitki oluşturamayacaklarını, bitki oluştursalar da bunun normal olamayacağını belirtebiliriz. Buna karşın kökçük bölgesinin az bir kısmının veya tamamının boyanmadığı embriyoların, hipokotil kısmı boyalı olsa bile tohumların çimlenme yeteneklerini tamamen kaybettiklerini veya anormal köklü bitkiler oluşturabileceklerini söyleyebiliriz. Nitekim bu depolama koşulundaki tohumların 2. yıl denemesinde çimlenme gücü %78.25, fide oluşturma oranı (PFOO) %59.25 olmuştur.

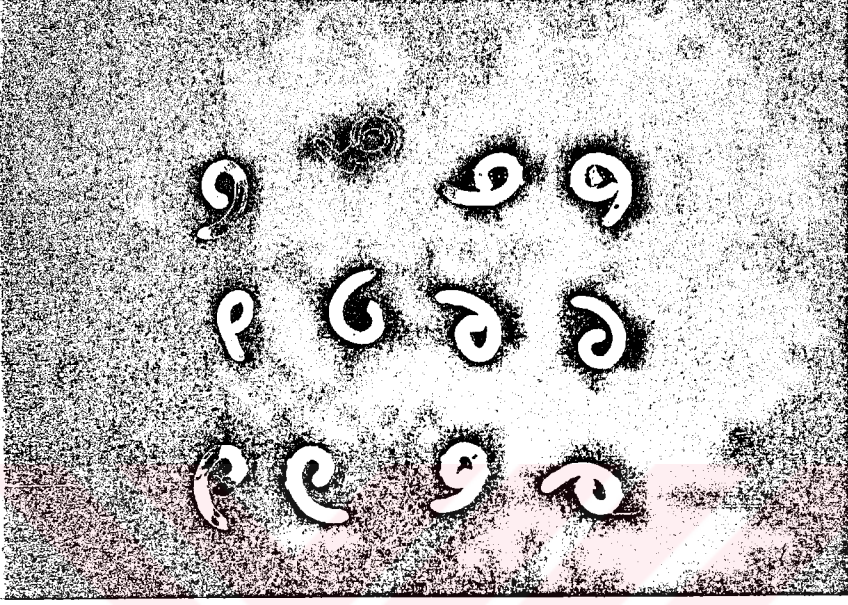
2.yıl denemesinde 8 aylık depolama periyodunda 30°C'de %9 tohum nemindekilerin embriyolarının çoğunun tamamen boyanmadığı ya da kısmen boyandığı bununla birlikte az sayıda embriyonun tamamen boyandığı görülmüştür (Şekil 4.7). Bu tohumların çimlenme gücü %44.5 olmasına karşın normal bitki oluşturabilme gücünün %29 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5 30°C'de %12 nemde depolanan tohum embriolarının canlılık durumu a) 1. yıl denemesi; b) 2.yıl denemesi.



Şekil 4.6 30°C'de %6 nemde depolanan tohum embriyolarının canlılık durumu a) 1.yıl denemesi; b) 2.yıl denemesi.

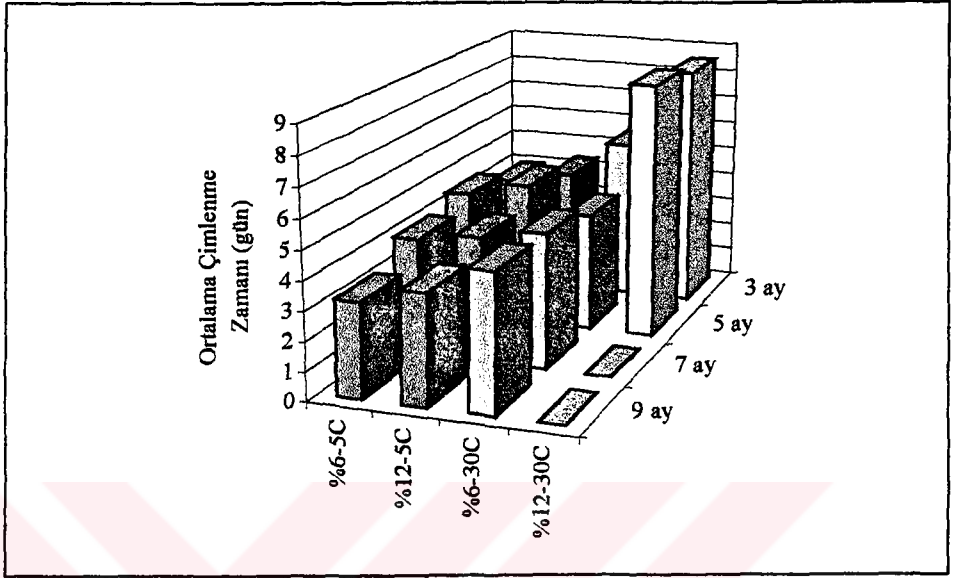


Şekil 4.7. %9 nem ve 30°C’de depolanan tohum embriyolarının canlılık durumu.

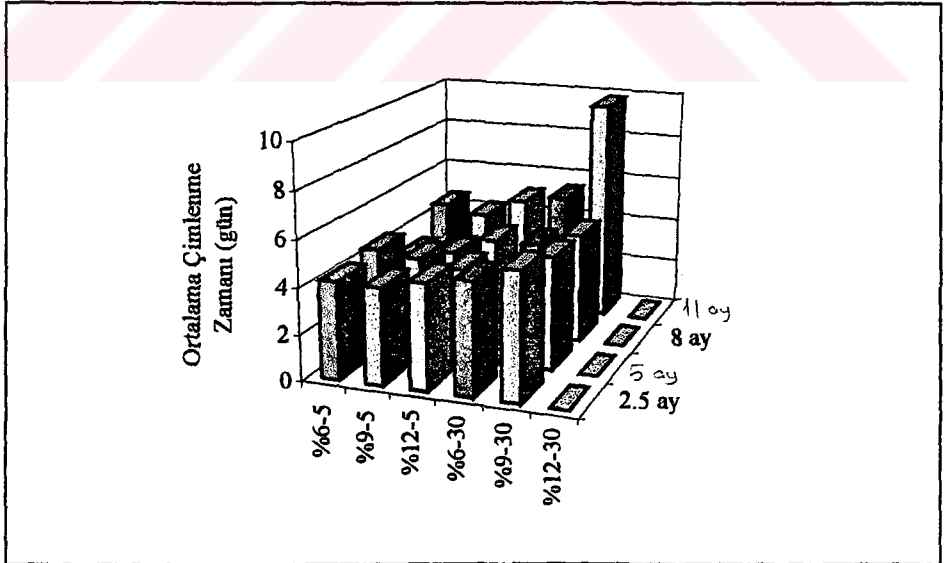
4.2.1.3. Ortalama çimlenme zamanındaki değişim

Denemelerde çimlenme testi sırasında ortalama çimlenme zamanı (gün) da hesaplanarak, depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak çimlenme hızında meydana gelen değişimler incelenmiştir.

Ortalama çimlenme zamanında depolama koşullarına ve süresine bağlı değişimler Şekil 4.8 ve 4.9’da görülmektedir.



Şekil 4.8 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki değişimi (1.yıl).



Şekil 4.9 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki değişimi (2.yıl).

Denemenin 1.yılında depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak ortalama çimlenme zamanında meydana gelen değişimler önemli olmazken, depolama sıcaklığı ve tohum nemindeki değişime göre ortalama çimlenme zamanında önemli farklılıklar olmuştur ($p<0.01$). Düşük tohum nemi ve düşük sıcaklıkta depolamayla ortalama çimlenme zamanı önemli oranda azalmıştır. Buna karşın tohum nemi ve depolama sıcaklığı yükseldikçe, ortalama çimlenme zamanı artmıştır. 5°C'de %6 nemde depolanan tohumların ortalama çimlenme zamanı 3.94 gün iken, %12 nemdekilerde 4.36 güne; 30°C'de %6 nem içeriğinde depolananlarda 4.79 güne ve %12 nemdekilerde de 8.7 güne çıkmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Depolama koşullarına bağlı olarak ortalama çimlenme zamanının (gün) değişimi.

		SICAKLIK	
	NEM	5 °C	30 °C
1.yıl	%6	3.94 a	4.79 b
	%12	4.36 ab	8.70 c
2.yıl	%6	4.12 a	4.57 a
	%9	4.02 a	6.43 b
	%12	4.44 a	*

* gözlem yapılamadı.

2. yıl denemesinde 30°C'de %9 ve 12 nem içeriğinde depolanan tohumların çimlenme gücündeki kayıplar nedeniyle ortalama çimlenme zamanının hesaplanamadığından, depolama süresine ve koşullarına bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki değişim istatistiki olarak değerlendirilememiştir. Ancak depolama koşullarındaki değişim ortalama çimlenme zamanını önemli olarak etkilemiştir ($p<0.01$).

2.yıl denemesinde de 1. yıl denemesinde olduğu gibi sıcaklık ve tohum nemi yükseldikçe çimlenme gecikmiştir. 5°C'de %9 nem içeriğinde depolanan tohumların ortalama çimlenme zamanı 4.02 gün ile en hızlı çimlenen grubu oluşturmaktadır. Bunu sırasıyla 5°C'de %6 ve 12

nemdeki tohumlar izlemektedir. Yüksek sıcaklıkta tohum neminin yükselmesiyle çimlenme hızı yavaşlamakla birlikte 30°C'de %6 nem içeriğindeki tohumların ortalama çimlenme zamanının 4.57 güne çıkması istatistiki önemde olmamıştır. Buna karşın 30°C'de %9 nem içeriğinde tohumların çimlenebildikleri dönemlere ait ortalama çimlenme zamanı değeri 6.43 güne uzamıştır (Çizelge 4.8).

Ortalama çimlenme zamanının uzaması çimlenmenin geç olduğunu belirtmesi yanı sıra çimlenmenin homojen olmadığını yani uzun bir periyoda yayılan heterojen çimlenmenin olduğunu da göstermektedir. Bunun sonucu olarak çimlenme sonrası fide büyümesinde farklılıkların olmasını beklemek şaşırtıcı olmaz. Özellikle, çimlenmede düşüşlerin görüldüğü yüksek sıcaklık ve yüksek nemde depolanan tohumlarda canlılık kaybının fazla olması ve bu koşullarda depolanan tohumların her birinin çimlenebilme yeteneği bakımından heterojenlik göstermesi nedeniyle çimlenme uzun bir periyoda yayılmış ve dolayısıyla ortalama çimlenme zamanı artmıştır.

4.2.1.4. Fide oluşum oranındaki değişimler (KFOO ve PFOO)

1. yıl denemesinde tohumların depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak fide oluşturabilme yeteneklerinde meydana gelen değişimin incelenmesi amacıyla tohumlar 20°C'de kum ortamına ekilmiş ve çıkış yapan normal görünümlü bitkiler % olarak belirlenerek kumda fide oluşum oranını (KFOO) oluşturmuştur. 2. yıl denemesinde ise fide oluşum oranında meydana gelen değişim, çimlenme testi sonunda normal bitki oluşturabilenlerin sayımı ile elde edilmiş ve petride fide oluşum oranı (PFOO) olarak belirtilmiştir.

Her iki yıl denemesinde de depolama süresinin uzamasıyla depolama koşullarına bağlı olarak fide oluşum oranında önemli değişimler meydana gelmiştir ($p < 0.01$).

1. yıl denemesinde tohumların depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak fide oluşum oranındaki (KFOO) değişimleri incelediğimizde, çimlenme gücünde belirlediğimiz değişimlere benzer bulgular elde ettiğimizi belirtebiliriz. Denemeler aynı sıcaklık koşulunda test edilmelerine rağmen KFOO'nı değerlerinin çimlenme gücü değerlerine

nazaran daha düşük olmasının, çimlenebilen her tohumun normal bir bitki oluşturmamasından kaynaklandığını ifade edebiliriz. Nitekim tetrazolium testi ile de aynı yargıya varmıştık. 5°C'de %6 ve 12 tohum nemi ile 30°C'de %6 nemde depolanan tohumlarda 9 aylık depolama sırasında KFOO'nında istatistiki olarak önemli bir kayıp olmamıştır. Buna karşın 30°C'de %12 tohum neminde depolananlarda ise KFOO'nı %92.5'tan 3 aylık depolamada %11'e, 5 aylık depolamada %0.5'e düşmüş ve KFOO'nını depolamanın 5. ayından itibaren tamamen kaybetmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak KFOO'ndaki (%) değişim (1. yıl denemesi).

SICAKLIK	5°C		30°C	
NEM AYLAR	%6	%12	%6	%12
3	91.50 a <i>73.12*</i>	93.00 a <i>74.85</i>	90.50 a <i>72.31</i>	11.50 b <i>18.89</i>
5	92.50 a <i>74.31</i>	89.25 a <i>71.11</i>	89.25 a <i>71.11</i>	0.50 c <i>2.03</i>
7	90.75 a <i>72.37</i>	91.00 a <i>72.65</i>	89.50 a <i>71.21</i>	0.00 d <i>0.0</i>
9	93.00 a <i>74.82</i>	90.00 a <i>71.65</i>	90.00 a <i>71.78</i>	0.00 d <i>0.0</i>

* *italik rakamlar açısal transformasyon değerleridir.*

Denemenin 2.yılında ise depolama süresinin artmasına bağlı olarak 5°C'de farklı nem içeriklerinde depolanan tohumların fide oluşum oranı (PFOO) 8 aylık depolamadan sonra istatistiki önemde azalmaya başlamıştır (Çizelge 4.10). 11 aylık depolama sonunda PFOO'nı %85'ten 5°C'de sırasıyla %9 nemdeki tohumlarda %78.75'e, %12 nemdekilerde %70'e ve %6 nemdekilerde %67.5'a düşmüştür. Buna karşın depolama süresinin uzamasına bağlı olarak 30°C'de tohum neminin artışıyla tohumların PFOO'nı çok hızlı olarak düşmüştür. 30°C'de %6 nemde depolanan tohumlarda 1.yıl denemesinde KFOO'nda azalma belirlenemezken 2.yıl denemesinde depolamanın 5. ayından itibaren

PFOO'nunda istatistiki önemde azalma olmuştur. 30 °C'de %9 tohum neminde depolananlarda ise 2.5 aylık depolama sonrasında PFOO'nı %74.5'a, 5 aylık depolamada %62'ye ve 8 aylık depolamada %29'a düşmüştür. 30 °C'de %12 nem içeriğindeki tohumlar, 1. yıl denemesinde 5 aylık depolama süresince KFOO'nı kaybederken, 2.yıl denemesinde 2.5 aylık depolamada PFOO'nı tamamen kaybetmişlerdir.

Genel olarak 2. yıl denemesindeki fide oluşum oranı değerlerinin 1.yıl denemesinden daha düşük olması, test süresince kullanılan ortamın farklı olmasından kaynaklanabilir. 1. yılda testte kum ortamının, 2.yılda ise kağıt ortamının kullanılmasının tohumun nemden yararlanma durumunu etkileyerek fide oluşum oranında değişimlere neden olabildiğini belirtebiliriz.

Çizelge 4.10 Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak PFOO'nındaki (%) değişim (2.yıl denemesi).

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM						
AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	81.00 ab <i>64.30*</i>	79.00 ab <i>62.82</i>	78.00 ab <i>62.14</i>	75.50 bc <i>60.42</i>	74.50 bcd <i>59.83</i>	0 h <i>0.0</i>
5	80.25 ab <i>63.69</i>	81.00 ab <i>64.22</i>	81.50 ab <i>64.59</i>	78.00 ab <i>62.07</i>	62.00 ef <i>52.13</i>	0 h <i>0.0</i>
8	83.50 a <i>66.10</i>	78.00 ab <i>61.91</i>	77.75 ab <i>61.87</i>	59.25 f <i>50.39</i>	29.00 g <i>41.86</i>	0 h <i>0.0</i>
11	67.50 de <i>55.37</i>	78.75 ab <i>62.62</i>	70.00 cde <i>56.84</i>	62.50 ef <i>52.38</i>	0.0 h <i>0.0</i>	0 h <i>0.0</i>

* *italik rakamlar açısal transformasyon değerleridir.*

4.2.1.5. Stres koşulunda sürme gücündeki değişimler

Yaşlanmayla tohumun vigorunda oluşabilecek kayıpları daha iyi belirginleştirmek amacıyla 2.yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumun düşük sıcaklıkta (10-12 °C) normal bitki oluşturabilme yeteneklerindeki değişimler incelenmiştir.

Farklı sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumların uzayan depolama süresiyle düşük sıcaklıkta sürme gücünde önemli ($p<0.01$) azalmalar olmuştur (Çizelge 4.11).

5°C'de %6, 9 ve 12 nem içeriğindeki tohumlarda depolamanın 5. ayından itibaren düşük sıcaklıkta sürme gücünde önemli azalmalar olmuştur. 5°C'de 11 aylık depolama sonrasında, düşük sıcaklıkta sürme gücünün %80'den %6 nemdeki tohumlarda %64'e, %9 nemdekilerde %69'a ve %12 nemdekilerde de %62'ye düştüğü belirlenmiştir. Ancak depolama süresince 5°C'de %6 ve %12 nem içeriğindeki tohumlara nazaran %9 nem içeriğindeki tohumlarda düşük sıcaklıkta sürme gücünün azalması dolayısıyla vigor kaybı daha yavaş olmuştur.

Düşük sıcaklıkta depolanmaya nazaran yüksek sıcaklıkta tohumların depolanması, düşük sıcaklıkta sürme gücünde daha büyük azalmalara neden olmuştur. 30°C'de her üç tohum neminde de depolamanın başlangıcında sürme gücünde önemli azalmalar belirlenmiştir. Düşük sıcaklıkta sürme gücünün %80'den 2.5 aylık depolama sonrası 30°C'de %6 nemdeki tohumlarda %62.5'a, %9 nemdekilerde %57.6'ya düştüğü, %12 nemdekilerde sürme gücünün tamamen kaybolduğu görülmüştür. Bu azalma, uzayan depolama süresine bağlı olarak yüksek sıcaklıkta nem içeriğinin artışıyla artmıştır. 30°C'de %6 nem içeriğindeki tohumların stres koşulunda sürme gücü 11 aylık depolama sonrası %45.6'ya düşerken, %9 nemdekilerde depolamanın 8 ayında %4'e, 11. ayında ise %0'a düşmüştür.

Düşük sıcaklıkta tohumların sürme gücünün belirlenmesi, optimum sıcaklıkta çimlenme ve fide oluşum oranının belirlenmesine nazaran depolama koşullarının tohumların vigorunda meydana getirdiği farklılıkların depolamanın daha erken dönemlerinde ortaya çıkmasını sağlamıştır. Nitekim 5°C'de her üç tohum neminde depolanan tohumların optimum koşullarda fide oluşturma ve çimlenme gücünde, depolama süresince özellikle 8 aylık depolama sırasında önemli değişimler görülmezken, düşük sıcaklıkta sürme gücü bakımından sadece 5°C'de %9 nemdeki tohumların depolama sırasında önemli değişimlerin olmaması, bu depolama koşulunun diğerlerine nazaran tohumun vigorunu koruması açısından optimum olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.11 Depolama koşulları ve stüresine bağılı olarak düşük sıcaklıkta sürme gücündeki değişim (%)

SICAKLIK NEM AYLAR	5 °C			30 °C		
	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	79.00 ab 62.80*	80.33 a 63.84	76.66 abc 61.17	62.56 def 52.51	57.66 fg 49.44	0 1 0.0
5	75.33 abcd 60.26	74.66 abcd 59.96	72.00 abcde 58.08	67.00bcdef 54.98	19.66 h 25.62	0 1 0.0
8	60.00 ef 50.91	66.66 bcdef 54.79	62.66 def 52.46	57.33 fg 49.27	4.00 1 6.76	0 1 0.0
11	64.33 cdef 53.36	69.66 abcdef 56.66	62.00 def 51.99	45.66 g 42.48	0 1 0.0	0 1 0.0

* italik rakamlar açılal transformasyon değerleridir.

Benzer şekilde depolama koşullarının tohum vigorunda meydana getirdiği farkı, 30°C sıcaklıkta depolananların düşük sıcaklıkta sürme gücündeki değişiminden de görebilmekteyiz. Düşük sıcaklıkta depolananlara nazaran 30°C'de %6 tohum nemindekilerde 5 aylık depolama sonrası optimum koşullarda çimlenme gücü ve fide oluşum oranının düştüğü belirlenmiştir. Buna karşın 30°C'de %6 nemdeki tohumların düşük sıcaklıkta sürme güçlerini depolamanın başlangıcında önemli oranda kaybettikleri gözlenmiştir.

Düşük sıcaklıkta tohumların sürme gücünün belirlenmesiyle depolama koşullarına bağlı olarak tohumların vigorunda meydana gelebilecek farklılıkların daha belirginleştğini belirtebiliriz. Thanos et al. (1989) da depolama koşullarına bağlı olarak biber tohumlarında yaşlanmanın etkilerinin en iyi optimal altı sıcaklıkta çimlendirmeye belirginleştğini ifade etmiştir.

4.2.1.6. Anormal fide oluşumundaki değişim

1.yıl denemesinde kumda fide oluşum oranının (KFOO) belirlenmesi yanı sıra bu testin sonunda depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak oluşan anormal fide oranı da belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Anormal fide oluşumu üzerine depolama süresi ve koşulları önemli ($p<0.01$) etkide bulunmuştur. Özellikle depolama sıcaklığının ve tohum neminin artışıyla depolama süresinin de uzamasına bağlı olarak anormal fide oluşumu önemli oranda artmıştır.

Depolama süresine bağlı olarak KFOO'nı kaybının en az olduğu, 5°C'de %6 ve 12 nem içeriğinde depolanan tohumlar anormal fide oluşturmamışlardır. 30°C'de %6 nemdeki tohumların ise çok düşük oranda anormal fide oluşturdukları bunun ise istatistiki önemde olmadığı belirlenmiştir. Tohumların canlılıklarını en fazla 5 ay sürdürdükleri 30°C'de %12 nem içeriğindeki tohumların anormal fide oranı, 3 aylık depolama sonrası %49.4'e, 5 aylık depolama sonrası da %85.7'ye çıkmıştır.

Çizelge 4.12 1.yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak anormal fide oranındaki (%) değişim.

SICAKLIK	5 °C		30 °C	
NEM				
AYLAR	%6	%12	%6	%12
3	0 a 0.0*	0 a 0.0	0.82 a 2.63	49.43 b 44.88
5	0.81 a 3.6	0 a 0.0	0 a 0.0	85.7 c 73.85
7	0 a 0.0	0 a 0.0	1.36 a 6.62	**
9	0 a 0.0	0 a 0.0	1.89 a 7.71	**

* italik rakamlar açısıl transformasyon değerleridir.

** bitki çıkışı olmadığından değerlendirme yapılmamıştır.

2. yıl denemesinde ise çimlenme testi sonunda oluşan anormal fide oranı belirlenmiştir. Depolama sırasında 30 °C'de %12 nem içeriğindeki tohumların depolanmanın başlangıcından itibaren çimlenme gücü ve PFOO'nunu kaybetmeleri, yine 30 °C'de %9 nemdekilerin ise 8 aylık depolama sonrası PFOO'nunu kaybetmesi nedeniyle anormal fide oranlarının belirlenememesi, istatistiki olarak depolama süresi*tohum nemi* depo sıcaklığı interaksyonunun anormal fide oluşumu üzerine etkilerinin belirlenmesini mümkün kılmamıştır. Buna karşın depolama süresi ve depolama koşullarındaki farklılık, anormal fide oluşumunda önemli değişimlere neden olmuştur.

İstatistiki değerlendirme yapmaksızın, depolama süresinin uzamasıyla farklı sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumlarda anormal fide oluşumunun arttığı Çizelge 4.13'de görülmektedir. Ancak 11 aylık depolama sonunda en az anormal fide oluşumu 5 °C'de %9 nem içeriğinde depolanan tohumlarda görülmüştür. Bunu, 5 °C'de %6 ve %12 nem içeriğindeki tohumlar izlemiştir. 30 °C'de %6 ve %9 nemde depolanan tohumların ise 5 °C'de depolananlara nazaran daha depolamanın başlangıcında anormal fide oluşum oranı çok yüksek

değerlerde olmuştur. Nitekim 30°C'de depolanan tohumlarda yapılan tetrazolium testi sonucunda, depolamanın 5. ayından itibaren embriyoların büyük kısmında zararlanmanın olması da anormal fide oranındaki artışı desteklemektedir.

Çizelge 4.13 2. yıl denemesinde depolama koşulu ve süresine bağlı olarak anormal fide oranındaki (%) değişim.

SICAKLIK	5°C			30°C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	0.79 2.56*	3.69 9.69	6.33 14.11	18.87 25.38	3.68 9.53	**
5	7.73 15.28	10.49 18.82	10.33 18.69	14.86 22.65	15.33 23.05	**
8	4.0 11.07	7.46 15.70	5.66 13.67	12.21 20.83	20.67 26.64	**
11	21.28 27.41	13.47 21.21	20.71 27.06	25.56 25.32	**	**

* *italik rakamlar açısıl transformasyon değerleridir.*

** bitki çıkışı olmadığından değerlendirme yapılmamıştır.

Bu parametre açısından hiçbir interaksiyon önemli çıkmamasına karşın yalnızca depolama faktörlerinden sıcaklığın anormal fide oluşumuna önemli etkide bulunduğu belirlenmiştir. Depolama sıcaklığının artışıyla anormal fide oluşumunda da önemli artış olmuştur ($p<0.01$). 5°C'de depolanan tohumların anormal fide oluşturma oranı %9.33 iken, 30°C'de depolananlarda %71 oranında artarak %15.98 değerine çıkmıştır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 2.yıl denemesinde depolama sıcaklığının anormal fide oranına (%) etkisi.

SICAKLIK	Anormal fide oluşumu %
5°C	9.33 a 16.27*
30°C	15.98 b 21.23

* *italik rakamlar açısıl transformasyon değerleridir.*

4.2.1.7. Koleoptil uzunluğu, yaş ağırlığı ve kuru ağırlığındaki değişim

Fide uzama hızı ve yaş ağırlığı gibi kolay ölçülebilen parametrelerle tohum vigorunun belirleneceği belirtilmiştir (Halmer and Bewley, 1984). Pandey (1989) 3 yıla kadar depoladıkları soğan tohumlarında koleoptil uzunluğunun yaşlanmayla azaldığını belirlemiştir.

1.yıl denemesinde, sürme testinde çıkış yapan normal fidelerin depolama sürelerine ve koşullarına bağlı olarak ortalama koleoptil uzunluğu ve yaş ağırlığında meydana gelen değişimler incelenmiştir. 2. yıl denemesinde ise depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak düşük sıcaklıkta sürme testinde çıkış yapan normal fidelerin koleoptil uzunluğu, yaş ağırlığı ve kuru ağırlığındaki değişimler incelenmiştir.

Her iki yılda yapılan denemelerde depolama süresi ve koşullarına göre koleoptil uzunluğu ile yaş ve kuru ağırlığında önemli değişimler olmamıştır.

1.yılda depolama koşullarının ortalama koleoptil uzunluğu üzerine etkilerini incelediğimizde, düşük sıcaklıkta depolananlarda tohum neminin artışıyla koleoptil uzunluğunda önemli olmayan azalmalar olmuştur. 5°C'de %6 nem içeriğinde depolanan tohumların oluşturdukları bitkilerin koleoptilinin 10.31cm, %12 nemdekilerin 10.20cm olmuştur. %6 nem içeriğindeki tohumların koleoptil uzunluğu,

depolama sıcaklığının 30°C'ye yükselmesiyle azalmıştır, ancak bu azalma istatistiki önemde olmamıştır. %6 nem içeriğindeki tohumların 5°C'de depolananlarında koleoptil uzunluğu 10.31 iken, 30°C'dekilerde 9.98cm'e düşmüştür. Buna karşın 30°C'de %12 tohum neminde depolanan tohumlarda koleoptil uzunluğunun 6.60cm azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 Depolama koşullarına bağlı olarak ortalama koleoptil uzunluğundaki (cm/bitki) değişim.

		SICAKLIK	
	NEM	5°C	30°C
1.yıl	%6	10.31 a	9.98 a
	%12	10.20 a	6.60 b
2.yıl	%6	6.15	6.12
	%9	7.17	5.28
	%12	7.04	*

* bitki çıkışı olmadığından gözlem yapılamamıştır.

2. yıl denemesinde ise düşük sıcaklıkta depolanan tohumlarda nem içeriklerinin artışıyla birlikte koleoptil uzunluğu da artmış ancak artıştaki farklılık önemli olmamıştır. Depolama sıcaklığı ve tohum nemi yükseldikçe koleoptil boyu kısalmıştır. 5°C'de ve %9 nem içeriğindeki tohumlar 7.17cm ile en yüksek ortalama koleoptil uzunluğuna sahip iken bu değer 30°C'de %6 nemdekilerde 6.12cm ve %9 nemdekilerde 5.28cm'e düşmüştür.

Koleoptil uzunluğunun yüksek depolama sıcaklığı ve yüksek tohum neminde azalması, muhtemelen bu depolama koşullarında tohumun bitki oluşturabilmesi için gerekli enerji kaynaklarının tüketilerek fidelerin çıkış sürelerinin geç olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim 1.yıl denemesinde 30°C'de %12 nemde depolanan tohumların ortalama çimlenme zamanını 3.94 günden 8.7 güne; 2.yıl denemesinde 30°C'de %9 nem içeriğindeki tohumlarda da 4 günden 6.4 güne uzamış ve buna paralel olarak fide boyu da kısalmıştır.

Depolama koşullarına bağlı olarak oluşan fidelerin yaş ağırlığındaki değişim Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Denemenin ilk yılında depolama koşullarına bağlı olarak fide yaş ağırlığındaki değişim istatistiki önemde ($p < 0.01$) bulunmuştur. 1.yılda 5°C 'de %6 nem içeriğindeki tohumların oluşturdukları fidelerin ortalama yaş ağırlığı 40.48mg'dan %12 tohum neminde 41.67mg'a çıkmıştır. Ancak bu artış istatistiki önemde olmamıştır. 30°C 'de %6 tohum nemindekilerde 40.67 iken %12 nemdekilerde hızla 21.33mg'a düşmüştür (Çizelge 4.16).

2. yılda ise depolama koşullarının fide yaş ağırlığı üzerine istatistiki olarak önemli etkileri olmamıştır. Ancak Çizelge 4.16'dan da görüldüğü gibi 5°C 'de tohum nemi %6'dan %12'ye çıktıkça fide yaş ağırlığında artış olmuştur. 30°C 'de ise tohum neminin artışıyla fide yaş ağırlığı azalmıştır. 30°C 'de %6 nemdeki tohumların ortalama fide yaş ağırlığı 26.22mg iken %9 nemde 22.99'a düşmüştür.

Denemelerde depolama sıcaklığında ve tohum nemindeki artışa karşın fide yaş ağırlığı azalmıştır. Bu azalmanın kötü depolama koşullarında, tohumda çimlenme ve gelişme için gerekli besin maddelerin parçalanması sonucu fidenin genç döneminde kullanılamaması ve küçük kalmasından kaynaklanabileceğini belirtebiliriz.

Çizelge 4.16 Depolama koşullarına bağlı olarak fide yaş ağırlığında (mg/bitki) meydana gelen değişim.

		SICAKLIK	
	NEM	5°C	30°C
1.yıl	%6	40.38 a	40.67 a
	%12	41.67 a	21.33 b
2.yıl	%6	25.49	26.22
	%9	30.06	22.99
	%12	30.24	*

* bitki çıkışı olmadığından gözlem yapılamamıştır.

2. yıl denemelerinde fide yaş ağırlığında vardığımız yargıyı desteklemek amacıyla fide kuru ağırlığına bakılmıştır. Burada depolama koşulları ve süresine göre fide kuru ağırlığında istatistiki önemde değişimler olmamakla birlikte, fide yaş ağırlığında elde ettiğimiz bulgulara paralel olarak depolama koşullarının kötüleşmesiyle kuru ağırlıkta azalmalar olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.17). 5°C'de %6 tohum nemdekilerin fide kuru ağırlığı 1.69mg, %9 nemdekilerin 1.78mg ve %12 nemdekilerin 1.72mg olduğu belirlenmiştir. 30°C'de %6 nem içeriğindeki tohumlarda ortalama fide kuru ağırlığı 1.68 iken %12 nemdekilerde 1.61 olmuştur. Hem çimlenme ve sürme hem de fide özellikleri bakımından ideal depolama koşulu olan 5°C ve %9 nem içeriğindeki tohumlara göre yüksek sıcaklıkta ve özellikle yüksek nemde depolananlarda kuru ağırlıkta meydana gelen kaybın, bu kötü depolama koşullarında tohumda var olan besin ve enerji kaynaklarının tüketilmesi sonucu küçük bitkilerin oluşmasından kaynaklandığını belirtebiliriz.

Çizelge 4.17 Depolama koşullarına bağlı olarak ortalama fide kuru ağırlığındaki (mg/bitki) değişim.

SICAKLIK NEM	5°C	30°C
%6	1.69	1.68
%9	1.78	1.61
%12	1.72	*

* bitki çıkışı olamadığından gözlem yapılamamıştır.

4.2.1.8. Tohumdan sızan madde miktarındaki değişim

Bileşimleri ve organizasyonlarıyla biyolojik membranların, materyallerin hücre içine ve dışına taşınmasını düzenledikleri ve bu yüzden tohum canlılığı ve vigorunda anahtar rol oynadıkları belirtilmektedir (Bewley, 1986).

Pek çok araştırmada, yaşlı tohumdan su alınımlı sırasında dış ortama canlı tohumlara nazaran daha fazla madde sızıntısı olduğu belirlenerek, bunun yaşlanma sırasında hücre membranında meydana gelen organizasyon bozukluğundan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Yaşlı tohumdan sızan maddelerin kondüktimetrik ölçümü yanısıra sızıntı sıvısındaki şeker, amino asit, UV absorblayan madde (nükleotid, amino asit, polipeptid vs), potasyum ve fosfor iyonları gibi değişik maddelerin miktarları da ölçülerek yaşlanmayla oluşan canlılık kaybı ile membran zararları arasındaki ilişki belirlenmiştir (Pandey, 1989; Doijode, 1990; Lee et al., 1995).

Bu çalışmada yaşlanmayla meydana gelen membran geçirgenliğindeki bozulmayı belirlemek amacıyla depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak soğan tohumlarından sızan maddelerin elektriksel iletkenliği ile, amino asit ve potasyum miktarındaki değişimler incelenmiştir.

Yaşlanmaya bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki değişim, sızan maddelerin elektriksel iletkenliğini ölçmek suretiyle belirlenmiştir. Elektriksel iletkenlikteki artışın tohumdan sızan madde artışını dolayısıyla membran geçirgenliğindeki bozulmayı gösterdiği belirtilmektedir (Perry, 1986).

Şekil 4.10 ve 4.11'den de görüldüğü gibi hem 1.yıl hem de 2.yıl denemelerinde, tüm depolama koşullarında depolama süresinin uzamasıyla tohumdan madde sızıntısı artmıştır. Benzer şekilde yaşlanmanın ilerlemesiyle soğan (Pandey, 1989; Doijode, 1990; Lee et al., 1995), susam (Saxena et al., 1985), pırasa ve lahanası (Lee et al., 1995) tohumlarından madde sızıntısının arttığı belirlenmiştir. Özellikle depolama süresindeki artışla beraber tohumdan sızan madde miktarında, yüksek sıcaklıkta (30°C) tohum neminin %6'dan 12'ye artmasıyla ve düşük sıcaklıkta (5°C) tohumun neminin %6'ya azalmasıyla en fazla oranda artış olmuştur.

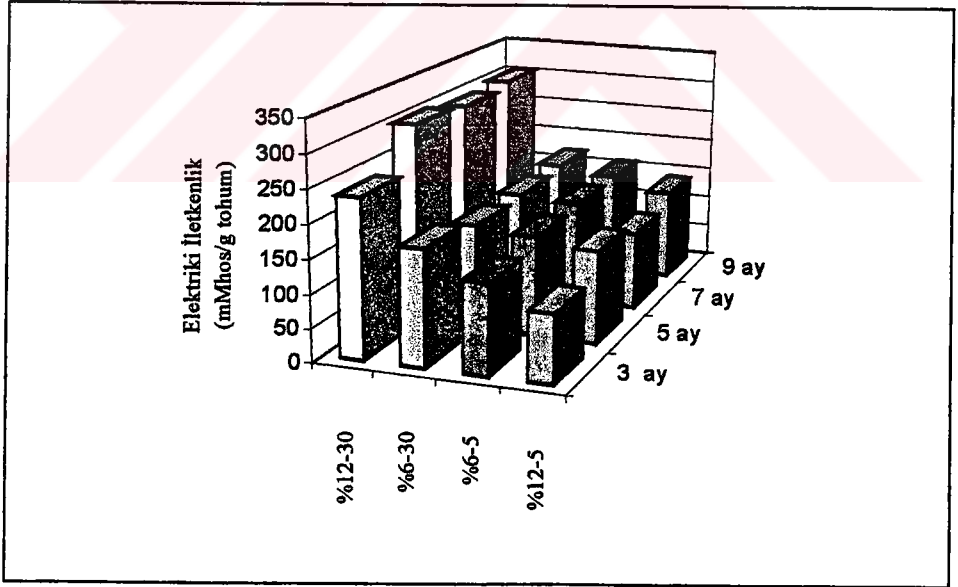
%6 ve 12 tohum neminde ve 5 ile 30°C'de 9 ay depolama yaptığımız ilk yıl denemesinde; depolama koşulları ve süresine bağlı olarak soğan tohumlarından sızan maddelerin elektriksel iletkenliğinde önemli değişim ($p<0.05$) olmuştur (Çizelge 4.18). Buna karşın, çalışmamızın ikinci yılında %6, 9 ve 12 tohum neminde ve 5 ile 30°C'de

11 ay depoladığımız soğan tohumlarından sızan madde miktarının depolama koşullarına göre önemli ($p<0.01$) olarak değiştiği, ancak depolama süresinin bu değişimi etkilemediği belirlenmiştir (Çizelge 4.19).

1.yıl denemesinde depolama süresinin artışıyla tüm depolama koşullarında tohumdan madde sızıntısında artış olmakla birlikte, bu artışın en az 5°C 'de %12 tohum neminde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.18). 5°C 'de %6 nemdekilerde depolamanın 3. ayında tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 135.59mMhos iken 5. ayından itibaren 151.27mMhos'a çıkarak madde sızıntısında önemli artış olmuştur. 30°C 'de depolananlarda ise tohumdan madde sızıntısı daha depolamanın başlangıcında fazla olmuştur. Ayrıca uzayan depolamayla 30°C 'de nemin artışı, tohumdan madde sızıntısını büyük oranda arttırmıştır.

Çizelge 4.18 Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki (mMhos/g tohum) değişim (1.yıl).

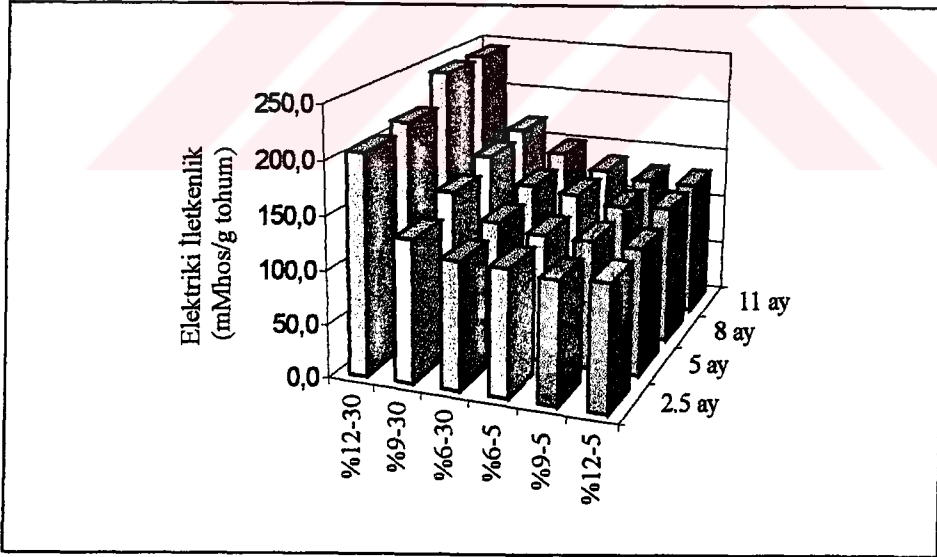
SICAKLIK	5 °C		30 °C	
NEM				
AYLAR	%6	%12	%6	%12
3	135.59 bcd	102.45 a	157.16 de	237.58 f
5	151.27 cde	121.70 ab	159.28 de	302.86 g
7	155.55 de	129.61 bc	161.74 e	295.54 g
9	157.41 de	144.93 cde	168.76 e	303.29 g



Şekil 4.10 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki değişim (1.yıl).

Çizelge 4.19 Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki (mMhos/g tohum) değişim (2.yıl).

SICAKLIK	5°C			30°C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	118.42	113.62	116.82	119.00	133.31	206.66
5	120.89	120.76	118.70	127.66	151.42	213.22
8	134.39	127.55	129.91	139.15	163.19	242.22
11	135.70	129.72	129.27	148.88	169.22	242.22



Şekil 4.11 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki değişim (2.yıl).

Denemenin 2.yılında da istatistiki önemde olmamakla birlikte depolama süresinin artışıyla tohumdan sızan elektrolit kaybı fazla olmuştur. Tohumdan madde sızıntısında yaşanmaya bağlı olarak meydana gelen bu artış özellikle 30°C'de depolanan tohumların nem içeriğinin artışıyla daha fazla olmuştur. Depolamadan 2.5 ay sonra 30°C'de depolanan %6 nem içeriğindeki tohumlardan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 119.00mMhos iken %9 nemdekilerde 133.31mMhos'a, %12 nemdekilerde 206.66mMhos'a yükselmiştir. 11 aylık depolama sonrasında ise bu değerler %6 nem içeriğindeki tohumlarda 148.88mMhos'a, %9 nemdekilerde 169.22mMhos'a ve %12 nemdekilerde daha da artarak 242.22mMhos'a çıkmıştır. Depolama süresince 5°C'de depolanan her üç nem içeriğindeki tohumdan madde sızıntısındaki artış daha az olmuştur.

Her iki yıl denemelerinde sadece depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki değişim değerlendirildiğinde en iyi depolama koşulunun 5°C'de %9 veya 12 tohum nemi olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.20). 5°C'de %12 nemdeki tohumlardan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 1. yıl denemesinde 124.76 mMhos/g tohum, 2.yıl denemesinde 123.68mMhos/g tohum değerindedir. 2.yılın denemesinde 5°C'de %9 nemdeki tohumlardan sızan madde miktarı azalarak, 122.91 mMhos/g tohum olmuştur. 5°C'de %6 tohum nemindekilerde tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 1.yılda 149.96mMhos/g tohum'a, 2.yılda 127.35 mMhos/g tohum'a çıkmıştır.

Depolama süresince 5°C'de %9 ve %12 nem içeriğinde depolanan tohumların membran geçirgenliği, %6 nem içeriğindeki göre daha az zararlandığı için madde sızıntısı daha az olmuştur. Bunun muhtemel nedeni düşük depo sıcaklığında yüksek tohum neminde membran onarım sisteminin varlığı olabilir. Nitekim Ellis and Roberts (1977) ve Ward and Powell (1983), yüksek tohum neminde depolanan soğan tohumlarında canlılık kaybının ve hücresel zararlanmanın daha az olduğunu belirleyerek, bunun yüksek nemde iyileştirme mekanizmasının aktivasyonu nedeniyle olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca Ward and Powell (1983) çeşitli hidrasyon uygulamalarıyla, yaşlanmış tohumlarda bu iyileştirme mekanizmasının aktive edilebileceğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.20 Depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan madde miktarındaki (mMhos/g tohum) değişim

		SICAKLIK	
	NEM	5 °C	30 °C
1.yıl	%6	149.96 b	161.74 c
	%12	124.76 a	284.82 d
2.yıl	%6	127.35 ab	133.67 b
	%9	122.91 a	154.28 c
	%12	123.68 a	226.08 d

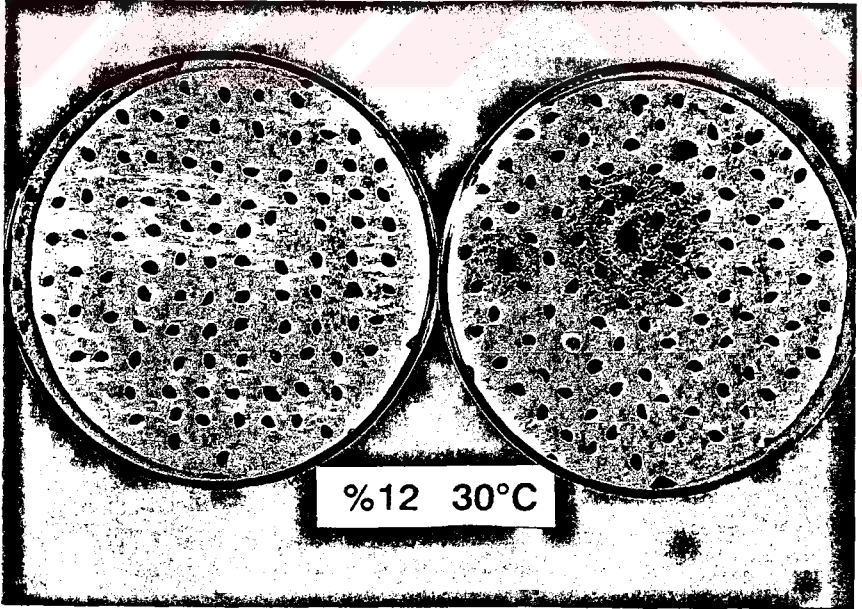
Tohumdan sızan madde miktarındaki artışın, depolama koşullarına bağlı olarak canlılık kaybıyla ilişkili olduğu da belirlenmiştir. Denemelerde düşük sıcaklık ve yüksek nem seviyelerinde elde edilen bulguların aksine sıcaklık artışıyla birlikte nemin artışı, canlılık kaybında artışa paralel olarak tohumdan madde sızıntısını da önemli oranda arttırmıştır. 1. yıl denemelerinde canlılık kaybının (%95.5'tan %6.5'a azalma) en fazla olduğu 30 °C'de %12 nem içeriğindeki tohumlardan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 284.82 mMhos/g tohum gibi en yüksek değere çıkmıştır. 2. yıl denemesinde de 30 °C'de %9 ve 12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda canlılık kaybındaki artışa paralel olarak tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği sırasıyla, 154.28 ve 226.08 mMhos/g tohum'a yükselmiştir (Çizelge 4.20). Bu artışın, yüksek sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumlarda membran yapısının ve membran bağlı enzim sistemlerinin geriye dönüşümsüz olarak zararlanması ve iyileştirme mekanizmasının yokluğu nedeniyle hücre membranının bütünlüğünün daha hızlı bozularak geçirgenliğinin artmasından kaynaklanabileceğini belirtebiliriz.

Yaşlanmayla fasulye, bezelye, mercimek tohumlarından elektrolit ve eriyebilir karbonhidrat sızıntısında artışın, fide gelişimindeki azalmadan sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Chhetri and Bhattacharjee, 1993). Çalışmamızda da tohumdan madde sızıntısında artışın görüldüğü depolama koşullarındaki tohumlardan gelişen fidelerin boy, yaş ve kuru ağırlıklarında önemli azalma belirlenmiştir. Depolama koşullarına bağlı

olarak yaşlanmanın ilerlemesiyle sızıntı yoluyla tohumdan metabolitlerin eksilmesi halinde gerek çimlenmenin gerekse fide gelişiminin tam olarak sağlanamayacağını ve böylece tohumda canlılık ve vigorda kayıpların olacağını belirtebiliriz.

Ayrıca tohumdan sızan bu maddelerin Bewley and Black'in (1994) belirttiği gibi tohum yüzeyinde mikroorganizmayla bulaşmayı arttırarak sekonder zarara neden olduğunu da gözlemledik. Canlılık kaybının fazla olduğu 30°C ve %12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda çimlenme sırasında aşırı derecede enfeksiyon olmuştur (Şekil 4.12). Bu enfeksiyonun, membran bütünlüğünü kaybetmiş tohumlardan çimlenme ortamına sızan maddelerdeki artıştan kaynaklandığını belirtebiliriz.

1. yıl denemesinde genelde tohumdan sızan madde miktarının 2. yıldakilerden daha yüksek değerlerde olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.18; Çizelge 4. 19). Bunun muhtemel nedeni olarak materyalin başlangıç performanslarının farklı olmasını belirtebiliriz.



Şekil 4.12 Tohumdan madde sızıntısı nedeniyle enfeksiyon oluşumu.

Tohumda membran bozulmasının diğer bir parametresi olan tohumdan potasyum sızıntısını ele aldığımızda; denemenin her iki yılında da depolama süresine ve koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarının istatistiki önemde ($p<0.01$) değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.21; 4.22).

Denemenin 1. yılında genel olarak tohumdan sızan potasyum miktarının en az olduğu 5°C ve %12 tohum nemi koşullarında depolamanın 5. ayından itibaren potasyum sızıntısında artış gözlenmiştir, ancak bu depolama koşulunda uzayan depolama süresiyle elde edilen artış en fazla 7. aydan sonra olmuştur. Depolama periyodunun uzamasına bağlı olarak düşük sıcaklıkta tohum neminin %12'den %6'ya düşmesiyle buna karşın yüksek sıcaklıkta tohum neminin %6'dan %12'ye yükselmesiyle tohumdan sızan potasyum miktarı önemli oranda artmıştır. 5°C 'de %12 nem içeriğindeki tohumlardan 3 aylık depolama periyodunda sızan potasyum miktarı 16.36 ppm/g tohum iken, 9 aylık depolama sonrasında 29.06 ppm/g tohum, %6 nemdekilerde 32.21 ppm/g tohum'a; 30°C 'de %6 nem içeriğindeki tohumlarda 33.33 ppm/g tohum, %12 nemdekilerde de 61.60 ppm/g tohum'a çıkmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarındaki (ppm/g tohum) değişim (1.yıl).

SICAKLIK	5°C		30°C	
NEM				
AYLAR	%6	%12	%6	%12
3	21.99 b	16.36 a	34.60 e	47.89 f
5	33.32 de	23.69 b	31.59 de	55.67 g
7	31.62 de	26.29 bc	34.31 e	54.50 g
9	32.21 de	29.06 cd	33.33 de	61.60 h

Denemenin 2. yılında ise 5°C 'de her üç tohum neminde depolananlarda ve 30°C 'de %6 tohum nemindekilerde depolama süresinin artmasıyla tohumdan sızan potasyum miktarındaki artış önemli

bulunmamıştır. Buna karşın denemenin 2.yılında da 1. yıl denemesinden elde edilen bulguya benzer olarak depolama süresinin artışıyla yüksek sıcaklıkta tohum neminin %6'dan %9 ve 12'ye yükselmesiyle tohumdan potasyum sızıntısının arttığı belirlenmiştir. 30°C'de %6 tohum neminde 2.5 ay depolanan tohumlardan sızan potasyum miktarı 22.81 ppm/g tohum'dan 11 aylık depolama sonunda 25.00 ppm/g tohum'a yükselmiştir. Buna karşın 30°C'de %9 nemdekilerde bu artış 24.54 ppm/g tohum'dan 35.47 ppm/g tohum'a ve %12 nemdekilerde 39.50 ppm/g tohum'dan 47.22 ppm/g tohum'a olmuştur (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarındaki (ppm/g tohum) değişim (2.yıl).

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	23.2 ab	22.5 ab	22.9 ab	22.8 ab	24.6 ab	39.5 e
5	23.8 ab	22.2 a	22.6 ab	24.2 ab	28.0 c	43.2 f
8	22.6 ab	22.2 ab	22.7 ab	24.6 ab	36.3 d	48.6 g
11	23.9 ab	23.5 ab	23.5 ab	25.0 b	35.5 d	47.2 g

Depolama süresini ihmal ederek, depolama sıcaklığı ve tohum nemi faktörlerinin etkilerini daha net görebilmek için sıcaklık* tohum nemi interaksyonu ele alınmıştır. Depolama sıcaklığı ve tohum neminin, tohumdan sızan potasyum miktarındaki değişime etkileri de istatistiki önemde ($p<0.01$) bulunmuştur. Çizelge 4.23 incelendiğinde her iki yılda 5°C'de ve %9 ve 12 nemde depolamanın potasyum sızıntısını azalttığı görülmektedir. Buna karşın 30°C'de, tohum nemi %6'dan %9 ve 12'ye yükseldikçe membran zararlanmasının göstergesi olarak tohumdan sızan potasyum miktarı da artmıştır. Bu bulguya dayanarak soğan tohumlarında membran yapısında zararlanmanın, depolama sıcaklığının ve tohum neminin artmasıyla artacağını belirtebiliriz.

Çizelge 4.23 Depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarındaki (ppm/g tohum) değişim.

		SICAKLIK	
	NEM	5 °C	30 °C
1.yıl	%6	29.78 b	33.46 c
	%12	23.85 a	54.92 d
2.yıl	%6	23.37 ab	24.16 b
	%9	22.59 a	31.09 c
	%12	22.95 ab	44.64 d

Soğan tohumlarında 2. yıl denemesinde farklı depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan amino asit miktarındaki değişim incelenmek suretiyle membran zararlanmasının belirlenmesi yanısıra tohumdaki metabolitlerin dışarıya sızmasıyla canlılık ve vigor kaybı arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmıştır. Nitekim Taylor et al. (1995), büyüme ve gelişme için tohumlarda bulunan amino asitin sızıntı ile kaybının canlılık ve vigor kaybıyla arttığını belirtmişlerdir.

Depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmanın ilerlemesiyle tohumlardan sızan amino asit miktarında önemli değişimler elde edilmiştir ($p<0.01$). Depolama süresinin uzamasıyla 5 °C ve 30 °C'de %6, 9 ve 12 tohum neminde depolanan tohumlardan sızan amino asit miktarı artmıştır (Çizelge 4.24). Ancak bu artış hızı düşük sıcaklıkta depolananlarda, yüksek sıcaklıkta depolananlara göre daha yavaş olmuştur. Bunun, tohumda yaşlanma sırasında meydana gelen zararlandırma mekanizmasının depolama sıcaklığına ve nemine göre değişebileceğinin göstergesi olduğunu belirtebiliriz.

Tohumdan amino asit sızıntısında artış, yüksek sıcaklıkta depolama sırasında tohum neminin artışıyla daha fazla oranda olmuştur. 30 °C'de %6 nemde depolanan tohumlarda amino asit sızıntısı 2.5 aylık depolama sırasında 33.3µM/g tohum iken, depolamanın 8. ayından sonra sızıntı 60.0µM/g tohum'a, 11. ayından sonra da 116.6µM/g tohum'a çıkararak önemli artış olmuştur. Buna karşın %9 ve 12 nemdekilerde daha

depolamanın başlarında (2.5 aylık depolamada) amino asit sızıntısı önemli oranda artarak, sırasıyla 116.6 ve 373.3 μ M/g tohum'a ulaşmıştır. Düşük sıcaklıkta (5°C) ise %6'dan %9 ve 12 tohum nemine çıkıldıkça, özellikle depolamanın 8. ayından sonra amino asit sızıntısı artmıştır.

Çizelge 4.24 Depolama süresi ve koşullarına göre tohumdan sızan amino asit miktarındaki (μ M/g tohum) değişim.

SICAKLIK	5°C			30°C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	31.6 a	31.6 a	28.3 a	33.3 a	116.6 d	373.3 f
5	43.3 ab	31.6 a	45.0 ab	66.6 abc	163.3 e	426.6 g
8	33.3 a	42.6 bc	73.3 abcd	60.0 ab	333.3 f	480.0 h
11	83.3 bcd	105.0 cd	170.0 e	116.6 d	363.3 f	480.0 h

Depolama süresine bakmaksızın depolama koşullarındaki (sıcaklık*tohum nemi) değişimin tohumdan amino asit sızıntısı üzerine önemli ($p<0.01$) etkide bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.25). Tohumdan en az amino asit sızıntısının olduğu 5°C'de depolanan %6 nem içeriğindeki tohumlara kıyasla amino asit sızıntısında, 5°C'deki %9 tohum neminde %10 ve %12 tohum neminde %65; 30°C'deki %6 nemde %44, %9 nemde %410 ve %12 nemde %820 oranında artış olmuştur.

Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumdan sızan elektrolit ve potasyum miktarında belirlenen değişimlerden farklı olarak, düşük sıcaklıkta (5°C) %6'dan %9 ve 12 tohum nemine çıkıldıkça amino asit sızıntısı artmıştır. Taylor et al. (1995) hızlandırılmış yaşlanma uyguladıkları soğan tohumlarında amino asit sızıntısında meydana gelen artışın tohum kabuğu geçirgenliği ve bütünlüğüyle etkilendiğini belirtmiştir. Buna karşın 30°C'ye nazaran canlılığın daha iyi korunabildiği ve potasyum-elektrolit sızıntısında da artışın daha az olduğu düşük sıcaklıkta, depolama süresinin uzamasıyla artan nem seviyelerine bağlı

olarak meydana gelen amino asit sızıntısındaki artışın, membran veya tohum kabuğunun geçirgenliğinin bozulmasından ziyade tohumların metabolik aktivitelerinin farklılığından kaynaklanabileceğini belirtebiliriz. Nitekim Vertucci (1993), yaşlanma ile ilgili reaksiyonların depolama koşullarına bağlı olarak değişebileceğini ileri sürmüştür.

Çizelge 4.25 Depolama koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan aminoasit miktarındaki değişim ($\mu\text{M/g}$ tohum).

NEM	SICAKLIK	
	5 °C	30 °C
%6	47.90 a	69.16 bc
%9	52.75 ab	244.16 d
%12	79.16 c	440.00 e

4.2.2. Tohum metabolitlerindeki değişim

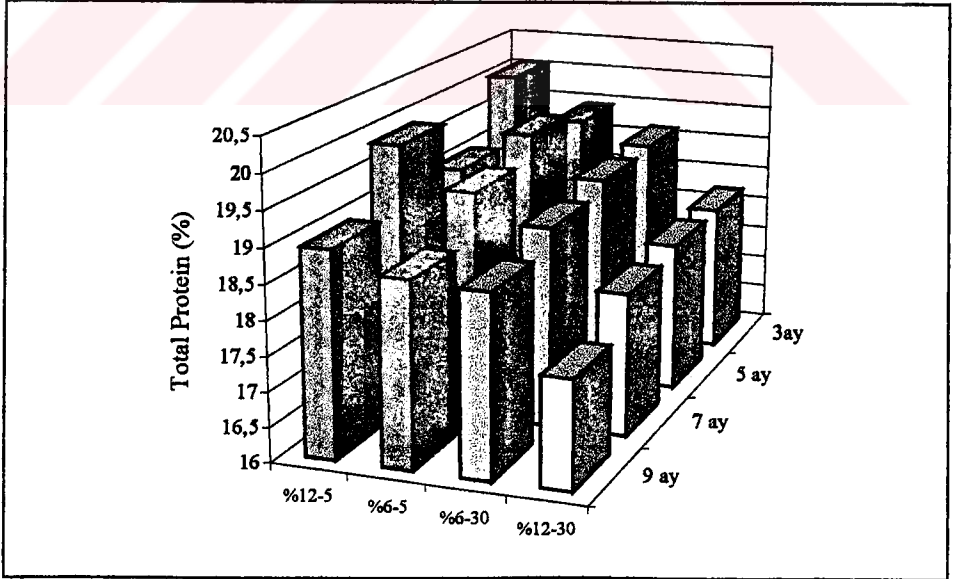
4.2.2.1. Tohumların protein içeriğindeki değişim

Farklı koşullarda depolanan tohumlarda depolama süresinin uzamasıyla meydana gelecek canlılık ve vigor kaybıyla, tohumların çimlenmesi ve daha sonra da gelişimlerini sürdürebilmeleri için gerekli olan proteinlerde miktarsal değişimin ilişkisi araştırılmıştır.

Tohumların farklı depolama koşullarına (depo sıcaklığı ve tohum nemi) ve depolama süresine bağlı olarak protein içeriklerinde istatistiki önemde değişimler olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.26; Çizelge 4.27). Ancak genel olarak özellikle canlılık kaybının fazla olduğu depolama koşullarında artan depolama süresiyle tohumların protein içeriğinde azalma olduğunu belirtebiliriz (Şekil 4.13 ve 4.14).

Çizelge 4.26 Depolama süresi ve koşullarına göre tohumun protein içeriğindeki (%) değişim (1. yıl).

SICAKLIK	5°C		30°C	
NEM AYLAR	%6	%12	%6	%12
3	19.42	20.06	19.12	18.19
5	19.66	19.05	19.07	18.19
7	19.31	19.89	18.90	18.07
9	18.66	18.96	18.61	17.56



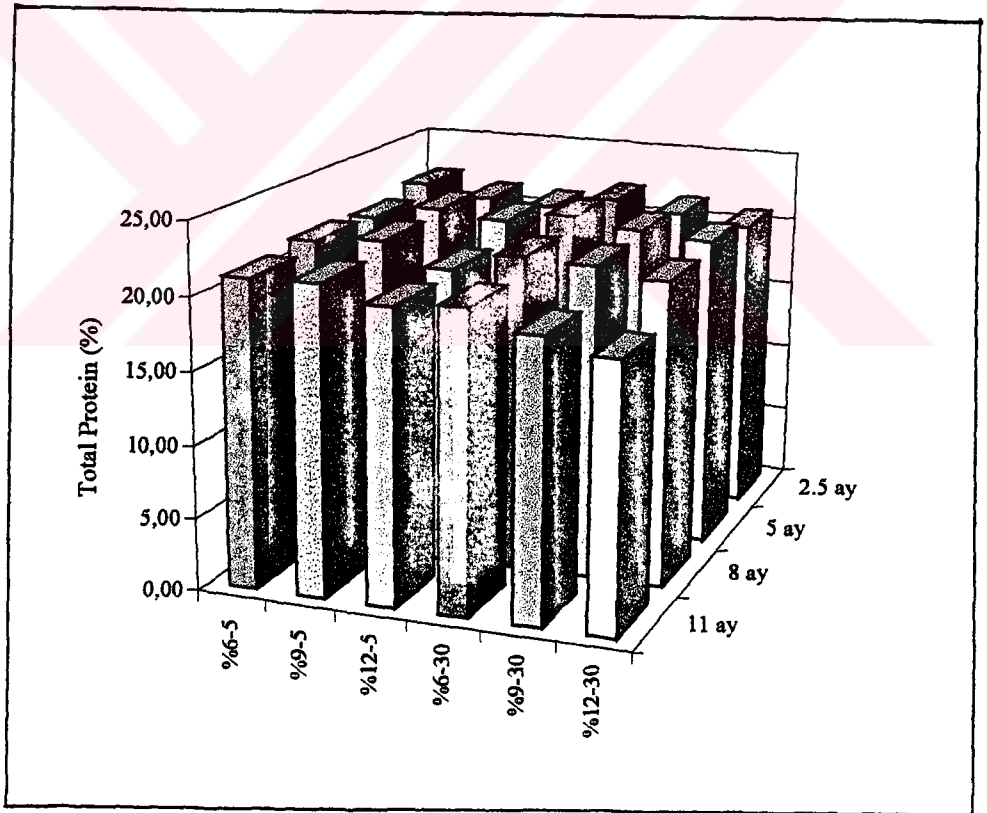
Şekil 4.13 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların protein içeriğindeki değişim (1.yıl).

1.yıl denemesinde canlılık kaybının az olduğu 5°C'de 3 ay depolanan tohumların ortalama protein içeriği %19.74 iken bu değere kıyasla 30°C'de %6 nem içeriğinde 3 ay depolanan tohumların protein içeriği %0.62'lik, 9 aylık depolama sonrasında da %1.13'lük azalma göstermiştir. Buna karşın bu azalma hızı, 30°C'de %12 nemde depolananlarda artarak 5°C'de 3 ay depolananlara kıyasla protein içeriğinde, 3 aylık depolama sonrası %1.55'lik, 9 aylık depolama sonrası da %2.18'lik kayıp olmuştur. 2.yıl denemesinde de yaşlanmayla depolama sıcaklığı ve nemindeki yükselmeye bağlı olarak protein içeriğinde kayıplar olmuştur. Nitekim 5°C'de 2.5 ay depolananların ortalama protein içeriğine (%21.76) kıyasla 30°C'de %6 nemde 2.5 ay depolananlarda %0.1'lik az bir azalma görülürken %9 nemdekilerde %0.39'luk ve %12 nemdekilerde %1'lik azalma belirlenmiştir. Bu azalmalar artan depolama süresiyle artarak, 11 aylık depolama sonrasında 30°C'de %6 nemdeki tohumlarda %1.26, %9 nemde %2.21 ve %12 nemdekilerde %1.88'lik azalma olmuştur.

Düşük sıcaklıkta depolananların protein içeriğinde ise depolama süresinin artışıyla fazla oranda azalma olmamıştır. 1.yılda 5°C'de 3 aylık depolananların protein içeriğine (%19.74) kıyasla 11 aylık depolama sonrasında %6 nemdekilerde %1.08'lik ve %12 nemde %0.78'lik azalma olmuştur. 2. yılda ise 5°C'de 2.5 ay depolanan tohumların protein içeriğine (%21.76) kıyasla 11 aylık depolama sonrasında %6 nemdekilerde %0.59, %9 nemdekilerde %0.49 ve %12 nem içeriğindeki %0.51 oranında azalma olmuştur.

Çizelge 4.27 Depolama süresi ve koşullarına göre tohumun protein içeriğindeki (%) değişim (2. yıl).

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5	21.82	21.71	21.76	21.66	21.37	20.76
5	21.77	21.76	21.92	21.63	21.02	20.95
8	21.68	21.74	21.15	21.41	20.91	20.30
11	21.17	21.27	21.25	20.50	19.55	19.88



Şekil 4.14 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların protein içeriğindeki değişim (2.yıl).

Depolama süresine bakmaksızın depolama sıcaklığı ve tohum nemi faktörlerinin tohumların protein içeriğinde önemli ($p<0.05$) değişimlerde bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28 Depolama koşullarına göre tohumun total protein (%) içeriğindeki değişim.

		SICAKLIK	
	NEM	5°C	30°C
1.yıl	%6	19.26 a	18.93 a
	%12	19.49 a	18.00 b
	%6	21.61 a	21.30 a
2.yıl	%9	21.62 a	20.71 b
	%12	21.52 a	20.47 b

Denemelerde canlılık kaybının en fazla olduğu yüksek sıcaklık ve nemde depolanan tohumların protein içeriği önemli azalma göstermiştir. 1.yılda 5°C'deki tohumların ortalama protein içeriği %19.37 iken 30°C'de %6 nemdeki tohumların protein içeriği istatistiki önemde olmamakla birlikte %18.93'e azalmıştır. Buna karşın %12 nemdekilerde önemli oranda azalarak %18'e düşmüştür. 2. yılda da 5°C'de depolananların ortalama protein içeriği %21.58'den 30°C'de %6 nemde depolanan tohumlarda %21.30'a azalmış, ancak bu azalma istatistiki önemde olmamıştır. %9 ve %12 nem içeriğindeki tohumlara ise 5°C'dekilere nazaran protein içeriğindeki azalma istatistiki önemde olup, sırasıyla %20.71 ve %20.47'ye düşmüştür. 30°C'de tohum neminin %6'dan %12'ye çıkmasıyla tohumdan sızan amino asit miktarının da fazla olduğunu göz önünde bulundurarak, %9 ve %12 nemde depolanan tohumların protein içeriğindeki azalmanın, proteinlerin parçalanması sonucu olabileceğini belirtebiliriz. Bu nedenle proteinlerin miktarındaki azalmanın, yüksek sıcaklık ve tohum neminde depolama sırasında, proteinlerin bazı zarar verici reaksiyonlara maruz kaldığının göstergesi olabileceğini ifade edebiliriz. Blackman and Leopold (1992) tohumlarda

yaşlanmayla enzimatik kapasite ve eriyebilir protein miktarında azalmanın olduğunu belirterek, proteinlerin bazı bozucu reaksiyonların hedefi olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca proteinlerin parçalanarak azalmasıyla, tohumun çimlenebilmesi ve fide geliştirebilmesi için gerekli proteininin karşılanamamasının, canlılık kaybında artışlara neden olduğunu ifade edebiliriz. Fasulye (Begnami and Cortelazzo, 1996) ve *Cajanus cajan* tohumlarında (Kalpano and Rao, 1993) yaşlanmayla meydana gelen canlılık kaybının proteinlerdeki azalmayla ilgili olabileceği belirtilmiştir. Chhetri and Bhattacharjee de (1993) yaşlandırdıkları fasulye, bezelye, mercimek tohumlarından çıkan fidelerin kotiledon yapraklarında protein ve klorofil içeriğinde azalma olduğunu belirleyerek, metabolizmadaki bu tip değişimlerin fide gelişimindeki azalmadan sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

4.2.2.2. Tohumların yağ ve yağ asidi içeriğindeki değişimler

Tohumlarda yaşlanmanın nedenlerini araştıran pek çok çalışmada, lipid peroksidasyonu ile oluşan mekanizmalar sonunda tohumun zararlanarak canlılığını kaybettiği ve yaşlanmanın esas nedeninin lipidlerde meydana gelen oksidasyon olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmalarda lipid peroksidasyonunun tohumların lipid içeriğinde azalmalara veya lipidlerin doymamış yağ asidi içeriklerinde değişimlere neden olduğu ileri sürülmüştür.

Çalışmanın 1. yılında depolama koşullarına bağlı olarak soğan tohumlarının yaşlanmasında peroksidatif etkinin olup olmadığını belirlemek için tohumların total yağ ve yağ asitleri içeriğinde meydana gelen değişimler incelenmiştir.

Çalışmamızda ortalama olarak soğan tohumlarının yağ içeriklerinin %24.5 olduğu belirlenmiştir. Perl et al. (1987) yaptıkları çalışmada soğan tohumlarının %20 yağ içerdiklerini belirleyerek inceledikleri diğer türlere kıyasla soğan tohumlarını 'düşük yağ içerikli tohumlar' grubuna dahil etmişlerdir. Buna karşın Hannan and Hill (1991) inceledikleri soğan tohumlarının %10-12 oranında yağ içerdiklerini belirtmişlerdir. Yağ içerikleri bakımından literatürlerdeki bu farklılığın analiz yöntemlerinden kaynaklanabileceğini belirtebiliriz.

Depolama süresinin uzamasıyla depolama koşullarına bağlı olarak tohumların yağ içeriklerinde önemli bir değişme olmamıştır. Ancak depo koşullarındaki farklılık tohumun yağ içeriğini önemli ($p<0.05$) olarak değiştirmiştir (Çizelge 4.29).

Düşük sıcaklıkta (5°C) tohum neminin %6'dan %12'ye çıkmasıyla tohumların yağ içeriği %1.44 oranında azalmıştır. Yüksek sıcaklıkta (30°C) ise tohum nemine bağlı olarak bu azalma yavaşlamıştır. 30°C 'de %6 nemdeki tohumların yağ içeriği 5°C 'de %6 nemdekilere nazaran %0.6'luk azalma gösterirken, %12 nemdekilerde %1.14'lük azalma olmuştur.

Çizelge 4.29 Depolama koşullarına göre tohumun total yağ (%) içeriğindeki değişim.

	SICAKLIK	
NEM	5°C	30°C
%6	25.33 a	24.73 b
%12	23.89 c	24.19 c

Yaşlanmayla depolama koşullarına bağlı olarak tohumların total yağ içeriğinde meydana gelen değişimler, canlılık ve vigor kaybıyla ilişkili bulunmamıştır. Nitekim Perl et al. (1987) soğan tohumlarının total yağ içeriklerinde yaşlanmayla ve canlılık kaybıyla önemli değişme olamadığını belirlemiştir. Hannan and Hill (1991) total yağ miktarındaki değişim yerine kromotografik yöntemlerle yağ bileşimindeki değişimi inceleyerek, soğan tohumlarının lipid bileşiminin yaşlanmayla önemli olarak değiştiğini, yaşlanmayla triaçil lipidlerinin piklerinde bozulmalar olduğunu ve büyük moleküler ağırlıktaki lipid parçalarının ve tokoferollerin (Vitamin E) azaldığını belirlemişlerdir.

Depolama koşullarındaki farklılığa bakmaksızın tohumların ortalama yağ içerikleri depolama süresiyle artmıştır (Çizelge 4.30). 3 aylık depolama periyodunda %24.07 olan yağ miktarı depolamayla

önemli oranda artarak 9 aylık depolama sonunda %24.85 değerine ulaşmıştır ($p<0.01$). Benzer şekilde Perl et al. (1987) da yüksek yağ içerikli tohumlarda yaşlanmayla lipid içeriklerinde artış belirleyerek bu artışın, yaşlanma sırasında karbonhidrat kaynağında türeyen kullanılmamış enerjinin varlığında birikiminin ve lipid sentezinin aktif olmasından ileri geldiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.30 Depolama süresine bağlı olarak tohumların yağ içeriklerindeki (%) değişim.

AYLAR	Yağ İçeriği %
3	24.07 c
5	24.55 b
7	24.77 ab
9	24.85 a

Depolama sıcaklığına bağlı olarak da tohumların yağ içeriğinde önemli değişimler olmuştur ($p<0.05$). Depolama sıcaklığının yükselmesi ile tohumların yağ içeriği önemli oranda azalmıştır. 5°C 'de depolanan tohumların ortalama yağ içeriği %24.66 iken 30°C 'de depolananlarda %24.46'ya düşmüştür. Bu durumda canlılık kaybına neden olan yüksek sıcaklıklarda depolama ile yağların peroksidatif etkilere maruz kalabileceği veya hidrolize olarak parçalanabileceği düşünülebilir. Ancak, depolama sıcaklığı kadar canlılık kaybında ve metabolik olaylarda önemli olan tohum neminin yağ içeriğindeki değişim üzerine etkili olmadığı da göz önünde bulundurularak peroksidatif etkilerden söz etmek hatalı olabilir. Nitekim yaşlanma sırasında tohumlarda görülen reaksiyonların tohum nemi ve depolama sıcaklığına bağlı olarak değişeceği belirtilmiştir (Blackman and Leopold, 1993; Vertucci, 1993; Salama and Pearce, 1993).

Depolama süresine ve koşullarına bağlı olarak tohumdan sızan maddelerdeki değişimleri incelediğimizde, yüksek sıcaklık ve nemde depolananlarda canlılık kaybının membran geçirgenliğinin

bozulmasından kaynaklanabileceğini belirtmiştik. Bu durumu da göz önünde bulundurarak soğan tohumlarında depo lipidlerindeki değişimden peroksidatif etkilere daha çok maruz kalan membran lipidlerindeki (Wilson and McDonald, 1986; Bewley, 1986) değişimi incelemenin daha doğru olabileceğini belirtebiliriz. Benzer şekilde Perl et al. (1987) da yaşlanma sırasında soğan tohumlarının yağ içeriğinde önemli değişim olmamasını, bu tohumlarda lipid fraksiyonunun çoğunun depo lipidlerindense membran lipidlerinden kaynaklandığını ileri sürerek, bunlarda yaşlanmayla oluşan membran zararlanmasının membran lipidleri ve yağ asidi bileşimlerindeki değişimi incelemekle daha belirginleşeceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların depo yağlarında elde edilen bulgulara benzer olarak bu yağların içindeki yağ asidi bileşiminde de önemli değişimler belirlenmemiştir. Buna karşın depolama süresinin artışıyla doymuş yağ asitlerinden palmitik ve stearik asitlerde önemli artış olmuştur (Çizelge 4.31). 3 aylık depolanan tohumların palmitik asit içeriği %6.91'den depolamanın 9. ayında %7.28'e çıkmıştır. Stearik asit içeriği ise %1.92'den depolamanın sonunda %2.38'e yükselmiştir. Doymamış yağ asitlerinden oleik asidin depolama periyodunca istatistiki önemde olamamakla birlikte arttığı buna karşın linoleik asidin azalışı belirlenmiştir. Hannan and Hill (1991) yaşlanmayla soğan tohumlarında palmitik asit ve linoleik asit içeriğinde artış olduğunu belirlemişlerdir. Palmitik asitlerde elde ettiğimiz sonuçlarda Hannan ve Hill'in (1991) bulgusuna benzer sonuç elde etmemize karşın linoleik asitlerde farklılık vardır.

Çizelge 4.31 Depolama süresine bağlı olarak yağ asitleri içeriğindeki (%) değişim.

AYLAR	PALMİTİK	STEARİK	OLEİK*	LİNOLEİK
3	6.91 b	1.92 b	26.59	64.56
5	6.99 b	1.96 b	27.03	63.97
7	7.47 a	1.84 b	27.51	63.17
9	7.28 ab	2.38 a	27.19	62.92

* istatistiki olarak önemli değildir.

Bewley and Black (1982) tohumlarda yaşlanmayla birlikte yağların hidrolize olarak yağ asitlerinin salındığını ve bunun sonucu olarak tohumda serbest yağ asitlerinde birikimin canlılık kaybına neden olabileceğini belirtmişlerdir. Buna dayanarak depolamayla palmitik ve stearik asitlerde artışın canlılık kaybından sorumlu olabileceğini belirtebiliriz. Linoleik asitlerdeki kaybın muhtemel nedeninin peroksidatif zararlanma olabileceğini ifade edebiliriz. Nitekim, Wilson and McDonald (1986) doymamış yağ asitlerinden oleik ve linoleik asitlerin lipid peroksidasyonunun adayları olduklarını belirtmiştir.

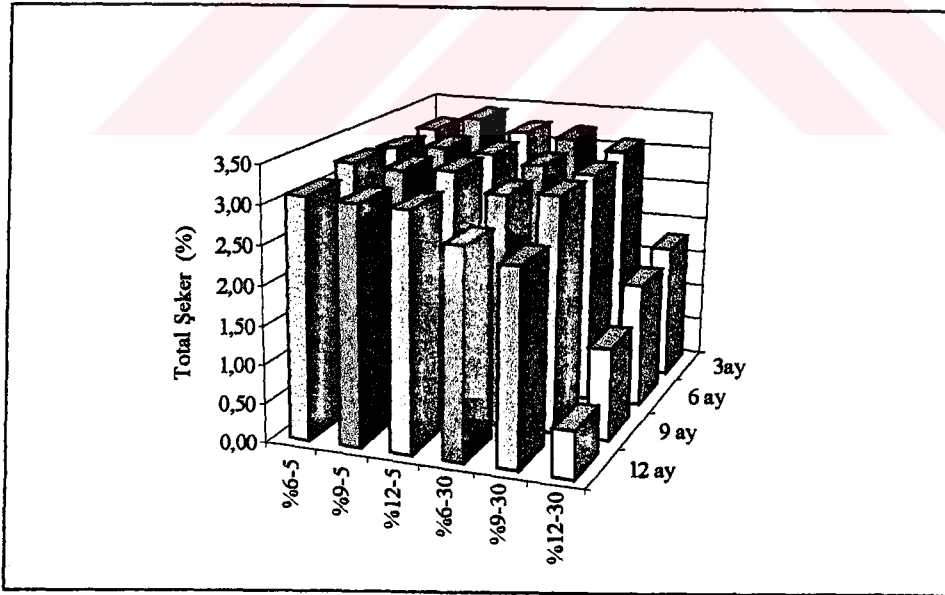
4.2.2.3. Şeker içeriklerindeki değişim

Denemenin 2. Yılında, depolama süresine ve koşullarına bağlı olarak tohumların şeker içeriğinde meydana gelen değişim incelenerek, canlılık kaybında şeker içeriğinin etkileri araştırılmıştır.

Depo sıcaklığı*tohum nemi ve depolama süresi interaksiyonuna göre tohumun şeker içeriği istatistiki önemde değişmemiştir (Çizelge 4.32). İstatistiki değerlendirme yapmaksızın tohumun şeker içeriğindeki değişimi irdelediğimizde; depolama koşullarına bağlı olarak artan depolama süresiyle şeker içeriğinin de azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.15). Düşük sıcaklıkta (5°C) depolananlarda depolama süresindeki artışla tohumun şeker içeriği az miktarda azalırken, yüksek sıcaklıkta özellikle nem içeriğinin artışıyla şeker içeriğinde kayıplar büyük oranda olmuştur. 3 aylık depolama sonrasında 30°C'de %6 ve %9 nem içeriğindeki tohumların şeker içeriği sırasıyla %3.33 ve %3.09 iken %12 nemdeki tohumlarda %1.77'ye azalmıştır. 30°C'de %12 neme sahip tohumlarda şeker miktarı sürekli azalarak depolamanın 12 ayında %0.6'ya düşmüştür. Buna karşın 30°C'de %6 ve %9 nemdeki tohumlarda 9 aylık depolama süresince büyük oranda azalma olmazken 12 aylık depolama sonrasında sırasıyla %2.69 ve %2.52 değerlerine düşmüştür. Böylece yüksek sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumlarda, var olan metabolitlerin yaşlanmayla oluşan bazı zarar verici reaksiyonlar sonucu tüketilebileceğini ve bunun sonunda yaşlanmayla tohumların canlılık ve vigorunda kayıpların olduğunu belirtebiliriz.

Çizelge 4.32 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumun şeker içeriğindeki (%) değişim.

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM AYLAR	%6	%9	%12	%6	%9	%12
3	3.21	3.39	3.25	3.22	3.09	1.77
6	3.17	3.23	3.21	3.10	3.03	1.63
9	3.23	3.19	3.25	3.00	3.05	1.19
12	3.09	3.06	3.06	2.69	2.52	0.6



Şekil 4.15 2.yıl denemesinde depolama koşulları ve süresine bağlı olarak tohumların total şeker içeriğindeki değişim.

Depolama koşullarına bağlı olarak tohumların şeker içeriklerinin sıcaklığın ve nemin yükselmesiyle önemli ($p < 0.01$) olarak azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.33). Canlılık ve vigorda kayıpların az olduğu 5°C 'de %9 nem içeriğindeki tohumların %3.22 oranında şeker içerdiği, %6 ve 12 nemdeki tohumlarda bu değer sırasıyla %3.18 ve %3.19'a düştüğü saptanmıştır. 30°C 'de %6 nem içeriğindeki tohumların şeker içeriğinin %3'e, %9 nemdekilerde %2.93'e ve %12 nemdekilerde %1.3'e azaldığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.33 Depolama koşullarına göre tohumların şeker içeriğinin (%) değişimi.

NEM	SICAKLIK	
	5°C	30°C
%6	3.18 ab	3.01 bc
%9	3.22 a	2.93 c
%12	3.19 ab	1.30 d

Yaşlanmayla depolama koşullarına bağlı olarak soğan tohumlarının total şeker içeriği azalmıştır. Buna karşın Lee et al. (1995), yaşlanma sonrası soğan tohumlarının şeker içeriğinde değişme olmadığını belirlemiştir.

Yüksek sıcaklık ve yüksek depolama koşullarında tohumların şeker içerikleri yanı sıra protein içeriklerinin de azaldıklarını göz önünde bulundurarak bu tohumların Blackman and Leopold'un (1993) belirttiği enzimik olmayan Amadori-Maillard reaksiyonlarına maruz kalarak canlılık ve vigorlarında kayıplar olduğunu belirtebiliriz. Ayrıca Blackman and Leopold (1993) tohumlarda eriyebilir şekerlerin sitoplazmanın camsı (glassy) durumunu teşvik ederek tohumlarda enzimik olmayan oksidasyonların oluşumunu önleneyeğini, yüksek depolama sıcaklığı ve neminde sitoplazmada şekerlenme durumunun oluşamayarak bu oksidatif reaksiyonlar sonucu tohumda canlılık ve vigorda kaybın olacağını ileri sürmüşlerdir. Smith and Berjak (1995) ise

hücre içi stabilizasyonu sağladıklarından eriyebilir karbonhidratlardaki değişimin, ortadoks tohumlarda membran bozulmasına neden olacağını belirtmişlerdir. Çalışmamızda da yaşlanmayla şeker kaybının arttığı depolama koşullarında tohumdan madde sızıntısının artarak membran geçirgenliğinin bozulduğu belirlenmiştir.

4.2.3. Kromozom anormalliklerinde değişim

Tohumlarda yaşlanmayla oluşan zarar verici mekanizmaların DNA'yı da etkileyerek kromozom anormalliklerinde artışa neden olduğu pek çok çalışmada belirlenmiştir.

Çalışmamızın 2. yılında depolama koşullarına bağlı olarak 15 aylık depolama sonrasında, tohumların kök ucu kromozom anormalliklerindeki değişimler incelenmiştir. Ancak bu 15 aylık depolama sonrasında canlılığını sürdürebilen 5°C'de %6, 9 ve 12 nem içeriğindeki tohumlarla 30°C'de %6 nemdeki tohumlar kromozom anormallikleri bakımından incelenmiştir.

İncelemeler sırasında kök ucu mitoz bölünmesinde görülen kromozom anormalliklerinin köprü oluşumu, parça kopması veya kromozomların kutuplara çekilmesinin geç kalması (kalgın kromozom) şeklinde olduğu görülmüştür. Anderson (1972) da yaşlanmayla kök ucu anafaz safhasında kromatidlerden ziyade kromozomlarda köprü oluşumu, parçalanma veya halka oluşumu gibi anormalliklerin oluştuğunu belirtmiştir. Çalışmamızda anormalliklerden en çok karşılaşılan grubu köprü oluşumları oluşturmıştır.

Depolama koşullarına bağlı olarak anormal kromozom içeren anafaz hücre oranlarının değişimi Çizelge 4.34'de görülmektedir. Anormal kromozomlu anafaz hücrelerinin oranı en az %12 nemde 5°C'de depolananlarda, %2.89 oranındadır. Bunu sırasıyla %2.99 anormal hücreli 5°C'de %9 nemindeki tohumlar, %3.54 oranda anormal hücreli %6 nemdeki tohumlar ve %6.14 anormal hücre oranına sahip 30°C'de %6 nemde depolananlar izlemiştir.

Çizelge 4.34 Depolama koşullarına bağlı olarak anormal kromozomlu anafaz hücreesindeki değişim (%).

	SICAKLIK	
NEM	5°C	30°C
%6	3.54	6.14
%9	2.99	*
%12	2.89	*

*canlılıklarını kaybettikleri için gözlem yapılamamıştır.

5°C'de depolanan tohumlarda nem içeriklerinin %12'den %6'ya azalmasıyla kromozom anormalliklerinde artış olmuştur. Buna karşın Rao et al.(1987) depolama sırasında marul tohumlarında herhangi bir depolama sıcaklığında tohum neminin azalmasıyla kromozom anormalliklerinin de azalacağını belirlemiştir.

Görüldüğü gibi canlılık kaybının fazla olduğu yüksek sıcaklıkta (30°C) depolanan tohumlarda, yaşlanmayla DNA'nın da zararlanarak anormal kromozomlu hücre oluşumunu arttırdığını belirtebiliriz. Abdalla and Roberts (1968), baklada artan depolama sıcaklığı ve tohum nemine bağlı olarak yaşlanmayla anormal kromozomlu hücre oranının arttığını belirlemiştir. Domateste de depolama sıcaklığının artışıyla kromozom anormalliklerinin arttığı ve canlılıklarını hızla kaybettikleri belirlenmiştir (Van Pijlen et al., 1995).

Tohumlarda, tohum nemi ve depolama sıcaklığına bağlı olarak meydana gelen değişimlerle ilgili değişik parametrelere ait bu bulguları toplu olarak irdelediğimizde, yaşlanmayla meydana gelen değişimlerin depolama koşullarına göre farklılık gösterdiğini belirtebiliriz.

5 ve 30°C'de %6, %9 ve %12 nem içeriğinde yaklaşık 1 yıla kadar depoladığımız soğan tohumlarında, yaşlanmayla meydana gelen değişimler depolama koşullarına göre farklılık göstermiştir.

Soğan tohumlarının 5°C gibi düşük sıcaklıkta 1 yıla kadar depolanması çimlenme gücünde herhangi bir azalmaya neden olmazken, 30°C 'de depolananlarda nem içeriğinin artışıyla çimlenme gücü önemli ölçüde azalmıştır. 30°C 'de depolanan tohumlarda nem içeriğine bağlı olarak çimlenme gücündeki kaybın embriyonun canlılığını kaybetme derecesiyle ilişkili olduğu tetrazolium testi ile belirlenmiştir. 30°C 'de 8 ay depolanan tohum embriyolarının canlılık kaybı, %9 nem içeriğindekielerde %6 nedekilere nazaran daha fazla olmuştur. Buna karşın %12 nemdekielerde ise daha depolamanın başlangıcında embriyoların canlılıklarını dolayısıyla çimlenme güçlerini kaybettikleri gözlenmiştir.

Aynı zamanda düşük sıcaklıkta (5°C) depolanan tohumlarda yüksek sıcaklıkta (30°C) depolananlara nazaran ortalama çimlenme zamanı azalarak çimlenme hızı artmıştır. 5°C 'de tohum neminin artışıyla çimlenme hızında hafif bir azalma olurken 30°C 'dekielerde tohum neminin artışıyla çimlenme hızında önemli oranda azalma olmuştur.

Optimum sıcaklıkta fide oluşum oranı (KFOO ve PFOO) bakımından 5°C 'de 9 aya kadar depolanan tohumlarda önemli bir azalma olmazken, artan depolama süresiyle fide oluşum oranında kayıplar da artmıştır. 30°C 'de depolananlarda ise çimlenme gücünde olduğu gibi tohum neminin artışıyla fide oluşum oranının azalma hızı artmıştır. 1.yıl denemesinde 30°C 'de %6 nem içeriğindeki tohumlar fide oluşum oranını 9 aylık depolama süresince korurken, %12 nemdekielerde depolamanın 3. ayında fide oluşum oranı büyük oranda azalmış ve 5. ayında tamamen kaybolmuştur. 2. yıl denemesinde ise %6 nemde depolanan tohumların fide oluşum oranı depolamanın 8. ayından itibaren önemli azalma olurken, %9 nem içeriğindekielerde yaklaşık 3 aylık depolama sonunda önemli azalma olmuştur. %12 nem içeriğindekielerde ise 3 aylık depolama sırasında fide oluşum oranı tamamen yitirilmiştir.

Soğan tohumlarının depolama koşullarına bağlı olarak özellikle 5°C sıcaklıkta depolananlarda, yaşlanma sırasında vigorda meydana gelen değişim düşük sıcaklıkta sürme testiyle daha belirginleşmiştir. Düşük sıcaklıkta sürme gücü bakımından 5°C 'de %9 nem içeriğinde depolanan tohumlarda en az kayıp olurken bunu, %6 ve %12 tohum neminde depolanan tohumlar izlemiştir. 30°C 'de depolananlarda ise

tohum nemini artışıyla düşük sıcaklıkta sürme gücü, 5 °C'dekilere göre daha hızlı azalmıştır.

Optimum sıcaklıkta çimlenme ve fide oluşum oranı bakımından 5 °C'de farklı nem içeriklerinde depolanan tohumlarda fark görülmezken, optimal altı sıcaklıkta sürme gücünde fark olması nedeniyle soğan tohumlarında vigoru belirlemede düşük sıcaklıkta sürme testinin standart çimlendirme testine nazaran güvenilir olarak kullanılabileceğini belirtebiliriz.

Anormal fide oluşumu bakımından 5 °C'de %9 nemde depolanan tohumlarda anormal fide oluşumu da %6 ve %12 nem içeriğindeki tohumlara nazaran daha az olmuştur. Depolama sıcaklığının artışıyla anormal fide oluşumu daha fazla olmuştur.

Canlılık ve vigorun korunumu açısından, depolama süresince gerek çimlenme ve fide oluşum oranı gerekse düşük sıcaklıkta sürme gücünde çok az kayıpların olduğu, çimlenme hızının korunduğu ve anormal fide oranının da düşük olduğu optimum depolama koşulu olarak 5 °C'de %9 tohum nemini önerebiliriz. 5 °C'de tohumun nem içeriğinin düşmesi veya yükselmesiyle daha kısa süreli depolanabileceğini belirtebiliriz.

Tohumdan potasyum ve amino asit sızıntısının artışına bağlı olarak, tüm depolama koşullarında yaşlanmayla birlikte tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği de artmıştır. Depolama sıcaklığının 5 °C'den 30 °C'ye, tohum neminin %6'dan %12'ye çıkmasıyla daha fazla madde sızıntısı olmuştur. Tohumdan potasyum ve amino asit yanısıra diğer metabolitlerin de tohumdan sızıntı yoluyla kaybı sonucu çimlenmenin geciktiği ve buna bağlı olarak fide gelişimini de azaldığı saptanmıştır. Çok ileri derecede sızıntı olduğu 30 °C'de %12 nem içeriğindeki tohumlarda mikroorganizmal faaliyet artarak çimlenme tamamen önlenmiştir. 5 °C'de depolananlarda tohum neminin artışıyla yaşlanmayla oluşacak membran zararı geciktirilerek tohumdan potasyum ve amino asit gibi madde sızıntısı azalmıştır. Böylece tohumları canlılıklarını koruyabilecekleri depolama sıcaklığında yüksek tohum neminde depolamak suretiyle metabolit sızıntısının azalarak canlılık ve vigorun korunabileceğini belirtebiliriz.

Yaşlanmaya bağlı olarak farklı depolama koşullarındaki tohumların total yağ miktarındaki değişim canlılık ve vigor kaybıyla ilişkili bulunamamıştır. Buna karşın yaşlanmayla total lipidlerdeki palmitik ve stearik asitlerdeki artışın canlılık kaybına neden olabileceğini belirtebiliriz. Ancak bundan sonraki çalışmalarda yaşlanma mekanizmasını açıklamada daha etkili olabileceğinden total yağ miktarı ve yağ asitlerindeki değişimden membrane lipidlerindeki değişimin incelenmesini önerebiliriz. Nitekim yaşlanmaya bağlı olarak bozulan membran geçirgenliğinin bir sonucu olarak tohumdan sızan madde miktarındaki artışın canlılık ve vigor kaybıyla önemli olması, membran lipidlerinde peroksidatif veya hidroliz reaksiyonlarının varlığını düşündürmektedir.

Soğan tohumlarının depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmayla beraber protein içerikleri de azalmıştır. Ancak en fazla azalma 30°C'de tohum neminin %6'dan %12'ye çıkmasıyla olmuştur. Aynı zamanda depolama sıcaklığı ve tohum neminin artışıyla birlikte yaşlanma sırasında tohumların total şeker içerikleri de azalmış, ancak tohumdan sızan amino asit miktarı artmıştır. Bu depolama koşullarında tohumların protein içeriğindeki azalmanın ya enzimler tarafından parçalanmak suretiyle ya da şekerlerin karbonil grubuyla yapacakları bileşikler sonucu olabileceğini belirtebiliriz. Bunun daha iyi belirlenmesi için tohum proteinlerinin elektroforetik yöntemlerle incelenmesi ve tohumdaki şeker türevlerinin yaşlanmayla bağlı olarak incelenmesi gerekmektedir.

Tohumlarda yaşlanmaya bağlı olarak protein ve şeker içeriğinin azalması, tohumun gerek tohumun çimlenmesi sırasında gerekse fide gelişimi sırasında yeterli metabolitin temin edilemeyerek canlılık ve vigorda kayıplara neden olduğu belirlenmiştir.

15 aylık depolama sonunda tohumların canlılıklarını sürdürdükleri depolama koşullarında belirlenen kromozom anormallikleri de yaşlanma sırasında genetik materyalin de zararlandığını göstermektedir. Bu zararlanma hızı 5°C'de depolananlara nazaran canlılık kaybının fazla olduğu 30°C'de %6 tohum neminde depolananlarda fazla olmuştur. En fazla kromozom anormalliği köprü oluşumu şeklinde görülmüştür.

Depolama koşullarına bağlı olarak soğan tohumlarında yaşlanmayı başlatan mekanizma farklı olmakta ve buna bağlı olarak meydana gelen değişimler de farklı olmaktadır. Bundan sonraki çalışmalarda moleküler düzeyde çalışmalar yapmak suretiyle yaşlanmanın esasının daha iyi açıklanabileceği inancındayız.

4.3. Soğan Tohumlarında Depolama Öncesi Uygulamaların Depolama Koşullarına Bağlı Olarak Yaşlanmayı Kontrol Edici Etkilerinin Araştırıldığı Deneme (Deneme 3) Bulguları

Bu denemede, soğan tohumlarında depolama koşullarına bağlı olarak meydana gelen canlılık ve vigor kaybının Deneme 1'de etkinliği belirlenmiş potasyum nitrat ($0.1M KNO_3$) veya potasyum fosfat ($0.1M KH_2PO_4$) tuzlarının depolama öncesi tohumlara uygulanmasıyla ne ölçüde değişeceği ve bu etkinin ne kadar süreceğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 2 farklı uygulamayla muamele edilmiş tohumlar, 3 farklı nem içeriğinde 2 farklı depo sıcaklığında 1 yıl süre ile depolanmışlar ve 2-3 ay aralıklarla alınan örneklerde, Deneme 2'de yaşlanmayı ortaya koymada kullanılan parametrelerden çimlenme ve fide oluşum oranı, anormal fide oranı, ortalama çimlenme zamanı, tohumdan sızan madde miktarı, tohumların protein ve şeker içeriğindeki değişimler incelenmiştir. Ayrıca depolama sırasında oluşan genetik zararın uygulamalarla ne ölçüde iyileştirilebildiğini belirlemek için 15 aylık depolama sonunda kök ucu kromozom anormallikleri oranı belirlenmiştir.

4.3.1. Tohum canlılığı ve vigorundaki değişimler

Pek çok türde depolama öncesi osmotik veya hidrasyon uygulamalarının, tohumların yaşlanma hızını geciktirerek canlılık ve vigor kayıplarını azalttığı belirlenmiştir. Bu çalışmada, depolama öncesi $0.1M KNO_3$ veya $0.1M KH_2PO_4$ tuzlarıyla muamele edilmiş soğan tohumlarında, depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanma sırasında canlılık ve vigorun korunup korunmadığını belirlemek amacıyla tohumların çimlenme ve sürme gücü, çimlenme hızı, anormal fide

oluşum oranı, tohumdan sızan madde miktarı ve fide özelliklerindeki değişimler incelenmiştir.

4.3.1.1. Çimlenme gücündeki değişim

Depolama süresine ve koşullarına göre depolama öncesi soğan tohumlarının KNO_3 ve KH_2PO_4 tuzlarıyla uygulanmasının, canlılık kaybını geciktirmenin göstergesi olarak çimlenme gücünde önemli değişimlere neden olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$).

Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi tohumlara yapılan uygulamaların çimlenme gücünü artırmadaki etkileri, her bir depolama süresi için ayrı ayrı Çizelge 4.35'de incelenmiştir.

2.5 aylık depolama periyodunda 5°C 'de depolanan tohumlarda uygulamaların çimlenme gücünü, tohum nemine bağlı olarak azalttığı görülmüştür. %6 nemde depolanan uygulamasız tohumun çimlenme gücü %93.75 iken, KNO_3 uygulamasıyla %85.25'e; KH_2PO_4 uygulamasıyla da %84'e azalmıştır. %9 nem içeriğindeki uygulamasız tohumların çimlenme gücü %93.25'ten KNO_3 uygulamasıyla %86.75'e ve KH_2PO_4 uygulamasıyla %83.25'e düştüğü saptanmıştır. %12 nemde depolananlarda ise çimlenme gücü %92'den KH_2PO_4 uygulamasıyla az oranda azalarak %87'ye ve KNO_3 uygulamasıyla da %83.5'a düşmüştür.

Uygulamalar, 5°C 'de depolanan tohumlarda çimlenme gücünü azaltmasına karşın 30°C 'de depolananlarda tohumun neminin artışıyla canlılık kaybını azaltıcı etkide bulunmuştur. 30°C 'de %6 nemde depolanan uygulamasız tohumda çimlenme gücünün (%94.5), KH_2PO_4 uygulamasıyla (%88.5) az da olsa korunduğu, buna karşın KNO_3 uygulamasının (%87.5) çimlenme gücünü azaltmada daha az etkili olduğu belirlenmiştir. %9 nem içeriğinde depolanan uygulamasız tohumlarda çimlenme gücü %83'e azalırken KH_2PO_4 uygulamasıyla çimlenme gücü %85'e yükselmiştir. Ancak %9 nemde 30°C 'de depolanan tohumlarda KNO_3 uygulamasının çimlenme gücünü %76.5'a azaltarak canlılık kaybını iyileştirici etkide olmadığı belirlenmiştir. Uygulamaların canlılık kaybını iyileştirici etkisi %12 tohum neminde depolananlarda daha belirgin olmuştur. Bu depolama koşulunda uygulamasız tohumlarda çimlenme gücü %1'e azalırken, KH_2PO_4

uygulanmasıyla önemli oranda artarak %46.25'e, KNO_3 uygulanmasıyla da % 9.5'a yükselmiştir.

Özellikle canlılık kaybında önemli oranda azalmaların görüldüğü yüksek sıcaklıkta depolamanın 8. ayında, tohumlara depolama öncesi yapılan uygulamaların çimlenme gücünü artırmadaki etkileri daha fazla olmuştur. 8 ay depolama sonunda %6 tohum neminde uygulamasız tohumların çimlenme gücü %78.25 iken KNO_3 uygulanmasıyla %85'e çıkarak, bu uygulamanın canlılık kaybını önemli oranda azalttığı belirlenmiştir. KH_2PO_4 uygulanmasıyla ise çimlenme gücü %80.25'e çıkmasına karşın bu artış önemli olmamıştır. %9 tohum neminde depolanan uygulamasız tohumların çimlenme gücü daha da düşerek %44.5 olmuştur. Buna karşın KH_2PO_4 uygulananlarda bu değer %78'e, KNO_3 uygulananlarda da %67.5'a çıkmıştır. Depolamanın 8. ayında 30°C 'de %12 tohum neminde hem uygulamasız hem de uygulamalı tohumlarda canlılık tamamen kaybedilmiştir.

Hem 8 aylık hem de 11 aylık depolama periyodunda 5°C 'de depolanan tohumlarda depolama öncesi uygulamaların çimlenme gücünü önemli derecede azaltmamakla beraber, canlılık kaybını iyileştirici etkileri olamadığı da belirlenmiştir. Depolamanın 8. ayında 5°C 'de uygulamasız tohumların ortalama çimlenme gücü %91.33'ten, KNO_3 uygulanmasıyla %82.6'ya, KH_2PO_4 uygulanmasıyla %83.6'ya düşmüştür. 11 aylık depolama sonunda ise 5°C 'de ortalama çimlenme gücü uygulamasız tohumlarda %92.42 iken KNO_3 uygulanmasıyla %85.58'e, KH_2PO_4 uygulanmasıyla %86'ya düşmüştür.

30°C 'de 11 ay depolanan tohumlarda canlılık kaybının iyileştirilmesi %9 nemde depolananlarda görülmüştür. %9 nem içeriğinde uygulamasız tohumların çimlenme gücü %4'e düşüp canlılık kaybı artarken, çimlenme gücü KNO_3 uygulanmasıyla %70'e; KH_2PO_4 uygulanmasıyla da %80'e çıkmıştır. 30°C 'de %6 nem içeriğinde hem uygulamasız hem de uygulamalı tohumların çimlenme gücü aynı seviyede olduğundan, uygulamalar, çimlenme gücünü arttırmada etkili olmamıştır.

Çizelge 4.35 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların çimlenme gücüne (%) etkileri.

Depolama Süresi	SICAKLIK	5 °C			30 °C		
		%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay	Kontrol	93.75 ab 75.72*	93.25 ab 75.01	92.00 ab 73.81	94.50 a 76.84	83.00 de 65.80	1.00 h 3.93
	KNO ₃	85.25 cde 67.48	86.75 bcd 68.84	83.50 de 66.12	87.50 bcd 69.55	76.75 e 61.25	9.50 g 17.30
	KH ₂ PO ₄	84.00 de 66.47	83.25 de 65.96	87.00 bcd 69.12	88.50 abcd 70.35	85.00 cde 67.29	46.25 f 42.73
8 ay	Kontrol	93.75 ab 75.61	90.75 ab 72.63	89.50 abc 71.34	78.25 d 62.36	44.50 f 41.86	0.75 g 3.47
	KNO ₃	83.50 cd 66.42	83.50 cd 66.12	81.00 d 64.59	85.00 bcd 67.32	67.50 e 55.28	0.0 g 0.0
	KH ₂ PO ₄	84.25 bcd 66.76	82.25 cd 65.28	84.25 bcd 66.76	80.25 d 63.74	78.00 d 62.11	0.0 g 0.0
11 ay	Kontrol	92.00 a 74.33	94.25 a 76.56	91.00 ab 72.59	81.25 d 64.41	4.00 f 11.30	0.0 g 0.0
	KNO ₃	86.75 bcd 68.72	86.00 bcd 68.34	84.00 c 66.93	81.75 d 64.81	70.00 e 56.96	0.0 g 0.0
	KH ₂ PO ₄	82.75 d 65.53	89.50 abc 71.33	85.75 bcd 68.18	81.00 d 64.28	80.00 d 63.47	0.0 g 0.0

* İtalik rakamlar açısız transformasyon değerleridir

Depolama koşullarına bağlı olarak 11 aylık depolama süresince 5°C'de depolananlarda, depolama öncesi tohum uygulamalarının canlılık kaybını azaltıcı etkisi olmamıştır. Zaten bu sıcaklıkta depolanan tohumlarda önemli oranda canlılık kaybı da görülmemiştir.

30°C'de %6 nemde depolanan uygulamasız tohumlarda çimlenme gücü özellikle depolamanın 8. ayından itibaren hızla azalma gösterirken, depolama öncesi KNO_3 uygulaması depolamanın sadece 8. ayında çimlenme gücünü arttırarak canlılık kaybını azaltmış, 11. ayında ise iyileştirici etkisi olmamıştır. KH_2PO_4 uygulaması ise 30°C'de %6 nemde depolama süresiyle beraber canlılık kaybını arttırmıştır.

30°C'de %12 nemde depolanan hem uygulamalı hem de uygulamasız tohumlarda 11 ay süreyle canlılık tamamen kaybolmuştur. Ancak, bu nem içeriğindeki tohumların KH_2PO_4 ile uygulanması canlılığı 2.5 aya kadar %46'larda tutmuş ve daha sonraki dönemlerde canlılık kaybını azaltıcı etkisi görülmemiştir.

Depolama öncesi uygulamaların canlılık kaybını azaltıcı etkisi 30°C'de %9 nem içeriğinde depolananlarda görülmüştür. Depolama öncesi uygulama yapılmadan tohumların 30°C'de %9 nemde depolanmasıyla canlılık kaybı hızlı olurken, depolama öncesi uygulamalar canlılık kaybını önlemiştir. 11 aylık 30°C'de %9 nem içeriğindeki uygulamasız tohumların 2.5 aylık depolama sonunda çimlenme gücü %83'ten depolamanın 8. ayında %44.5'a ve 11. ayında ise %4'e düşmüştür. Buna karşın 11 aylık depolama sonunda KH_2PO_4 uygulanan tohumlarda çimlenme gücü %80, KNO_3 uygulananlarda ise %70 olmuştur.

Argerich et al.(1989) depolama öncesi $\text{KNO}_3+\text{K}_2\text{PO}_4$ uygulanmış domates tohumlarının düşük sıcaklıkta (4°C) depolanmasıyla hiçbir canlılık kaybı olmaksızın, yüksek sıcaklıkta (30°C) depolananlarda canlılık ve çimlenme hızının azaldığını gözleyerek, ön uygulama yapılmış tohumların yüksek sıcaklıkta depolanmasının büyük zararlanmalara neden olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Clarke and James (1991) de tohumlarda canlılık kaybı arttıkça ön uygulamanın yararlı etkisinin azaldığını, hatta ön uygulamaların, kötü depo koşullarında tohumların canlılıkları üzerine zarar verici etkiye sahip olabileceklerini belirtmişlerdir. Bu belirtilenlerin aksine denememizde, çimlenme

gücünde önemli azalmaların görüldüğü 30°C'de depolanan tohumlarda nem içeriklerine göre değişmekle birlikte uygulamaların, canlılık kaybını azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca uygulamaların yaşlanmayı geciktirici etkileri artan depolama süresiyle belirginleşmiştir.

Georghiou et al. (1987) da depolama öncesi osmotik olarak ön uygulama yapılmış biber tohumlarının 35°C'de 6 aya kadar depolanmasıyla çimlenme gücü ve hızının artarak yaşlanma hızının geciktirildiğini saptamışlardır. Yine 3 yıla kadar yaşlanmanın olumsuz etkilerinin görüldüğü 25°C'de depolanan biber tohumlarında depolama öncesi ön uygulamaların, yaşlanmayı geciktirici etkide bulunduğu belirlenmiştir (Thanos et al., 1989).

Genel olarak depolama öncesi uygulamaların, depolama süresini dikkate almaksızın depolama koşullarına bağlı olarak çimlenme gücünü artırıcı etkisinin 30°C'de %9 ve 12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.36). Bu depolama sıcaklığında %9 nem içeriğindeki uygulamasız tohumların çimlenme gücü %43.83'e düşmüşken, KNO₃ uygulananlarda %71.41'e, KH₂PO₄ uygulananlarda da %81'e yükselmiştir. 30°C'de %6 nemde depolanan tohumlarda ise uygulamaların çimlenme gücünü ne azaltıcı ne de artırıcı yönde etkisi olmuştur. Düşük depolama sıcaklığında tohum nemi önemli olmaksızın tohumlara depolama öncesi yapılan uygulamalar çimlenme gücünü azaltmıştır.

Çizelge 4.36 Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların çimlenme gücüne (%) etkisi.

SICAKLIK UYGULAMA	5 °C			30 °C		
	%6	%9	%12	%6	%9	%12
Kontrol	93.16 a 75.22*	92.75 a 74.73	90.83 a 72.58	84.66 b 66.08	43.83 d 39.22	0.35 g 2.47
KNO ₃	85.16 b 67.54	85.41 b 67.77	82.83 b 65.88	84.75 b 67.23	71.42 c 58.34	3.16 f 5.77
KH ₂ PO ₄	83.66 b 66.25	85.00 b 67.52	85.66 b 68.02	83.25 b 66.13	81.00 b 65.04	15.41 e 14.25

* İtalik rakamlar açısıl transformasyon değerleridir.

4.3.1.2. Ortalama çimlenme zamanındaki değişim

Denemede 30°C'de %12 nem içeriğindeki tohumların depolama sırasında çimlenme güçlerini kaybederek ortalama çimlenme zamanı hesaplanamadığından depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki değişim istatistiki olarak değerlendirilememiştir.

Çizelge 4.37'de görüldüğü gibi depolamanın 2.5 aylık döneminde depolama öncesi uygulamalar hem 5°C hem de 30°C'de her üç nem içeriğinde depolanan tohumlarda ortalama çimlenme zamanını azaltarak çimlenmeyi hızlandırmıştır. Depolamanın 8. ayında ise 5°C'de %6 nem içeriğindeki tohumlarda depolama öncesi uygulamalar ortalama çimlenme zamanını arttırmış buna karşın %9 ve 12 nemdeki tohumlarda azaltmışlardır. 30 °C'de depolamanın 8. ayında %6 nemdeki tohumlarda uygulamalar, ortalama çimlenme zamanını azaltmada etkili olurken %9 nem içeriğindeki tohumlarda ortalama çimlenme zamanını arttırmışlardır. 11 aylık depolamada 5°C'de her üç nem içeriğindeki tohumlarda depolama öncesi uygulamalar ortalama çimlenme zamanını azaltmışlardır. Bu depolama sürecinde uygulamaların ortalama çimlenme zamanını azaltarak çimlenme hızını artırıcı etkisi en fazla 30°C'de %9 nem içeriğinde depolananları takiben %6 nem içeriğindeki tohumlarda olmuştur.

Depolama sıcaklığına bağlı olarak uygulamalar ortalama çimlenme zamanını azaltmada önemli ($p < 0.01$) etkide bulunmuştur (Çizelge 4.38). 5°C'de depolanan tohumların ortalama çimlenme zamanını depolama öncesi uygulamalardan KH_2PO_4 , 4.18 günden 3.52 güne; KNO_3 ise 3.67 güne azaltmıştır. Depolama sıcaklığının 30°C'ye yükselmesiyle çimlenme zamanı hem kontrol hem de uygulamalı tohumlarda artmakla birlikte uygulamalı tohumlarda, çimlenmede gecikme kontrole göre daha az olmuştur. 30°C'de depolanan uygulamasız tohumların çimlenme zamanı 5.92 gün iken KH_2PO_4 uygulamasıyla 4.80 güne, KNO_3 uygulamasıyla da 4.99 güne azalmıştır.

Çizelge 4.37 Depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak uygulamaların ortalama çimlenme zamanına (gün) etkileri.

Depolama Süresi	SICAKLIK	5 °C			30 °C			
		NEM UYGULAMA	%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay		Kontrol	4.21	4.17	4.56	4.86	5.48	*
		KNO ₃	3.50	3.54	3.49	3.27	3.92	5.90
		KH ₂ PO ₄	3.56	3.46	3.47	3.45	4.32	7.30
8 ay		Kontrol	3.24	3.43	4.18	4.18	4.79	*
		KNO ₃	4.56	3.04	3.58	3.99	5.12	*
		KH ₂ PO ₄	3.48	3.33	3.40	3.96	5.42	*
11 ay		Kontrol	4.57	4.21	5.05	5.34	9.77	*
		KNO ₃	3.64	3.48	4.23	4.40	5.92	*
		KH ₂ PO ₄	3.66	3.56	3.74	4.29	5.33	*

*Çimlenme olmadıktan gözlem yapılamamıştır.

Çizelge 4.38 Depolama sıcaklığına bağlı olarak tohumların ortalama çimlenme zamanındaki (gün) değişim.

SICAKLIK UYGULAMA	5 °C	30 °C
Kontrol	4.18 b	5.92 d
KNO ₃	3.67 a	4.99 c
KH ₂ PO ₄	3.52 a	4.80 c

Depolama sırasında her üç nem içeriğindeki tohumun ortalama çimlenme zamanı, depolama öncesi uygulamalarla önemli olarak azalmıştır ($p < 0.05$). Çizelge 4.39'da da görüldüğü gibi uygulamaların çimlenme hızını arttırmada en büyük etki %9 nem içeriğinde olmuştur. %9 nem içeriğindeki kontrol grubuna göre KNO₃ uygulamasıyla tohumların çimlenme zamanı 1.27 gün azalırken KH₂PO₄ uygulamasıyla da 1.34 gün azalmıştır. %6 nem içeriğindeki tohumların ortalama çimlenme zamanı da KNO₃ uygulamasıyla 0.47 gün, KH₂PO₄ uygulamasıyla da 0.61 gün azalmıştır. %12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda uygulamaların çimlenme hızını arttırmada belirgin etkisi olmamıştır. Bunun nedeni olarak, %12 nemdeki kontrol grubu tohumların ortalama çimlenme zamanı değerlerinin, 30 °C'dekilerin çimlenme güçlerini kaybetmeleri nedeniyle sadece 5 °C'de depolanan tohumların değerlerinden oluşmasını buna karşın uygulama yapılmış tohumlardaki ortalamalara 30 °C'de 2.5 ay depolanan %12 nem içeriğindeki tohumların artan ortalamalarının dahil olmasını belirtebiliriz.

Çizelge 4.39 Depolamada tohum nemi içeriğine bağlı olarak ortalama çimlenme zamanındaki (gün) değişim.

NEM UYGULAMA	%6	%9	%12
Kontrol	4.36 bcd	5.35 f	4.60 de
KNO ₃	3.89 ab	4.08 abc	4.92 ef
KH ₂ PO ₄	3.75 a	4.01 abc	4.48 cde

Depolama koşullarına bakmaksızın sadece depolama süresinin uzamasıyla uygulamaların çimlenme hızını arttırmada önemli etkileri olmuştur ($p<0.01$). 2.5 aylık depolamada uygulamasız tohumların ortalama çimlenme zamanı 4.63 gün iken depolama öncesi KH_2PO_4 uygulamasıyla 4.28 güne, KNO_3 uygulamasıyla da 4.35 güne azalmıştır. Depolamanın 8. ayında ortalama çimlenme zamanı genel olarak düşmekle birlikte KH_2PO_4 uygulamasıyla 3.75 güne azalarak çimlenme hızı çok fazla artırılmıştır. 11 aylık depolama sonunda da uygulamalar çimlenme hızını arttırmada olumlu etkilerini sürdürerek ortalama çimlenme zamanını 5.79 günden KH_2PO_4 uygulamasıyla 3.98 güne, KNO_3 uygulamasıyla 4.33 güne azalmıştır (Çizelge 4.40). Genel olarak depolama sırasında tohumların ortalama çimlenme zamanını azaltmada en etkili depolama öncesi uygulamanın KH_2PO_4 olduğunu ve bunu KNO_3 uygulamasının izlediğini belirtebiliriz.

Çizelge 4.40 Depolama süresine göre ortalama çimlenme zamanındaki (gün) değişim.

Depolama süresi UYGULAMA	2.5 ay	8 ay	11 ay
Kontrol	4.63 c	3.87 ab	5.79 d
KNO_3	4.35 bc	3.94 ab	4.33 bc
KH_2PO_4	4.28 bc	3.75 a	3.98 ab

4.3.1.3. Petride fide oluşum oranları (PFOO)

Çimlenme gücü parametresinde tohumların petri ortamında kökçük oluşturmaları esas alınmış iken aynı tohumların aynı ortamda organları belirginleşen fide oluşturma oranlarının farklı olması beklenen bir sonuçtur. Kökçük çıkışı ölçüsü tohumun canlılığını ifade eder ancak onun bitki haline dönüşümünü tam olarak ifade etmez. Bu nedenle, aynı tohumların petride bitkicik oluşturmalarının bir parametre olarak seçilmesi uygulama etkinliklerinin ortaya konması açısından daha uygundur. Bu gerekçe ile saptanan bu değerler ayrı bir başlık altında incelenmiştir.

Depolama öncesi tohumlara uygulanan KNO_3 ve KH_2PO_4 tuzlarının, depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak tohumun çimlenip fide oluşum oranına (PFOO) etkileri önemli ($p < 0.01$) bulunmuştur.

Her bir depolama süresi ayrı ayrı değerlendirildiğinde, depolama öncesi tohum uygulamalarının PFOO'nunu depolama koşullarına bağlı olarak arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.41).

Düşük sıcaklıkta 2.5 aylık depolama periyodunda, çimlenme gücünde elde edilen bulgulardan farklı olarak, depolama öncesi uygulamaların fide oluşum oranını artırarak tohumda yaşlanmayla görülen vigor kayıplarını istatistiki anlamda olmasa da geciktirdiği belirlenmiştir. 5°C 'de %6 nemde uygulamasızlarda PFOO'nı %81 iken KNO_3 (%81) ve KH_2PO_4 (%80.75) uygulamalarıyla bu değer korunmuştur. %9 nem içeriğindeki uygulamasız tohumların PFOO'nı %79'dan, KNO_3 uygulamasıyla %81.5'e, KH_2PO_4 uygulamasıyla da %79.5'e çıkmıştır. %12 nem içeriğinde uygulamaların özellikle KH_2PO_4 uygulamasının, etkileri daha da artmıştır. 5°C 'de %12 nemde PFOO'nı %78 olan uygulamasız tohumlara nazaran KH_2PO_4 uygulaması PFOO'nunu %82.75'e yükselterek bu depolama koşulunda yaşlanmanın tohum vigoruna olan olumsuz etkisini geciktirmiştir. KNO_3 uygulamasının ise bu depolama koşulunda fide oluşum oranını arttırmada önemli etkisi olmamıştır.

30°C 'de 2.5 ay depolananlarda da fide oluşum oranına uygulamaların olumlu etkisi devam etmiştir. Özellikle 30°C 'de %6 nemde depolananlarda, depolama öncesi KNO_3 uygulaması PFOO'nunu %75.5'tan %84.25'e artırarak vigor kaybını istatistiki anlamda önemli oranda engellerken, KH_2PO_4 uygulaması PFOO'nunu %77.5'a artırmasına karşın vigor kaybını büyük oranda geciktirememiştir. 30°C 'de %9 nem içeriğindeki tohumlarda ise çimlenme gücündeki iyileştirmenin aksine uygulamalar PFOO'nına önemli etkide bulunmamıştır. %12 nemde canlılık ve vigorunu kaybetmiş tohumlarda, KH_2PO_4 uygulamasıyla PFOO'nı %23.25'e artmıştır.

Çizelge 4.41 Depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların petride fide oluşum oranına (%) etkileri.

Depolama Süresi	SICAKLIK NEM	5 °C			30 °C		
		%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay	Kontrol	81.0 abcd 64.30*	79.0 abcde 62.82	78.0 abcde 62.14	75.5 bcde 60.42	74.5 cde 59.83	0.0 g 0.0
	KNO ₃	81.0 abcd 64.20	81.5 abc 64.65	78.2 abcde 62.12	84.75 a 67.10	71.7 e 57.96	0.0 g 0.0
	KH ₂ PO ₄	80.7 abcd 64.02	79.5 abcde 63.14	82.7 ab 65.66	77.5 abcde 61.74	73.5 de 59.05	23.2 f 28.17
8 ay	Kontrol	83.5 a 66.10	78.0 ab 61.91	77.7 ab 61.87	59.2 c 50.38	29.0 e 32.58	0.0 f 0.0
	KNO ₃	69.2 f 56.50	74.5 b 59.72	72.0 b 58.26	72.0 b 58.09	49.0 d 44.45	0.0 f 0.0
	KH ₂ PO ₄	74.7 b 59.95	71.7 b 58.11	76.0 ab 60.75	69.0 b 56.27	57.0 cd 49.06	0.0 f 0.0
11 ay	Kontrol	67.5 cde 55.37	78.7 a 62.62	70.0 bcde 56.84	62.5 e 52.37	0.0 h 0.0	0.0 h 0.0
	KNO ₃	74.2 abc 59.62	74.2 abc 59.63	67.2 cde 55.24	61.7 e 51.83	43.2 g 41.11	0.0 h 0.0
	KH ₂ PO ₄	71.2 abcd 57.62	76.7 ab 61.23	71.2 abcd 57.68	64.5 de 53.52	52.5 f 46.46	0.0 h 0.0

* İtalik rakamlar açısız transformasyon değerleridir

Depolamanın 8. ayında 5°C'de depolanan tohumlarda depolama öncesi uygulamalar, PFOO'nunu azaltmalarına karşın bu azalma, %6 nem içeriğinde depolananlar hariç, vigor kaybını arttıracak kadar önemli olmamıştır. Ayrıca uygulamaların fide oluşum oranını azaltıcı etkisi tohumun nem içeriğine göre de değişmiştir. Tohumların depolama öncesi KNO₃ uygulamasıyla %6 nemde PFOO'nı %83.5 ten %69.25'e azalırken, %9 nemde %78'den %74.5'a, %12 nemde ise %77.75'ten %72'ye azalmıştır. Tohumların KH₂PO₄ uygulamasıyla ise PFOO'nı %6 nemde depolamada %74.75'e, %9 nemde %71.75'e ve %12 nemde %76'ya düşmüştür. 30°C'de depolananlarda ise uygulamaların PFOO'nını artırıcı etkisi tohum neminin %6'dan %9'a artışıyla artmıştır. %6 nemde depolanan tohumların PFOO'nı, KH₂PO₄ uygulamasıyla %13, KNO₃ uygulamasıyla %10 oranında artarken, %9 nemdekilerde bu artış sırasıyla %20 ve %28 olmuştur. %12 nem içeriğinde depolanan uygulamalı ve uygulamasız tohumlar fide oluşturma gücünü kaybetmişlerdir.

Hem 5°C hem de 30°C'de 11 aylık depolama sonrasında uygulamaların, yaşlanmayla meydana gelen PFOO'ndaki kaybı önemli oranda azalttığı belirlenmiştir. 5°C'de %6 nemde uygulamasız depolanan tohumlarda PFOO'nı %67.5'a düşerken, KNO₃ uygulamasıyla %74.25'e, KH₂PO₄ uygulamasıyla da %71.25'e arttırılmıştır. %9 nem ve 5°C'de depolananlarda uygulamaların PFOO'nını arttırmada önemli etkisi olmamıştır. %12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda KNO₃ uygulaması PFOO'nını %70'den %67.25'e azaltırken KH₂PO₄ uygulaması %71.25'e çıkarmıştır. 30°C'de %6 tohum neminde depolananlarda KH₂PO₄ uygulaması, PFOO'nını %62.5'ten %64.5'a arttırmıştır. Uygulamaların fide oluşum oranını artırıcı etkisi %9 nemde depolananlarda önemli oranda olmuştur. Uygulamasız tohumlar PFOO'nını tamamen kaybederken, depolama öncesi KNO₃ uygulamasıyla PFOO'nı %43.25 ve KH₂PO₄ uygulamasıyla da %52.5'ta kalmıştır.

Depolama koşullarını dikkate alarak depolama öncesi uygulamaların genelde, artan depolama süresiyle fide oluşum oranı kaybını azalttığını belirtebiliriz. Özellikle uygulamaların bu etkisi yüksek sıcaklıkta (30°C), %6 ve %9 nemde en fazla oranda olmuştur. Depolama öncesi uygulama yapılmayan %6 nem içeriğindeki tohumların PFOO'nı 2.5 aylık depolama sonunda %75.5 iken depolamanın 8. ayında

%59.25'e, 11 ayında %62.5'a azalmıştır. Buna karşın %6 nemde KNO_3 ile uygulanmış tohumların PFOO'nı sırasıyla %84.75, %72 ve %61.75; KH_2PO_4 ile uygulanmış tohumların ise %77.5, %69 ve %64.5 olmuştur. Uygulamaların etkisi %9 nemde daha da artmıştır. Uygulamasız tohumlarda PFOO'nı 2.5 aylık depolamada %74.5 iken 11 ay sonra %0'a düşmüştür. KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarıyla PFOO'nında daha yavaş bir azalma olmuş ve 11 aylık depolama sonunda PFOO'nı sırasıyla %43.25 ve %52.5'a düşmüştür. Ancak daha depolamanın başında canlılığın tamamen kaybedildiği yüksek sıcaklık (30°C) ve yüksek tohum neminde (%12) uygulamaların da yaşlanmayı geciktirmede etkisiz kaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.41).

Düşük sıcaklıkta uygulamaların etkisi ise %6 ve 12 nem içeriğindeki tohumlarda PFOO'nı kaybının arttığı 11 aylık depolama sonunda görülmüştür. Daha önceki dönemler uygulamaların PFOO'nını artırmada önemli etkisi olmamıştır. 5°C 'de %6 nemde 11 aylık depolama sonunda, depolama öncesi uygulama yapılmayan tohumların PFOO'nı %67.5'a düşerken KNO_3 uygulananlarda %74.25'e, KH_2PO_4 uygulananlarda ise %71.25 olmuştur. 5°C 'de %12 nemdeki uygulamasız tohumlarda depolama sonunda PFOO'nı %70'e düşerken KNO_3 uygulananlarda %67.5'a düşmüş, KH_2PO_4 uygulananlarda ise %71.25 seviyesinde kalmıştır (Çizelge 4.41).

Depolama öncesi uygulamaların, dönemlere bakmaksızın depolama koşullarına bağlı olarak PFOO'nına etkilerini incelediğimizde (Çizelge 4.42), her üç tohum neminde 5°C 'de depolanan tohumlarda uygulamaların, PFOO'nını artırıcı etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın yüksek sıcaklıkta %6 nemde depolanan tohumlara KNO_3 uygulaması PFOO'nını %65.75'ten %72.83'e, KH_2PO_4 uygulaması da %70.33'e arttırmıştır. %9 nemde de PFOO'nı KNO_3 uygulamasıyla %34.5'tan %56.66'ya ve KH_2PO_4 uygulamasıyla da %61'e arttırılmıştır. Böylece, yüksek sıcaklık ve %6, %9 nem içeriğinde tohumların depolanmasıyla vigor kaybında görülen artışın, depolama öncesi KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarıyla önemli oranda azalacağını belirtebiliriz.

Çizelge 4.42 Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların petride fide oluşum oranına (%) etkisi.

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
	%6	%9	%12	%6	%9	%12
Kontrol	77.33 ab 61.92*	72.58 a 62.45	75.25 abc 60.29	65.75 e 53.19	34.5 g 30.45	0.0 h 0.0
KNO ₃	74.83 abc 60.11	76.75 abc 61.34	72.50 cd 58.87	72.83 bcd 59.01	56.66 f 48.52	0.0 h 0.0
KH ₂ PO ₄	75.58 abc 60.53	76.00 abc 60.83	76.66 abc 61.37	70.33 d 57.18	61.00 e 53.18	0.0 h 0.0

* İtalik rakamlar açısal transformasyon değerleridir

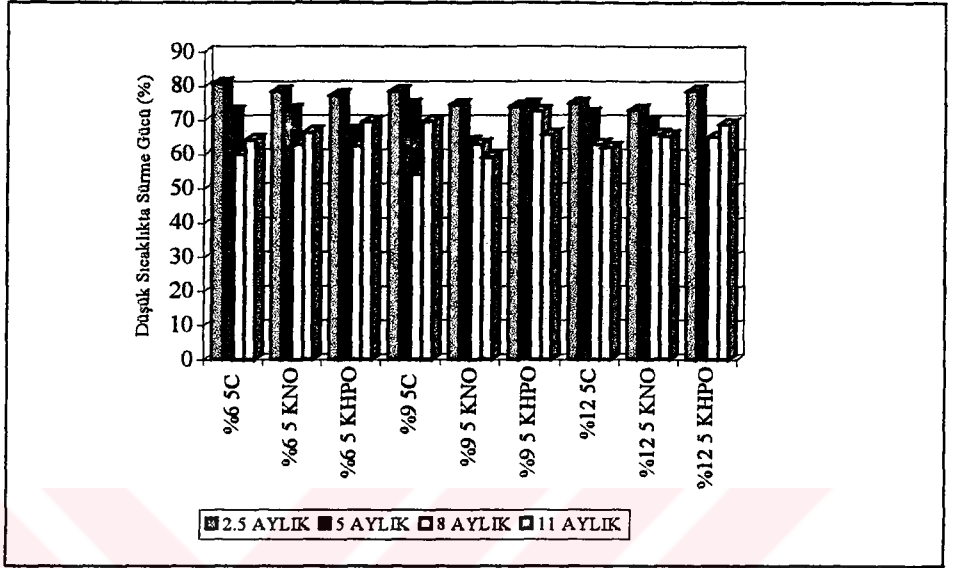
4.3.1.4. Düşük sıcaklıkta sürme gücü

Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi tohum uygulamalarının, düşük sıcaklıkta sürme gücü üzerine önemli ($p<0.05$) etkide bulunduğu belirlenmiştir. Şekil 4.16'da görüldüğü gibi 5°C'de depolanan tohumlarda artan depolama süresiyle, depolama öncesi uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücünü iyileştirme etkisi çok belirgin olmamıştır. 5°C'de her üç nem içeriğinde 2.5 ay depolanan tohumlarda, depolama öncesi uygulamaların sürme gücünü arttırmadığı, hatta 5 aylık depolama periyodunda uygulamaların sürme gücünü azalttığı, 8 ve 11 aylık depolama periyodunda ise depolama öncesi uygulamalarla düşük sıcaklıkta sürme gücünün arttırıldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.43). Buna karşın depolama süresine bağlı olarak, depolama öncesi uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücünü arttırıcı etkileri, vigor kaybının fazla olduğu 30°C'de depolanan tohumlarda daha önemli olmuştur (Şekil 4.17). 30°C'de her üç tohum neminde 2.5 ay depolanan tohumların sürme gücü, depolama öncesi KH_2PO_4 uygulamasıyla önemli olarak arttırılmıştır. 30°C'de 5 ay depolanan %6 nem içeriğindeki tohumlarda ise depolama öncesi KNO_3 uygulaması sürme gücünü olumsuz etkilemiş, %9 nemdekilerde ise depolama öncesi uygulamalar önemli bir etkide bulunmamıştır. Depolamanın 8 ve 11. ayında, 30°C'de %9 nem içeriğindeki tohumlarda depolama öncesi her iki uygulama da düşük sıcaklıkta sürme gücünü önemli oranda arttırmıştır (Çizelge 4.43).

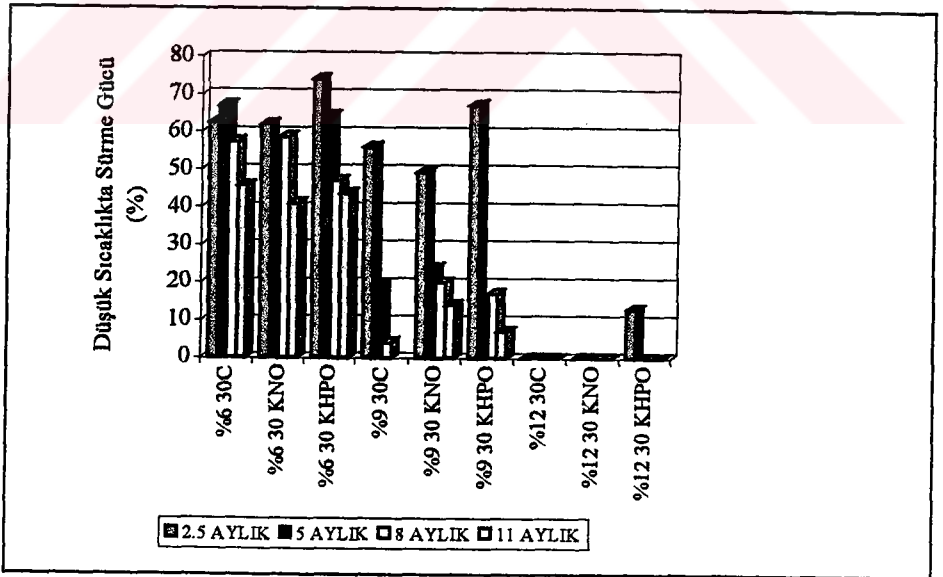
Çizelge 4.43 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkisi.

Depolama Süresi	SICAKLIK NEM	5 °C			30 °C		
		%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay	Kontrol	79.00	80.33	76.66	62.66	56.00	0.0
		62.80*	63.84	61.17	52.51	48.48	0.0
	KNO ₃	78.66	74.66	73.00	62.00	49.33	0.0
		62.60	59.85	58.80	51.97	44.64	0.0
	KH ₂ PO ₄	77.33	71.66	78.66	74.00	67.33	13.00
		61.71	57.93	62.56	59.41	55.23	17.33
	Kontrol	75.33	74.66	72.00	67.00	19.66	0.0
		60.26	59.96	58.08	54.98	25.62	0.0
5 ay	KNO ₃	73.00	63.66	69.33	44.00	24.00	0.0
		58.72	53.27	56.51	41.14	29.29	0.0
	KH ₂ PO ₄	67.00	74.66	59.00	64.33	14.33	0.0
		54.98	59.95	50.22	53.44	22.09	0.0
	Kontrol	60.00	66.66	62.66	57.33	4.00	0.0
		50.91	54.79	52.46	49.27	6.76	0.0
	KNO ₃	67.33	67.00	69.33	58.66	20.00	0.0
		55.21	54.97	56.41	50.05	26.57	0.0
8 ay	KH ₂ PO ₄	62.66	72.66	65.33	47.00	17.00	0.0
		52.62	58.51	54.21	43.29	24.01	0.0
	Kontrol	64.33	69.66	62.00	45.66	0.00	0.0
		53.36	56.66	51.99	42.48	0.0	0.0
11 ay	KNO ₃	66.66	59.33	65.66	41.00	14.00	0.0
		54.78	50.44	54.18	39.74	18.19	0.0
	KH ₂ PO ₄	69.66	66.00	69.00	43.66	14.00	0.0
		56.62	54.36	56.22	41.36	21.98	0.0

* İtalik rakamlar açısız transformasyon değerleridir



Şekil 4.16 5°C'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkisi.



Şekil 4.17 30°C'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkisi.

Depolama süresine bakmaksızın depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların, tohumların düşük sıcaklıkta sürme gücünü önemli olarak ($p<0.01$) arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.44). Çizelge 4.44'de de görüldüğü gibi 5°C sıcaklıkta depolanan tohumlarda, depolama öncesi uygulamaların sürme gücünü artırmada etkileri istatistiki önemde olmamıştır. 5°C'de KNO₃ uygulamasıyla %6 nemde depolanan tohumların sürme gücü %69.66'dan %71.41'e, %12 nemdekilerde de %68.33'ten %69.33'e; %9 nem içeriğindeki tohumlar ise KH₂PO₄ uygulamasıyla %70.32'den %71.24'e çıkmıştır. Depolama sıcaklığının 30°C'ye çıkmasıyla hem kontrol grubu hem de depolama öncesi uygulama yapılmış tohumların düşük sıcaklıkta sürme gücünde önemli azalmalar olmuştur. 30°C'de %6 ve %12 nemde depolanan tohumlarda uygulamaların sürme gücünü artırıcı etkisi olmamıştır. Buna karşın 30°C'de %9 nem içeriğinde depolanan tohumların düşük sıcaklıkta sürme gücü, depolama öncesi KNO₃ uygulamasıyla %20.65'ten %26.83'e, KH₂PO₄ uygulamasıyla da %28.16'ya çıkmıştır.

Çizelge 4.44 Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların düşük sıcaklıkta sürme gücüne (%) etkileri.

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
	%6	%9	%12	%6	%9	%12
Kontrol	69.66 a	70.32 a	68.33 a	58.16 b	20.65 d	0.0 e
	56.83 *	57.33	55.92	49.81	20.96	0.0
KNO ₃	71.41 a	66.16 a	69.33 a	51.41 b	26.83 c	0.0 e
	57.83	54.63	56.48	45.73	29.96	0.0
KH ₂ PO ₄	69.16 a	71.24 a	67.99 a	57.25 b	28.16 c	3.25 e
	56.48	57.69	55.80	49.38	32.60	4.33

* İtalik rakamlar açısıl transformasyon değerleridir

4.3.1.5. Anormal fide oluşumundaki değişim

Depolama koşullarına ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların anormal fide oluşumu üzerine etkileri, 30°C'de %12 nem içeriğindeki tohumların fide oluşturmaması nedeniyle istatistiki olarak değerlendirilememiştir. Genel olarak değerlendirdiğimizde, depolama öncesi hem uygulamalı hem de uygulamasız tohumlarda depolama koşullarına bağlı olarak yaşlanmanın artışıyla anormal fide oluşum oranı artmış olmakla birlikte uygulamalı tohumlarda bu artış daha az olmuştur (Çizelge 4.45). 2.5 aylık depolama sırasında uygulamasız tohumlarda tüm depolama koşullarında anormal fide oluşumu görülürken depolama öncesi KH_2PO_4 ve KNO_3 uygulamalarıyla anormal fide oluşumu olmamıştır. Depolamanın 8. ayında ise 5°C'de depolanan tohumlar ile 30°C'de %9 nem içeriğindeki tohumlarda, depolama öncesi uygulamalar uygulamasız tohumlara nazaran anormal fide oluşumunu artırırken 30°C'de %6 nem içeriğindeki tohumlarda KH_2PO_4 ve KNO_3 uygulamaları anormal fide oluşumunu azaltmıştır. 11 aylık depolama sonunda da yine depolama öncesi uygulamalar, 5°C ve 30°C'de depolanan tohumlarda anormal fide oluşumunu azaltmıştır.

Depolama öncesi uygulamaların depo koşullarına bağlı olarak anormal fide oluşumunu azaltma etkilerinin, depolamanın başlangıcında (2.5 ay) en fazla olduğunu; bu etkinin depolamanın 8. ayında görülmediğini ve 11. ayında ise etkinin azalmakla beraber bu dönemde uygulamalarla anormal fide oluşumunda az da olsa azalmalar olduğunu belirtebiliriz. Ayrıca uygulamaların anormal fide oluşumunu azaltma etkisinin depolama süresine bağlı olarak 30°C'de %6 nemde depolanan tohumlarda olduğu görülmüştür. Ortalama olarak 30°C'de %6 nem içeriğindeki tohumların anormal fide oluşturma oranı %19.11 iken KNO_3 uygulamasıyla 10.44'e ve KH_2PO_4 uygulamasıyla da 9.71'e azalmıştır. 30°C'de tohumun nem içeriği arttıkça uygulamaların anormal fide oluşumu üzerine olumlu etkisi olmamıştır. 5°C'deki tohumlarda depolama öncesi uygulamalar anormal fide oluşumunu az oranda etkilemiş ve en fazla etki depolamanın 11. ayında %6 ve %12 nem içeriğindeki tohumlarda görülmüştür (Çizelge 4.45).

Çizelge 4.45 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların anormal fide oranına (%) etkileri.

Depolama Süresi	SICAKLIK	5 °C				30 °C			
		%6	%9	%12	%12	%6	%9	%12	
2.5 ay	Kontrol	0.79	3.75	6.32	18.86	3.67	3.67	**	
		2.96*	9.68	14.11	25.38	9.52	9.52		
	KNO ₃	0	0	0	0	0	0	*	
		0	0	0	0	0	0		
8 ay	KH ₂ PO ₄	0	0	0	0	0	0	*	
		0	0	0	0	0	0		
	Kontrol	4.00	7.45	5.65	12.91	20.67	20.67	*	
		11.07	15.70	13.67	20.82	26.64	26.64		
11 ay	KNO ₃	10.97	9.89	8.52	12.09	22.17	22.17	*	
		19.19	18.30	16.85	20.33	28.07	28.07		
	KH ₂ PO ₄	8.65	11.11	8.59	11.63	22.49	22.49	*	
		17.07	19.29	16.97	19.83	28.31	28.31		
	Kontrol	21.27	13.46	20.71	25.56	**	**	*	
		27.41	21.21	27.09	30.07				
	KNO ₃	13.09	12.28	17.69	19.24	28.08	28.08	*	
		20.91	20.49	24.83	25.99	31.91	31.91		
	KH ₂ PO ₄	12.09	12.26	15.38	17.52	28.13	28.13	*	
		20.31	20.46	22.89	24.50	32.04	32.04		

* İtaliye rakamları açışal transformasyon değerleridir

AY GÖZÜMÜ YAPILANLAR

Depolama koşulları ve süresine bakmaksızın depolama öncesi tohum uygulamaları, anormal fide oluşumunu önemli derecede azaltmıştır ($p<0.01$). Çizelge 4.46'da görüldüğü gibi uygulamasız tohumlar %11.82 oranında anormal fide oluştururken KNO_3 uygulamasıyla anormal fide oranı %10.26'ya, KH_2PO_4 uygulamasıyla da %9.86'ya düşmüştür.

Çizelge 4.46 Depolama öncesi uygulamaların anormal fide oluşumuna etkisi.

UYGULAMALAR	Anormal fide oranı (%)
Kontrol	11.82 b 17.24
KNO_3	10.26 a 14.69
KH_2PO_4	9.86 a 13.68

4.3.1.7. Tohumdan sızan madde miktarındaki değişim

Depolama öncesi uygulamaların yaşlanmayla meydana gelen membran zararını iyileştirmedeki etkinliklerini belirlemek amacıyla tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği, potasyum ve aminoasit miktarı ölçülmüştür.

Tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğini ele aldığımızda, depolama öncesi uygulamaların, depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak tohumdan madde sızıntısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Çizelge 4.47'den de görüldüğü gibi genelde, hem uygulamalı hem de uygulamasız tohumlardan madde sızıntısı, depolama koşullarına bağlı olarak artan depolama süresiyle artmıştır. Ancak depolama öncesi uygulama yapılmış tohumlarda bu artış daha az olmuştur. Tüm depolama koşullarında artan depolama süresiyle tohumdan sızan madde miktarını azaltıcı uygulama olarak KH_2PO_4 etkili

görülmektedir. Buna karşın tohumlara depolama öncesi KNO_3 uygulaması, depolama süresinin artışıyla tüm depolama koşullarında madde sızıntısını arttırmıştır.

İstatistiki etkinin yakalandığı 2.5 aylık depolama süresinde tohum nemi ve depolama sıcaklığına bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan madde miktarı üzerine önemli etkide bulunduğu görülmüştür ($p < 0.05$). 5°C 'de her üç tohum neminde depolanan tohumlarda depolama öncesi KH_2PO_4 uygulaması tohumdan madde sızıntısını önemli derecede azaltmıştır. Buna karşın bu uygulama 30°C 'de %9 ve %12 nem içeriğindeki tohumlarda madde sızıntısını azaltmada etkili olmuştur (Çizelge 4.47).

Depolamanın 5. ayında da KH_2PO_4 uygulamasının 5°C 'de depolanan tohumlardan madde sızıntısını istatistiksel olarak önemli olmamakla beraber azalttığı, 30°C 'de depolananlarda ise bu etkinin %6 ve %12 nem içeriğindeki tohumlarda olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 8. ve 11. aylarında KH_2PO_4 uygulamasının tohumdan sızan madde miktarını azaltma etkisi azalmıştır.

Çizelge 4.47 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların tohumdan sıızan maddelerin elektriki iletkenlik miktarına (mMhos/gtohum) etkisi.

Depolama Süresi	SICAKLIK	5 °C			30 °C		
		%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay	NEM UYGULAMA						
	Kontrol	118.42 cde	113.62 bc	116.82 cd	119.00 cdef	133.31 g	206.66 i
	KNO ₃	125.33 defg	127.55 fg	131.11 g	125.66 efg	155.55 h	209.33 i
5 ay	KH ₂ PO ₄	104.44 a	106.22 ab	107.55 ab	119.69 cdef	126.26 efg	195.65 i
	Kontrol	120.89	120.76	118.70	127.66	151.42	213.22
	KNO ₃	133.33	126.66	133.33	142.22	157.78	228.88
8 ay	KH ₂ PO ₄	108.88	108.89	111.11	120.66	155.55	206.67
	Kontrol	134.39	127.55	129.91	139.15	163.19	242.22
	KNO ₃	137.56	137.30	126.85	146.81	166.14	251.11
11 ay	KH ₂ PO ₄	126.34	124.44	123.87	137.19	162.12	212.68
	Kontrol	135.70	129.72	129.27	148.88	169.22	242.22
	KNO ₃	141.18	143.37	144.65	149.48	175.84	259.56
	KH ₂ PO ₄	131.98	130.28	141.45	135.04	179.20	238.24

Depolama süresinin uzamasıyla KH_2PO_4 uygulaması, madde sızıntısını önemli derecede azaltmıştır (Çizelge 4.48). 2.5 aylık depolama sonunda uygulamasız tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliği 134.64 mMHos iken depolama öncesi KH_2PO_4 uygulamasıyla 126.64 mMHos'a azalmıştır. Depolamanın 5. ayında KH_2PO_4 uygulaması tohumdan madde sızıntısını azaltmakla birlikte, bu azalma istatistiki önemde olmamıştır. 8 aylık depolama sonunda da KH_2PO_4 uygulaması, tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğini 156.07 mMHos'tan 147.77 mMHos'a düşürürken 11 aylık depolamada etkisi devam etmemiştir.

Farklı depolama koşullarında yaşanan soğan tohumlarında, depolama öncesi KH_2PO_4 uygulamasının tohumdan sızan madde miktarındaki azalma, uygulama sırasında tohumda artan metabolitlerin yaşanmayla meydana gelen membran zararını geciktirmesinden kaynaklanabilir. Nitekim Sung and Chang (1993) mısır tohumlarında hidrasyon ve ön uygulamaların tohumdan madde sızıntısını azaltarak tohumun membran yapısının iyileştirildiğini ve böylece membran bağlı enzimlerin aktivasyonunun dolayısıyla protein sentezinin artacağını belirtmişlerdir. Basra and Malik (1994) de yaşlanmış soğan tohumlarında PEG uygulamasının tohumdan elektrolit sızıntısını azalttığını belirleyerek ön uygulama sırasında membran zararını iyileştirici mekanizmanın varlığını ileri sürmüşleridir.

Çizelge 4.48 Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenlik miktarına (mMHos/gtohum) etkisi.

Depolama Süresi UYGULAMALAR	2.5 ay	5 ay	8 ay	11 ay
Kontrol	134.64 b	142.11 a	156.07 b	159.17 a
KNO_3	145.65 c	153.70 b	160.96 b	169.01 b
KH_2PO_4	126.64 a	135.29 a	147.77 a	159.37 a

Tohumda membran geçirgenliğindeki bozulmanın diğer parametresi olan tohumdan sızan potasyum miktarının, depolama süresinin artışıyla farklı koşullarda depolanan uygulamalı tohumlarda önemli ($p<0.05$) derecede arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.49). Uygulamaların yaşanmaya bağlı olarak tohumdan sızan potasyum miktarını artırmasının muhtemel nedeni, tohumun potasyum tuzları ile muamelesi sırasında tohumda tutulan potasyumun bekletilen suya geçmesi olabilir. Nitekim tohumdan sızan maddelerin elektrik iletkenliğinin uygulamasızlara göre KH_2PO_4 uygulamasıyla azalması da bunu desteklemektedir.

Depolama süresi ve koşullarına bakmaksızın sadece depolama öncesi uygulamalar, tohumdan sızan potasyum miktarını istatistiki önemde ($p<0.01$) arttırmışlardır. Tohumdan potasyum miktarının artışı en fazla depolama öncesi KNO_3 uygulamasıyla olmuştur (Çizelge 4.50). Uygulamasız tohumlarda tohumdan sızan potasyum miktarı 28.13ppm/g tohum iken KH_2PO_4 uygulamasıyla 37.58ppm/g tohum'a, KNO_3 uygulamasıyla da 42.01ppm/g tohum'a çıkmıştır. Tohumdan sızan maddelerin elektrik iletkenliğinde de KNO_3 uygulaması, KH_2PO_4 uygulamasına nazaran daha fazla olması, bu artışın potasyum miktarından kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu durumda KNO_3 uygulamasının membran geçirgenliğindeki bozulmayı geciktirmekte daha az etkili olarak, uygulama sırasında tohumda tutulan potasyumu dışarıya verdiğini düşünebiliriz.

Depolama koşullarına bağlı olarak hem uygulamalı hem de uygulamasız tohumlarda potasyum sızıntısındaki artış, depolama sıcaklığının ve tohum neminin yükselmesiyle artış göstermiştir.

Çizelge 4.49 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların tohumdan sızan potasyum miktarına (ppm/g tohum) etkisi.

Depolama Süresi	SICAKLIK NEM UYGULAMALAR	5 °C			30 °C		
		%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay	Kontrol	23.21	22.48	22.95	22.81	24.54	39.50
	KNO ₃	39.69	38.64	40.07	31.31	36.77	52.65
	KH ₂ PO ₄	29.80	32.18	31.75	27.02	28.28	45.64
5 ay	Kontrol	23.79	22.16	22.59	24.22	28.04	43.19
	KNO ₃	38.60	34.45	35.44	39.18	41.34	67.00
	KH ₂ PO ₄	29.74	30.06	33.05	30.36	46.29	60.05
8 ay	Kontrol	22.60	22.24	22.73	24.60	36.29	48.64
	KNO ₃	34.88	35.34	33.49	35.33	57.41	78.33
	KH ₂ PO ₄	33.71	39.88	35.99	34.31	42.72	63.77
11 ay	Kontrol	23.89	23.49	23.53	25.00	35.47	47.22
	KNO ₃	27.21	27.14	34.37	39.68	45.07	65.23
	KH ₂ PO ₄	26.05	23.90	30.01	34.03	47.80	65.56

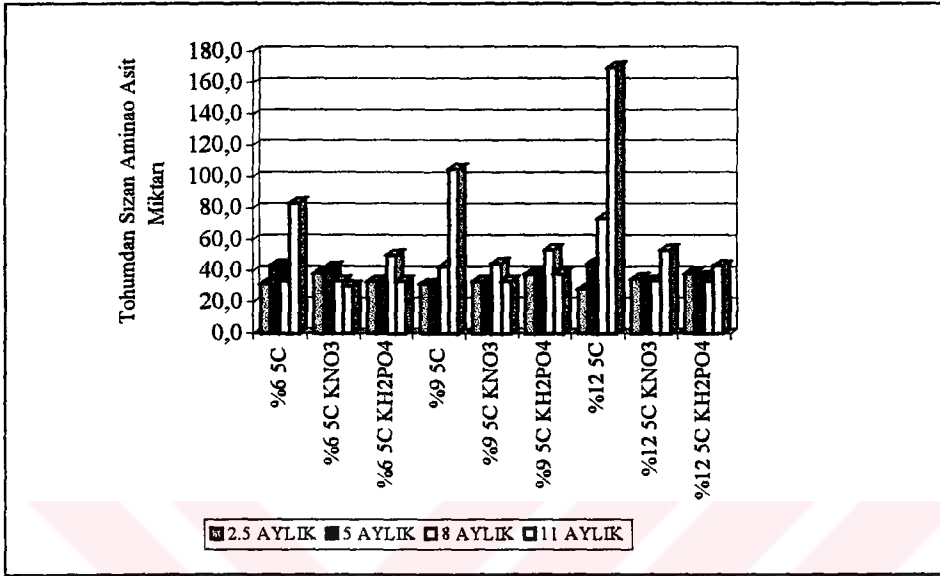
Çizelge 4.50 Uygulamaların tohumdan sızan potasyum miktarına (ppm/g tohum) etkisi.

UYGULAMALAR	Potasyum Miktarı (ppm/g tohum)
Kontrol	28.13 a
KNO ₃	42.01 c
KH ₂ PO ₄	37.58 b

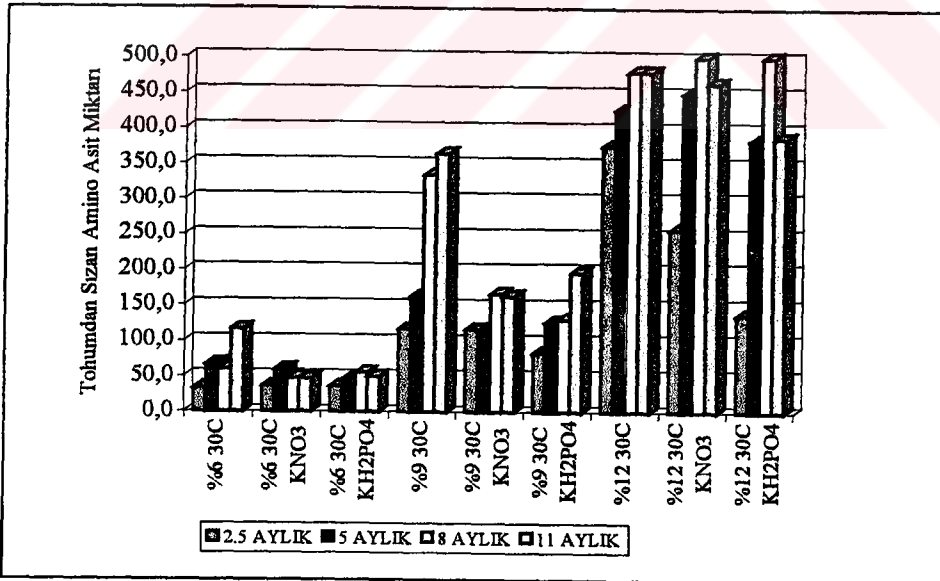
Tohumlarda membran bozulmasının diğer göstergesi olan tohumdan sızan aminoasit miktarının, artan depolama süresiyle farklı sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumlarda depolama öncesi uygulamalarla önemli derecede ($p<0.01$) azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.51). Depolama süresince uygulamalar, 5°C'de depolanan tohumlarda depolamanın ilk 8 ayında aminoasit sızıntısında önemli azalmalara neden olmazken, depolamanın 11. ayından itibaren tohum neminin artışıyla uygulamaların etkileri de artmıştır (Şekil 4.18). 5°C'de depolanan uygulamaz tohumlardan %6 neme sahip olanlardan sızan aminoasit miktarı, 2.5 aylık depolama sonrası 32 µM/g tohum iken 11 ay depolama sonrasında 83 µM/g tohum'a çıkmış ancak KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamalarıyla bu miktar sırasıyla 30 µM/g tohum ve 33 µM/g tohum'a azalmıştır. 5°C'de %9 ve %12 nem içeriğindeki tohumlarda 11 aylık depolama sonunda uygulamaların, tohumdan aminoasit sızıntısını azaltma etkileri daha belirgin olmuştur. %9 ve %12 nemdeki uygulamaz tohumlarda 105 µM/g tohum ve 170 µM/g tohum'a çıkan aminoasit sızıntısı, KNO₃ uygulamasıyla 33 µM/g tohum ve 53 µM/g tohum'a; KH₂PO₄ uygulamasıyla da 38 µM/g tohum ve 43 µM/g tohum'a düşmüştür. 30°C'de ise tohum neminin artışıyla depolamanın ilk aylarından itibaren uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarını azalttığı belirlenmiştir. 30°C'de 2.5 aylık depolama sırasında sadece %9 ve %12 nem içeriğindeki tohumlarda aminoasit sızıntısını azaltmada uygulamaların etkileri görülürken, depolamanın 5. ayında uygulamaların %6 nemde depolanan tohumlarda da aminoasit sızıntısını azalttığı belirlenmiştir. 8 aylık depolama sonrasında %12 nem içeriğindeki tohumlarda uygulamaların aminoasit sızıntısını azaltmada etkileri görülmezken, 11 aylık depolama sonrasında tüm nem içeriklerinde uygulamalar tohumdan sızan aminoasit miktarını azaltmıştır (Şekil 4.19).

Çizelge 4.51 Depolama koşulları ve süresine bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarına ($\mu\text{M/g}$ tohum) etkisi.

Depolama Süresi	SICAKLIK NEM UYGULAMALAR	5 °C			30 °C		
		%6	%9	%12	%6	%9	%12
2.5 ay	Kontrol	32	32	28	33	117	373
	KNO ₃	38	33	35	37	117	257
	KH ₂ PO ₄	33	38	38	37	83	197
5 ay	Kontrol	43	32	45	67	163	426
	KNO ₃	42	33	33	60	115	450
	KH ₂ PO ₄	30	32	37	47	127	383
8 ay	Kontrol	33	43	74	60	333	480
	KNO ₃	33	45	33	47	117	500
	KH ₂ PO ₄	50	53	33	55	130	500
11 ay	Kontrol	83	105	170	117	363	480
	KNO ₃	30	33	53	47	163	463
	KH ₂ PO ₄	33	38	43	50	197	386



Şekil 4.18 5°C 'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların aminoasit sızıntısına ($\mu\text{M/g}$ tohum) etkileri.



Şekil 4.19 30°C 'de depolanan tohumlarda depolama süresine bağlı olarak uygulamaların aminoasit sızıntısına ($\mu\text{M/g}$ tohum) etkileri.

Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların aminoasit sızıntısını azaltma etkisi depolama sıcaklığının artışıyla artmıştır (Çizelge 4.52).

Çizelge 4.52 Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarına ($\mu\text{M/g}$ tohum) etkileri.

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM UYGULAMA	%6	%9	%12	%6	%9	%12
Kontrol	48 ab	53 ab	79 c	69 bc	244 e	440 h
KNO ₃	36 a	36 a	39 a	47 ab	140 d	417 g
KH ₂ PO ₄	37 a	40 a	38 a	47 ab	134 d	367 f

5 °C'de depolanan tohumlarda uygulamalar aminoasit sızıntısını azaltmışlardır. Ancak bu depolama sıcaklığında en fazla etki %12 nem içeriğinde depolanan tohumlarda olmuştur. 5 °C'de %12 nemde depolanan tohumlardan sızan aminoasit miktarı 79 $\mu\text{M/g}$ tohum iken, KNO₃ uygulamasıyla 39 $\mu\text{M/g}$ tohum'a, KH₂PO₄ uygulamasıyla da 38 $\mu\text{M/g}$ tohum'a azalmıştır.

30 °C'de depolananlarda uygulamaların etkileri tohumun nem içeriğine göre değişmekle birlikte 5 °C'de depolananlara nazaran daha da artmıştır. 30 °C'de %6 ve %9 nem içeriğindeki tohumlarda depolama öncesi uygulamalar, tohumdan aminoasit sızıntısını en fazla oranda önlemişlerdir. 5 °C'de %6 nemdeki tohumlarda KNO₃ uygulamasıyla aminoasit sızıntısı, uygulamasız tohumlara kıyasla yaklaşık %25, KH₂PO₄ uygulamasıyla %23 oranında azalırken, 30 °C'de %6 nem içeriğindeki tohumlarda her iki uygulamayla da %31 oranında azalmıştır. Uygulamaların aminoasit sızıntısını azaltma etkisi tohum neminin %9'a yükselmesiyle artmıştır. %9 nem içeriğindeki tohumlardan aminoasit sızıntısı, 5 °C'de depolananlarda kontrole göre KNO₃ uygulamasıyla %30, KH₂PO₄ uygulamasıyla %23 oranında azaltılmış; 30 °C'dekilerde uygulamalarla sırasıyla %40 ve %45 oranında azaltılmıştır. Ancak

uygulamaların bu etkisi 30°C'de %12 nemde depolanan tohumlarda önemli derecede azalmıştır. Bu depolama koşullarında KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamaları, aminoasit sızıntısını kontrole göre sırasıyla %5 ve %16 oranında azaltmışlardır.

Depolama süresinin artışına bağlı olarak depolama öncesi uygulamalar tohumdan sızan aminoasit miktarını önemli olarak azaltmışlardır ($p < 0.01$). Depolama öncesi KNO₃ uygulaması 2.5 aylık depolama sonunda aminoasit sızıntısını %15.5, 5. aylık depolamada %5; 8 aylık depolanmada %19 ve 11 aylık depolamada da %40 oranında azaltmıştır. KH₂PO₄ uygulaması ise depolamanın başlangıcında (2.5 ay) %30 oranında hızlı azalmaya neden olurken, depolamanın 5 ve 8. ayında azaltma hızı yavaşlayarak sırasıyla %15.5 ve %20 olmuştur. 11 aylık depolama sonunda KH₂PO₄ uygulamasıyla tohumdan sızan aminoasit miktarı %44 oranında azalmıştır (Çizelge 4.53).

Çizelge 4.53 Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların tohumdan sızan aminoasit miktarına ($\mu\text{M/g}$ tohum) etkileri.

Depolama Süresi UYGULAMALAR	2.5 ay	5 ay	8 ay	11 ay
Kontrol	102 bc	129 e	170 f	220 g
KNO ₃	86 ab	122 de	137 e	132 e
KH ₂ PO ₄	71 a	109 cd	137 e	125 de

Depolama öncesi KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamalarıyla tohumdan sızan aminoasit miktarının depolama süresi ve koşullarına göre azalmasına karşılık potasyum sızıntısı özellikle KNO₃ uygulamasında artmıştır. Bunun sonucu olarak da uygulamalara bağlı olarak tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğindeki artış, aminoasit sızıntısından ziyade potasyum sızıntısındaki artıştan kaynaklanmıştır. Ayrıca potasyum tuzlarıyla uygulanmış tohumlarda potasyum sızıntı miktarını belirlemenin membran geçirgenliğinin bozulumunu belirlemede iyi bir parametre olamayacağını buna karşın aminoasit sızıntısının tohumdan geçirgenliği iyi temsil edebileceğini belirtebiliriz.

Depolama öncesi potasyum tuzlarıyla uygulanmasıyla depolama sırasında tohumlardan sızan aminoasit miktarı azalmıştır. Bu azalmanın, depolama öncesi uygulamaların yaşlanmayla meydana gelen membran zararlanmasını geciktirmesi yanısıra tohumda protein parçalanmasını azaltmasının göstergesi olabileceğini belirtebiliriz. Buna karşın Pandey (1986), 28 °C'de 3 yıla kadar yaşlandırdığı fasulye tohumlarında PEG ile ön uygulamanın, tohumdan aminoasit ve şeker sızıntısının arttığını, bunun da ön uygulama sırasında büyük oranda metabolik aktivitenin göstergesi olduğunu belirtmiştir.

4.3.2. Tohum metabolitlerindeki değişim

4.3.2.1. Tohumların protein içeriğindeki değişim

Depolama süresine bağlı olarak farklı koşullarda depolanan tohumlarda yapılan uygulamalar, tohumların protein içeriğini önemli oranda değiştirmemiştir. Buna karşın, depolama öncesi tohumların KNO₃ veya KH₂PO₄ uygulanması, depolama süresinin artışıyla protein içeriğini önemli olarak arttırmıştır ($p < 0.01$). Çizelge 4.54'de de görüldüğü gibi, uygulamasız tohumlarda yaşlanmayla protein içeriğinde hızlı bir azalma olurken depolama öncesi uygulamalarla tohumların protein içeriğinde azalma daha yavaş olmuştur. Ayrıca uygulamalar, tohumların total protein içeriğini de arttırmışlardır. Mısır tohumlarında da hidrasyon ve ön uygulamalarla tohumun membran yapısının iyileştirilerek membran bağlı enzimlerin aktivasyonu dolayısıyla protein sentezinin artacağını belirterek, eriyebilir proteinlerde artış olduğu belirlenmiştir (Sung and Chang, 1993).

Çizelge 4.54. Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların total protein (%) üzerine etkileri

DÖNEM UYGULAMA	2.5 ay	5 ay	8 ay	11 ay
Kontrol	21.52 bc	21.51 bc	21.20 c	20.60 d
KNO ₃	22.56 a	22.86 a	22.65 a	21.76 b
KH ₂ PO ₄	22.92 a	22.75 a	22.74 a	21.21 c

2.5 aylık dönemde uygulama yapılmadan depolanan tohumların protein içeriği %21.52 iken KNO_3 uygulamasıyla %22.56'ya KH_2PO_4 uygulamasıyla da %22.92'ye yükselmiştir. Depolama öncesi uygulamalarla tohumların protein içeriği 8 ay depolama boyunca azalma olmaksızın korunmuştur. 8 aylık depolama sonunda uygulamasız tohumların protein içeriği %21.20'ye düşerken KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarıyla sırasıyla %22.65 ve %22.74 gibi yüksek değerlerde kalmıştır. Depolamanın 11. ayında uygulamasız tohumlarda protein içeriği daha da azalarak %20.60 düşerken KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulananlarda az bir azalma ile %21.76 ve %21.21 değerlerine düşmüştür.

Depolama koşullarından sıcaklığa bağlı olarak uygulamalar protein içeriğini önemli($p<0.05$) olarak arttırmışlardır(Çizelge 4.55). 5°C 'de depolanan uygulamasız tohumların protein içeriği %21.58 iken; KNO_3 uygulamasıyla %22.68'e, KH_2PO_4 uygulamasıyla da %22.57'ye çıkmıştır. 30°C 'de ise uygulamasız tohumların protein içeriği %20.83'den KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarıyla %22.23'e artmıştır. Ayrıca depolama sıcaklığının artışına bağlı olarak tohumların protein içeriği azalmakla birlikte bu azalma depolama öncesi uygulamalı tohumlarda daha az olmuştur. 5°C 'de uygulama yapılmadan depolanan tohumların protein içeriği ortalama %21.58 iken 30°C 'dekilerde 0.75 oranında azalma göstererek %20.83'e düşmüştür. Buna karşın KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulanmış tohumlardan 30°C 'de depolananlar 5°C 'dekilere kıyasla sırasıyla 0.45 ve 0.44 oranında azalma göstermiştir.

Çizelge 4.55 Depolama sıcaklığına bağlı olarak uygulamaların protein içeriğine (%) etkileri.

SICAKLIK UYGULAMALAR	5°C	30°C
Kontrol	21.58 c	20.83 d
KNO_3	22.68 a	22.23 b
KH_2PO_4	22.57 a	22.23 b

Depolama sıcaklığı yanı sıra depolama sırasında tohumun nem içeriğine göre tohumların protein içeriği uygulamalarla önemli($p<0.01$) olarak değişmiştir (Çizelge 4.56). Depolama öncesi uygulamalı tohumların protein içeriği, uygulamasızlara nazaran depolama sırasında her üç tohum neminde de daha az oranda azalmıştır. %6 nemde depolanan tohumların protein içeriği %21.46 iken KNO_3 uygulamasıyla yaklaşık %1.4'lük, KH_2PO_4 uygulamasıyla da %1.5'luk artış sağlamıştır. %9 nem içeriğindeki uygulamasız tohumlarda protein içeriği %21.17'ye azalırken her iki uygulamayla yaklaşık %1.4 oranında artış göstermiştir. %12 nemde depolananlarda depolanan uygulamasız tohumlarda protein miktarı %21'e azalmıştır. Bu nem içeriğindeki tohumlarda uygulamaların protein azalmasını önleme etkisi azalmakla birlikte uygulamasız tohumlara nazaran protein içeriği daha yüksek değerlerde olmuştur.

Çizelge 4.56 Tohumun nem içeriğine bağlı olarak uygulamaların protein içeriğine (%) etkileri.

NEM UYGULAMALAR	%6	%9	%12
Kontrol	21.46 de	21.17 ef	21.00 f
KNO_3	22.83 a	22.57 b	21.97 d
KH_2PO_4	22.98 a	22.53 b	21.70 d

Depolama süresince KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarıyla özellikle uygulamasız tohumlara nazaran canlılık ve vigor kayıplarının önemli oranda azaltıldığı $30^\circ C$ 'de depolanan tohumlarda protein içeriği fazla olmuştur (Çizelge 4.57). Bu nedenle depolama öncesi uygulamalı tohumların içerdikleri fazla protein nedeniyle tohumların canlılık ve vigorunu arttırarak, yaşlanmayı geciktirici etkide bulunduğunu belirtebiliriz. Ayrıca uygulamalı tohumda protein içeriğinin fazla olmasının; çimlenme sırasında yeni protein sentezini beklemeksizin tohumda hazır bulunan bu proteinlerin kullanılarak çimlenme ve sürme gücünde artış yanı sıra çimlenme hızını da arttırarak fide gelişimini de olumlu yönde etkileyebileceğini belirtebiliriz.

Uygulamalarla tohumların protein içeriğindeki artışa bağlı olarak canlılık ve vigorun iyileştirilmesindeki etkiyi en iyi olarak, 30 °C'de %9 nemde depolanan tohumlarda görmek mümkündür (Çizelge 4.57). KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamalarıyla protein içeriğinin, kontrole göre sırasıyla %1.69 ve %1.62 oranda arttırıldığı bu depolama koşulunda; uygulamasız tohumların çimlenme gücü depolama sonunda %4'e düşerken, KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamalarıyla %70 ve 80'e (Çizelge 4.35) çıkmıştır. Fide oluşum oranı da %0'dan uygulamalarla %43 ve %52'ye yükselmiştir (Çizelge 4.41). Aynı zamanda bu depolama koşulundaki tohumların ortalama çimlenme zamanı da uygulamalarla azalmıştır. Buna karşın 30 °C'de %12 nem içeriğinde depolananlarda KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamalarıyla protein içeriğindeki %1.2 ve %1.09 oranındaki artış, yaşlanmayla oluşan canlılık kaybını engelleyememiştir.

Çizelge 4.57 Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların total protein içeriğine (%) etkileri.

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM UYGULAMA	%6	%9	%12	%6	%9	%12
Kontrol	21.61	21.62	21.52	21.30	20.71	20.47
KNO ₃	23.02	22.75	22.27	22.63	22.40	21.67
KH ₂ PO ₄	23.16	22.73	21.84	22.81	22.33	21.56

4.3.2.2. Tohumların şeker içeriğindeki değişim

Depolama süresi ve koşullarına bağlı olarak, uygulamaların tohumun şeker içeriği üzerine etkileri önemli olmamıştır. Ancak, depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi KNO₃ ve KH₂PO₄ uygulamalarıyla tohumların şeker içeriği önemli olarak değişmiştir (Çizelge 4.58)

Çizelge 4.58 Depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların tohumun şeker içeriğine (%) etkisi.

SICAKLIK	5 °C			30 °C		
NEM UYGULAMA	%6	%9	%12	%6	%9	%12
Kontrol	3.18 cd	3.22 bc	3.19 bcd	3.00 def	2.93 ef	1.30 h
KNO ₃	3.59 a	3.65 a	3.50 a	3.06 cde	3.00 def	1.66 g
KH ₂ PO ₄	3.51 a	3.50 a	3.29 a	2.90 ef	2.85 f	1.77 g

5°C'de depolanan tohumlarda nem içeriğine göre değişmekle birlikte, uygulamalar tohumun şeker içeriğini arttırmışlardır. Şeker içeriğinde en fazla artış %6 nemde olmuş, bunu %12 ve %9 nem içeriğinde depolanan tohumlar izlemiştir. %6 nem içeriğinde depolanan tohumlarda uygulamasız tohumlar %3.18 şeker içeriğindeyken, KNO₃ uygulamasıyla %3.59; KH₂PO₄ uygulamasıyla da %3.51 olmuştur. Ancak bu depolama sıcaklığında depolanan tohumlarda uygulamalarla artan şeker içeriği, tohumun canlılık ve vigoruna önemli etkide bulunmamıştır.

30°C'de depolananlarda ise %6 ve %9 nemde depolananlarda KH₂PO₄ uygulamasıyla şeker içeriği azalırken, KNO₃ uygulamasıyla önemli olmayan artış olmuştur. Bu depolama koşulunda tohumların çimlenme gücü ve fide oluşum oranının uygulamalarla iyileştirildiğini göz önünde bulundurarak, uygulamalarla tohumun şeker içeriğinde sağlanan artışın canlılık ve vigor kaybını azaltmada etkili olmayacağını belirtebiliriz. Nitekim çimlenme gücünün uygulamalarla 3 aydan daha fazla korunamadığı 30°C'de %12 nem içeriğindeki tohumların şeker içeriğindeki artışa rağmen tohumların canlılığı korunamamıştır.

Ancak uygulamalarla şeker içeriğindeki artışın, çimlenmeyi hızlandırmada etkili olabileceğini belirtebiliriz. Mısır tohumlarında hidrasyon ve ön uygulamaların tohumda serbest şeker içeriğini artırarak, çimlenmeyi hızlandırdığı belirlenmiştir (Sung and Chang, 1993).

Eriyebilir karbonhidratlar hücre içi stabilizasyonu sağladıkları için bunlardaki değişimin ortadoks tohumlarda membran bozulumuna neden olduğu belirtilmiştir (Smith and Berjak, 1995). Bu denemede de depolama öncesi uygulamaların, tohumdan sızan aminoasit miktarını azaltarak membran geçirgenliğindeki bozulmayı önlemesinin, uygulamalar sırasında artan şeker içeriğinden kaynaklanabileceğini belirtebiliriz.

Artan depolama süresiyle hem uygulamalı hem de uygulamasız tohumların şeker içeriği azalmıştır (Çizelge 4.59). Ancak her iki uygulamalı tohumda 5 aylık depolama süresince şeker içeriği uygulamasızlara nazaran daha fazladır. Depolamanın 8. ayında KNO_3 uygulanmış tohumlarda şeker içeriği yüksekken uygulamasız ve KH_2PO_4 uygulanmış tohumlarda azalmıştır. 11 aylık depolama sonunda ise uygulamalı tohumlarda şeker içeriği azalarak uygulamasızlarla şeker içeriği bakımından fark olmamıştır.

Çizelge 4.59. Depolama süresine bağlı olarak uygulamaların tohumların total şeker içeriğine (%) etkileri.

DÖNEM UYGULAMA	2.5 ay	5 ay	8 ay	11 ay
Kontrol	2.99 c	2.90 cd	2.82 d	2.51 e
KNO_3	3.52 a	3.37 ab	3.0 c	2.43 e
KH_2PO_4	3.46 a	3.23 b	2.75 d	2.44 e

4.3.3. Kromozom anormalliklerindeki değişim

Depolamanın 15. ayında depolama koşullarına bağlı olarak uygulamaların kromozom anormallikleri üzerine etkileri, kök ucu anafaz hücrelerinde gözlenmiştir. Gözlemler sırasında en çok rastlanılan kromozom anormalliklerinin sırasıyla köprü oluşumu, parça kopması ve kutuplara çekilmede gecikmenin olması şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi uygulamaların kromozom anormalliklerini azalttığı gözlenerek anormal anafaz oranının azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.60). Buna karşın Rao et al. (1987), marul tohumlarına yaşlanma öncesi potasyum iodid, sistein ve antioksidant uygulamalarının kromozom anormalliklerini azaltmadığını, depolama sonrası humidifikasyon ve PEG uygulamalarının ise kromozom anormalliklerini azalttığını belirlemişlerdir. Domates tohumlarında ise yaşlanma sonrası ön uygulamaların kök ucu anormal anafaz hücre oluşumunu azaltmadığı saptanmıştır (Van Pijlen et al., 1995).

Anormal anafaz oranında azalma en fazla, 30 °C'de %6 nem içeriğinde depolanan KH_2PO_4 uygulananmış tohumlarda olmuştur. Uygulamasızlarda anormal anafaz hücre oranı %6.14 iken, KNO_3 uygulamasıyla %5.30'a, KH_2PO_4 uygulamasıyla da %3.39'a azalmıştır.

5 °C'de depolananlarda uygulamaların, kromozom anormalliğini azaltıcı etkisi daha az olmuştur. Ancak artan nem seviyeleriyle uygulamalar anormal anafaz hücre sayısını azaltmıştır. %6 nem içeriğindeki tohumlarda anormal anafaz oranı %3.54 iken bu KNO_3 uygulamasıyla büyük oranda azalarak %1.95 olmuş; KH_2PO_4 uygulamasıyla ise %3.03'e azalmıştır. %9 nemdeki tohumlarda %2.99'dan KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarıyla sırasıyla %2.07 ve %1.83'e azalmıştır. %12 nemde ise anormallik oranı %2.89'dan KNO_3 uygulamasıyla %1.52'ye ve KH_2PO_4 uygulamasıyla %1.9'a düşmüştür.

Çizelge 4.60 Depolama koşullarına bağlı olarak anormal anafaz hücre oranındaki (%) değişim.

SICAKLIK	5 °C			30 °C
NEM UYGULAMA	%6	%9	%12	%6
Kontrol	3.54	2.99	2.89	6.14
KNO_3	1.95	2.07	1.52	5.30
KH_2PO_4	3.03	1.83	1.90	3.39

Değişik parametreler aracılığı ile uygulamaların, farklı nemi ve depo sıcaklığında zaman içerisindeki etkileri ile ilgili bu bulguları toplu olarak irdelediğimizde; uygulama etkinliğinin depo koşullarına bağlı olarak farklılık gösterdiği dikkati çekmektedir.

Depolama koşullarına bağlı olarak, depolama öncesi KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamalarının yaşlanmayla oluşan çimlenme ve sürme gücündeki kaybı azaltma etkisi, depolama süresinin uzamasıyla belirginleşmiştir. 2.5 aylık depolama periyodunda 5°C depolanan tohumlarda uygulamaların çimlenme ve fide oluşum oranını iyileştirmede önemli etkileri olmazken, 30°C 'de %12 nem içeriğine sahip tohumlarda uygulama etkinliği çimlenme ve fide oluşum oranının artırılmasıyla belirginleşmiştir. Depolamanın 8. ayında ise 5°C 'de depolananlarda uygulamalarla çimlenme ve fide oluşum oranı azalmıştır. Buna karşın 30°C 'de %9 nemde depolananlarda uygulamaların etkinliği çimlenme ve fide oluşum oranının artışıyla belirginleşmiştir. 11. ayın sonunda uygulamaların çimlenme ve fide oluşum oranını artırıcı etkisinin 30°C 'de %9 nemdeki tohumlarda belirginleştiği görülmüştür.

Depolama koşullarına bağlı olarak depolama öncesi KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulamaları, çimlenme ve sürme gücünü arttırmada en fazla etki 30°C 'de %6 ve %9 nem içeriğinde depolananlarda olmuştur. Bu durumda tohumları 1 yıla kadar 5°C 'de ve %9 nemde depolamak suretiyle depolama öncesi uygulama yapmaksızın canlılık ve vigorun korunabileceğini belirtebiliriz. Buna karşın tohumların 30°C gibi yüksek sıcaklıkta depolanması halinde, canlılık ve vigor kaybını geciktirmek amacıyla tohumlara depolama öncesi 0.1 M KNO_3 veya 0.1M KH_2PO_4 uygulaması gerektiğini önerebiliriz.

Yaşlanmayla birlikte artan çimlenme zamanı, 5°C 'de depolanan tohumlarda nem içeriğine göre değişmekle birlikte depolama öncesi her iki uygulama da çimlenmeyi hızlandırmıştır. 30°C 'de depolananlarda depolama sırasında uygulamalar çimlenme hızını arttırmıştır.

5°C 'de depolananlarda depolama öncesi uygulamalar düşük sıcaklıkta sürme gücünü arttırmada etkili olmamıştır. 30°C 'de %9 nem içeriğinde depolanan tohumlarda ise düşük sıcaklıkta sürme gücü KNO_3 veya KH_2PO_4 uygulamasıyla artırılmıştır.

Membran geçirgenliğindeki bozulmanın göstergesi olarak tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğindeki artış, depolama öncesi KH_2PO_4 uygulamasıyla depolamanın 8. ayına kadar azalmış, daha sonraki depolama döneminde artmıştır. Buna karşın depolama süresince her iki potasyum tuzu ile uygulanmış tohumlardan potasyum sızıntısı, uygulamasızlara nazaran fazla olmuştur. Buna karşın canlılık ve vigor kaybındaki azalmaya bağlı olarak KNO_3 veya KH_2PO_4 uygulanan tohumlardan aminoasit sızıntısı depolama süresince az olmuştur. Bu nedenle depolama öncesi uygulamalarla özellikle KNO_3 uygulamasıyla, tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğindeki artışın potasyum sızıntısından kaynaklanabileceğini belirtebiliriz. Uygulamaların hem yaşlanmayla oluşabilecek membran bozulmasını iyileştirici etkilerinin belirlenmesinde hem de canlılık ve vigor artışının saptanmasında tohumdan sızan maddelerin elektriki iletkenliğinin ve potasyum sızıntısının belirlenmesinden, aminoasit sızıntısının daha güvenilir olabileceğini önerebiliriz.

Tohumlarda yaşlanmayla hızla azalan protein miktarı depolama öncesi KNO_3 ve KH_2PO_4 uygulanan tohumlarda daha yavaş azalarak, uygulamasızlara nazaran daha yüksek protein içermişlerdir. Uygulamaların protein içeriğini arttırmasının, depolama süresince canlılık kaybını azalttığını belirtebiliriz. Ancak uygulamalarla tohumlarda artan şeker içeriği canlılık ve vigoru artırmada etkili olmamıştır. Tohumda artan şeker içeriğinin, çimlenme hızını artırmada etkili olduğu belirlenmiştir.

Depolama öncesi her iki uygulama da yaşlanmayla artan kromozom anormalliğini depolama koşullarına bağlı olarak azaltmıştır. Uygulamaların kromozom anormalliğini azaltmada en büyük etkisi 30°C 'de %6 nem içeriğinde depolananlarda olmuştur. 5°C 'de depolananlarda ise uygulamaların kromozom anormalliğini azaltma etkisi tohum neminin artışıyla artmıştır.

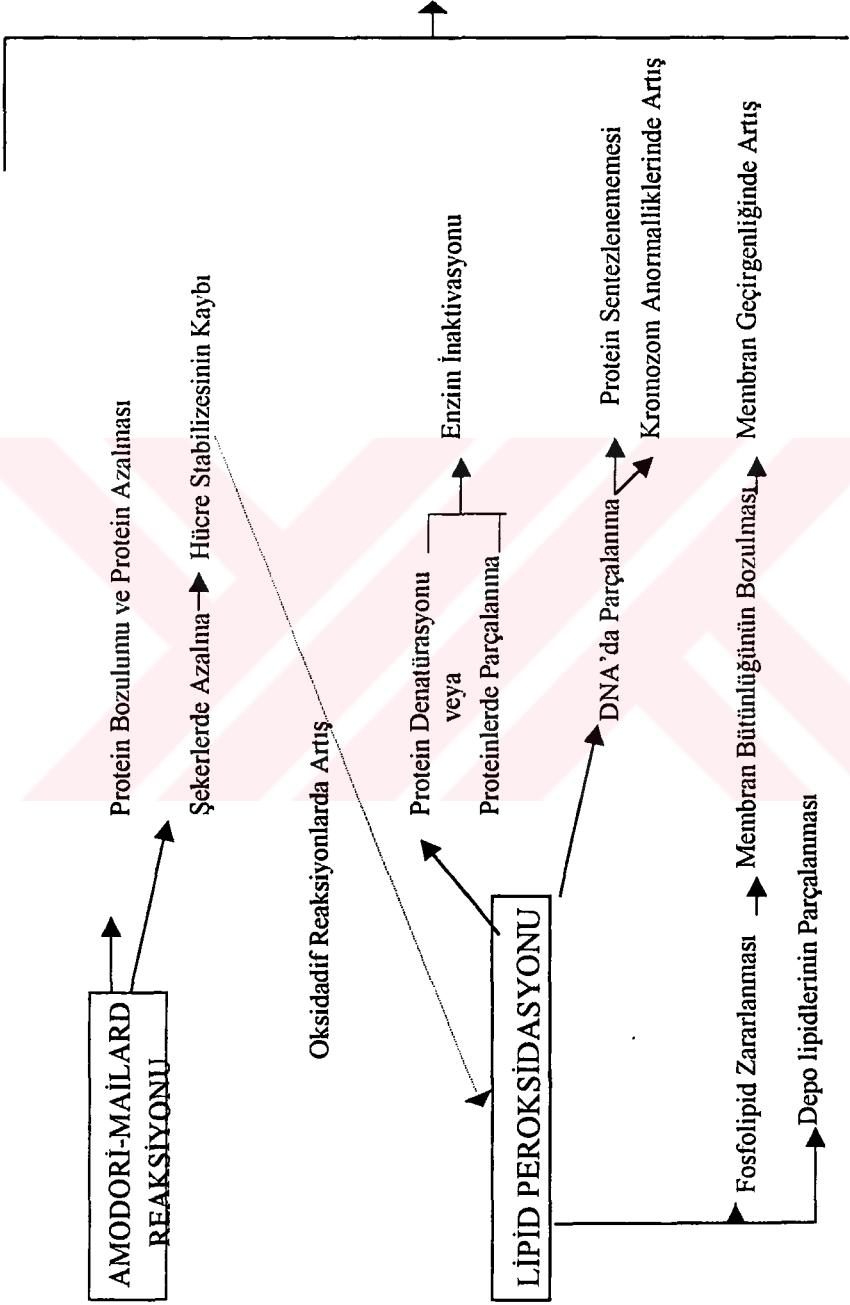
5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz tüm bulgular sonucunda, farklı depo sıcaklığında farklı nem içeriklerinde bir yıla kadar depolanan soğan tohumlarında incelenen metabolik esaslı parametrelerdeki değişimlerle ilişkili olarak yaşlanmanın temel mekanizmasının ne olabileceğini ve yaşlanma sırasında oluşan zararlanmaların tohum uygulamalarıyla ne ölçüde azaltılabileceğini ortaya koymaya çalıştık.

Vertucci (1993) tohumun içerdiği nem seviyesine bağlı olarak yaşlanma sırasındaki kimyasal reaksiyonların değiştiğini ve bu değişimi ortam sıcaklığının da etkilediğini belirterek, tohumda bulunan su seviyelerini 5 faza ayırmıştır. Blackman and Leopold (1993), kuru depolanan tohumlarda,

- * 0.40-0.70 (g su/g kuru ağırlık) nem seviyesinde metabolizmayla ilgili çoğu enzim aktivitesini kaybettiğinden,
- * Yaklaşık 0.10(g su/g kuru ağırlık) nem seviyesinde enerji transferinde gerekli olan proton taşınımı olmadığından,
- * Kuru tohum içerdiği fazla şeker nedeniyle camısı (glass) fazda olduğundan enzimik reaksiyonların önlenmesi, enzimik olmayan reaksiyonların görüleceğini belirtmişlerdir.

Bu bilgilerin ışığında Vertucci'nin (1993) yaptığı sınıflandırmayı baz aldığımızda denemede kullandığımız %6, %9 ve %12 nem seviyelerindeki soğan tohumlarının 1. ve 2. fazda su içerdiklerini ve bu seviyede de Blackman and Leopold'ün (1993) belirttiği enzimik olmayan reaksiyonların soğan tohumlarında yaşlanmanın temel mekanizması olabileceğini belirtebiliriz. Soğan tohumlarının yaşlanmasında, bu enzimik olmayan reaksiyonlardan lipid peroksidasyonu temel mekanizmasına dayalı olarak tohum metabolitlerinde meydana gelen değişimlerle ilgili Şekil 5.1'deki modeli sunabiliriz. Ayrıca önerdiğimiz lipid peroksidasyonuna dayalı yaşlanma mekanizması hızının depolama koşullarına bağlı olarak değiştiğini ifade edebiliriz. Düşük sıcaklıkta depolanan tohumlarda yüksek sıcaklıkta depolananlara nazaran yaşlanma mekanizmasının daha yavaş olduğunu; yüksek sıcaklıkta özellikle tohum neminin artışıyla yaşlanma hızının arttığını belirtebiliriz.



Şekil 5.1 Soğan tohumlarında canlılık ve vigor kaybına neden olan yaşlanma modeli.

Yüksek sıcaklıkta (30°C) depolanan tohumlarda tohum neminin artışıyla canlılık kaybında görülen artışla beraber soğan tohumlarının protein içeriğindeki azalma, yaşlanma sırasında proteinlere zarar veren reaksiyonların varlığına işaret etmektedir. Proteinlere zarar veren mekanizmaların serbest radikal reaksiyonları veya şekerlerle bileşik oluşturma reaksiyonlarını (Amodori-Mailard) içerdiği belirtilmektedir (Blackman and Leopold, 1993). Soğan tohumlarının yaşlanma mekanizması olarak önerdiğimiz lipid peroksidasyonu sırasında serbest radikallerin proteinlerin yapısını bozması (protein denatürasyonu) yada parçalaması ile tohumda protein içeriğinin azalacağını, enzimlerin aktivasyonlarını kaybedeceklerini belirtebiliriz. Bunun sonucu olarak çimlenme ve fide gelişimi için gerekli protein ve enzimler sağlanamadığından tohumlar canlılıklarını ve vigorlarını kaybedeceklerdir.

Tohumun protein içeriğindeki azalmayla birlikte, çimlenme ve solunumda önemli metabolit olan şeker içeriğinin, özellikle yüksek sıcaklıkta depolananlarda tohumun nem içeriğinin artışıyla büyük oranda azalması, soğan tohumlarının yaşlanması sırasında oksidatif reaksiyonlardan başka Amadori-Mailard reaksiyonlarının da etkili olabileceğini ifade etmektedir. Proteinlerin şekerlerle bileşik oluşturduğu bu reaksiyon sonucu, bu metabolitler azalmakta, böylece tohumda canlılık kaybı artmaktadır.

Hücrede var olup, onun stabilizasyonunu sağlayan (Smith and Berjak, 1995) ve hücre komponentlerini serbest radikal reaksiyonlara karşı koruduğu (Blackman and Leopold, 1993) bilinen eriyebilir şekerlerin, yüksek sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumlarda hızla azalmasının hücre içi stabiliteyi bozmak suretiyle oksidatif reaksiyonları arttıracağını belirtebiliriz.

Bir çok araştırmada lipid peroksidasyonu sonucu, tohumda depo lipidlerin parçalanarak yağ içeriğinin değiştiği (Bewley and Black, 1982; Priestley, 1986), oksijenlenmiş yağ asitlerinin biriktiği ve bunların tohumun hidrasyonu sırasında parçalanarak solunuma ve makromoleküllere etki eden toksik ürünleri oluşturduğu (Wilson and McDonald, 1986) belirtilmektedir. Ancak çalışmamızda soğan tohumlarının yaşlanması sırasında tohumun total yağ miktarı ve yağ asidi içeriğinde önemli değişimler elde edilememesinden dolayı, tohumun total

yağ içeriğindeki değişimi belirlemenin soğan tohumlarının yaşlanmasında lipid peroksidasyonu olup olmadığının iyi bir göstergesi olamayacağını; yaşlanma sırasında peroksidasyonun esas etkide bulunduğu düşünülen membran lipidleri (Bewley, 1986) içeriğindeki değişimi incelemenin daha doğru olabileceğini belirtebiliriz. Tohumun yaşlanması sırasında, membran lipidleri olan fosfolipidlerin oksidatif reaksiyonlar sonucu parçalanarak membran bütünlüğünün bozulduğu, böylece membran geçirgenliğinin artarak canlılık ve vigor kayıplarının arttığı belirtilmektedir (Thompson et al., 1987). Çalışmamızda da canlılık ve vigor kaybının arttığı yüksek sıcaklık ve nem içeriğinde depolanan tohumlardan yaşlanmaya bağlı olarak madde sızıntısında belirlenen artışın, membran lipidlerinin peroksidasyona maruz kalması nedeniyle yapılarının bozulduğunun ve fonksiyonlarını kaybettiklerinin göstergesi olabileceğini belirtebiliriz.

16 aylık depolama sonrası tohumların canlılıklarını sürdürebildikleri depo koşullarında gözlemlenen kromozom anormalliklerinin, yüksek sıcaklıkta %6 nemde depolananlarda düşük sıcaklıkta depolananlara nazaran çok fazla olması canlılık kaybında kromozom anormalliklerine neden olan DNA lezyonlarının etkili olabileceğini göstermektedir. Bu durumda Roberts'ın (1973) görüşüne benzer olarak mitoz safhasında görülebilen kromozom anormalliklerinin, yaşlanmanın bir nedeni değil; lipid peroksidasyonu ile oluşan serbest radikallerin DNA'yı parçalaması sonucu oluştuğunu (Thompson et al., 1987) belirtebiliriz. Oksidatif reaksiyon sonucu DNA'nın parçalanması, hem translokasyon hem de transkripsiyonu olumsuz yönde etkileyerek protein sentezini bloke edecek (Osborne, 1980) ve böylece tohum çimlenme gücünü kaybedecektir.

Yaşlanma sırasında soğan tohumlarında görüldüğünü varsaydığımız bu mekanizmanın hızını kontrol etmek amacıyla yaşlanma ve öncesi bir takım ön uygulamaların etkinliğinin araştırıldığı deneme sonucunda Dearman et al.'ın (1989) da belirttiği gibi yaşlanma öncesi KNO_3 (0.1M) ve KH_2PO_4 (0.1M) uygulamaların yaşlanma sonrası uygulamalara nazaran yaşlanmayı kontrol etmede daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Her iki uygulamanın da yaşlanmayı kontrol edebilme etkileri, canlılık kaybının fazla olduğu yüksek sıcaklıkta depolananlarda özellikle tohum neminin artışıyla belirgin olmuştur.

Çimlenme gücünün iyileştirilmesi yanısıra tohumdan sızan aminoasit miktarının azalması, uygulamaların yaşlanmayı kontrol etme mekanizmasının ya membran bozulumunu azalttığı ya da tohumdaki protein parçalanmasını azalttığı şeklinde olduğunu göstermektedir. Nitekim yaşlanma sırasında uygulamalı tohumların protein kaybının, uygulamasız tohumlara nazaran daha az olması; uygulamaların protein parçalanmasına neden olan mekanizmaları etkileyebileceği görüşünü desteklemektedir.

Uygulamalı tohumlarda tüm depolama koşullarında uygulamasızlara nazaran protein içeriğindeki artışın muhtemelen uygulama sırasında protein sentezi artışından kaynaklanabileceğini ve artan protein miktarının canlılık ve vigor kaybını bir dereceye kadar azaltmada etkili olabileceğini belirtebiliriz. Yine uygulamaların etkinliğinin görüldüğü depolama koşullarında depolanan tohumların şeker içeriğinin uygulamasızlara nazaran fazla olması tohumların çimlenme hızını arttırarak etkide bulunduğunu göstermektedir.

Kromozom anormalliklerinin azaltılmasında da en büyük etkinin yaşlanma sırasında kromozom anormalliklerinde en fazla artışın olduğu yüksek sıcaklıkta %6 nemde depolananlarda görülmesi de yaşlanmayla artan DNA zararlanmalarının depolama öncesi uygulamalarla önlendiğini ifade etmektedir.

Yüksek sıcaklık ve yüksek tohum neminde depolanan tohumlarda protein parçalanması, membran bozulumu ve genom zararlanmalarını azaltarak potasyum tuzlarının canlılık ve vigoru arttırmada etkili olduğu belirlenmekle birlikte, tohumları depolama öncesi bu uygulamaları yapmak yerine düşük sıcaklıkta (5°C) %9 ve %12 nem seviyelerinde depolamanın hem yaşlanma mekanizmasını yavaşlatarak canlılık ve vigor kaybını azalttığını hem de işgücü ve maliyet açısından daha pratik bir çözüm olabileceğini belirtebiliriz.

Ayrıca, soğan tohumlarında lipid peroksidasyonuna dayalı olarak ileri sürdüğümüz yaşlanma mekanizmasını da dikkate alarak, bundan sonraki çalışmalarda tohumların peroksidatif etkilerini azaltmada etkili olduğu bilinen antioksidant maddelerle uygulama denemelerinin yapılmasını önerebiliriz. Yine depolama sırasında tohumun ticari önemde

canlılık değerlerinde tutulmasını sağlayacak ara uygulamalar ve depolama sonrası yeniden ön uygulamalar (repriming) yapılmasının etkilerinin araştırılması gerektiğini de belirtebiliriz. Gerek yaşlanma mekanizmasının gerekse uygulamalarla yaşlanmayı kontrol edebilme mekanizmalarının, en iyi moleküler düzeyde yapılacak çalışmalarla açıklanabileceğini ve bundan sonraki çalışmaların bu yönde planlanması gerektiği inancındayız.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Argerich, C.A., Bradford, K.J. and Tarquis, A.M., 1989,** The effects of priming and ageing on resistance to deterioration of tomato seeds, *Journ. of Experimental Botany*, 40,593-598.
- Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D., 1972,** Physiological and biochemical deterioration of seeds, *Seed Biology* (Ed. by Kozlowski, T.T.), Academic Press, New York, vol. 2:283-315.
- Aung, U.T. and McDonald, M.B., 1995,** Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hypogae* L.) seed deterioration, *Seed Sci. and Techn.*, 23, 101-111.
- Bacic, G., Srejac, R., Lahajnar, G., Zupancic, I. and Ratkovic, S., 1992,** Water and lipids in maize seed embryos: A proton NMR relaxation and diffusion study, *Seed Sci. and Techn.*, 20, 233-240.
- Basavarajappa, B.S., Shetty, H.S. and Prakash, H.S., 1991,** Membran deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds, *Seed Sci. and Techn.*, 19, 279-286.
- Basra, B.S. and Malik, C.P., 1994,** Amelioration of the effects of ageing in onion seeds, *Biologica Plantarum*, 36(3):365-371.
- Basra, B.S., Singh, B. and Malik, C.P., 1994,** Priming induced changes in polyamine levels in relation to vigor of aged onion seeds, *Botanica Bulletin of Academia Sinica (Taipei)*, 35(1):19-23, *Biological Abstracts*, 1994.
- Begnami, C.N. and Cortelazzo, A.L., 1996,** Cellular alterations during accelerated ageing of French bean seeds, *Seed Sci. and Techn.*, 4, 295-303.
- Bernal-Lugo, I. and Leopold, A.C., 1992,** Changes in soluble carbohydrates during seed storage, *Plant Physiology*, 98, 1207-1210.
- Bewley, J.D., 1986,** Membran changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in storage in *Physiology of Seed Deterioration* (Ed. by Mc Donald, Jr.M.B. and

- Nelson, C.J.), Madison, WI, USA, CSSA special publication, no:11, 27-45.
- Bewley, J.D. and Black, M., 1982,** Viability and longevity, *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation Germination*, Vol.2, 26-55.
- Bewley, J.D. and Black, M. ,1994,** *Seeds, Physiology of Development and Germination*, Plenum Press, New York.
- Blackman, S. and Leopold, A.C., 1993,** Chemical and physical factors in seed deterioration, *Basic and Applied Aspects of Seed Biology (IVth International Workshop on Seeds, France, 20-24, July, 1992)*, vol.3, 731-737.
- Bolat, İ., 1989,** Hasanbey Kayısı Çeşidinde Alar (Succinic Asid 2,2-Dimethylhydrazide) Uygulamalarının Vegetatif Gelişmeye ve Meyve Kalite Özellikleri ile Yaprak ve Sürgünlerdeki Karbonhidrat Düzeylerindeki Mevsimsel Değişmelere Etkileri Üzerinde Araştırmalar, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.
- Bradford; K.J., 1986,** Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions, *HortSci.*, 21(5):1105-1112.
- Bray, C.M., Davidson, P.A., Ashraf, M. and Taylor, R.M., 1989,** Biochemical changes during osmopriming of leek seeds, *Ann. of Botany*, 63,185-193.
- Brocklehurst, P.A. and Dearman, J., 1983,** Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. II. Seedling emergence and plant growth, *Ann. of Applied Biology*,102,585-593.
- Burgass, R.W. and Powell, A.A., 1984,** Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration, *Ann. Botany*, 53,753-757.
- Chapman, G.M. and Robertson, J.A., 1977,** Changes in phospholipid levels during high moisture storage of soybeans, *Journal of the American Oil Chemists Soc.*, 54: 195-198.
- Chhetri, D.R., Rai, A.S. and Bhattacharjee, A., 1993,** Chemical manipulation of seed longevity of four crop species in an unfavourable storage environment, *Seed Sci. and Techn.*, 21,31-44.

- Ching and Schoolcraft**, 1968, Physiological and chemical differences in aged seeds, *Crop Sci.*, 8, 407-409.
- Clarke, N.A. and James, P.E.**, 1991, The effects of priming and accelerated ageing upon the nucleic acid content of leek seeds and their embryos, *Journ. of Experimental Botany*, 42:261-268.
- Come, D.**, 1983, Post harvest physiology of seeds as related to quality and germinability, *Post Harvest Physiology and Crop Preservation*, (ed. by Morris Lieberman), 165-190, Plenum Press, Newyork.
- Coolbear, P. and Grierson, D.**, 1979, Studies on the changes in the major nucleic acid components of tomato seeds (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resulting from presowing treatments, *Journ. of Experimental Botany*, 30, 1153-1162.
- Coolbear, P., Francis, A. and Grierson, D.**, 1984, The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and the membran integrity of artificially aged tomato seeds, *Journ. of Experimental Botany*, 35, 1609-1617.
- Crocker, W. and Barton, L.V.**, 1957, Storage and life span of seeds, *Physiology of Seeds* (Published by Chronica Botanica Campany),
- Dearman, J., Brockleust, P.A. and Drew, R.L.K.**, 1986, Effects of osmotic priming and ageing on onion seed germination, *Ann. Applied Biology*, 108, 639-648.
- Dell'Aquila, A. and Tritto, V.**, 1990, Ageing and osmopriming in wheat seeds: Effects upon certain component of seed quality, *Annals of Botany*, 65, 21-26.
- Delouche and Baskin**, 1973. An accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. and Techn.*, 1:427-452.
- Doijode, S.D.**, 1990, Solute leakage in relation to loss of seed viability on accelerated ageing in different onion cultivars, *Indian J. Plant Physiol.*, 33, 54-57.
- Dourado, A.M. and Roberts, E.H.**, 1984, Chromosome aberrations induced during storage in barley and pea seeds, *Annals of Botany*, 54, 767-779.

- Ellis, R.H. and Roberts, E.H.**, 1977, A revised seed viability nomograph for onion, *Seed Research*, 5, 93-103.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. and Tao, K.L.**, 1990, Low moisture content limits to relations between seed longevity and moisture, *Annals of Botany*, 65, 493-504.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Astley, D., Pinnegar, A.E. and Kraak, H.L.**, 1996, Survival of dry and ultradry seeds of carrot, groundnut, lettuce, oilseed rape and onion during five years hermetic storage at two temperatures, *Seed Sci. and Techn.* 24, 347-358.
- Francis, A. and Coolbear, P.**, 1988, Changes in the fatty acid content of the polar lipid fraction of tomato seeds induced by ageing and/or subsequent low temperature pre-sowing treatment, *Seed Sci. and Techn.*, 16, 87-95.
- Georghiou, K., Thanos, C.A. and Passam, H.C.**, 1987, Osmoconditioning as a measure of counteracting the ageing of pepper seeds during high temperature storage, *Annals of Botany*, 60, 279-285.
- Ghosh, B. and Chaudhuri, M.M.**, 1984, Ribonucleic acid breakdown and loss of protein synthetic capacity with loss of viability of rice embryos (*Oryza sativa*), *Seed Sci. and Techn.*, 12, 669-677.
- Haigh, A.M. and Barlow, E.W.R.**, 1987, Germination and priming of tomato, carrot, onion and sorghum seeds in a range of osmotica, *Amer. Soc. Hort. Sci.*, 112(2):202-208.
- Halder, S. and Gupta, K.**, 1980, Effect of storage of sunflower seeds in high and low relative humidity on solute leaching and internal biochemical changes, *Seed Sci. and Techn.*, 8, 317-321.
- Halmer, P. and Bewley, J.D.**, 1984, A physiological perspective on seed vigour testing, *Seed Sci. and Techn.*, 12, 561-575.
- Hannan, R.M.**, 1991, Analysis of lipids in ageing seed using capillary supercritical fluid chromatography, *Journal of Chromatography*, 54, 393-401.
- Harrington, J. F.**, 1972, Seed storage and longevity, *Seed Biology* (Ed. by Kowzlovski), Academic Press, New York, 3:145-245.

- Harrington, J. F.**, 1973. Biochemical basis of seed longevity. *Seed Sci. and Techn.*, 1:453-461.
- Harrison, B.J. and Carpenter, R.**, 1977, Storage of *Allium cepa* seed at low temperatures, *Seed Sci. and Techn.*, 5:699-702.
- ISTA**, 1993, International Rules for Seed Testing, *Seed Sci. and Techn.*, 21, Supplement, Zurich.
- Justice, O.L. and Bass, L.N.**, 1979. Principles and Practicals of Seed Storage, Castle House Publications Ltd., London.
- Kalpana, R. and Rao, M.K.V.**, 1993, Lowered lipoxygenase activity in seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Mill sp.) cultivars during accelerated ageing, *Seed Sci. and Techn.*, 21, 269-272.
- Kalpana, R. and Rao, M.K.V.**, 1995, On the ageing mechanism in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Mill sp.) seeds, *Seed Sci. and Techn.*, 23, 1-9.
- Kalpana, R. and Rao, M.K.V.**, 1996, Lipid changes during accelerated ageing of seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Mill sp.) cultivars, *Seed Sci. and Techn.*, 24, 475-83.
- Khan, A.A., Tao, K., Knypl, J.S. and Borkowska, B.**, 1978, Osmotic conditioning of seeds: physiological and biochemical changes, *Acta Hort.*, 83, 267-278.
- Khanal, R.**, 1990, A literature review on vegetable seed storage and packing, PAC Occasional Paper (6), Nepal, 40pp.
- Lee, S.S., Taylor, A.G., Beresniewicz, M.M. and Paine, D.H.**, 1995, Sugar leakage from aged leek, onion, and cabbage seeds, *Plant Varieties and Seeds*, 8, 81-86.
- Lepori, G. and Quagliotti, L.**, 1981. Effects of storage on the viability of Turnip and Broccoli seeds. *Acta Hort.*, 111:255-264. (Symp. on vegetable and flower seed production.)
- Livesley, M.A. and Bray, C.M.**, 1991, The effects of ageing upon α -amylase production and protein synthesis by wheat aleurone layers, *Annals of Botany*, 68, 69-73.
- Lorenz, O.A. and Maynard, D.N.**, 1988, Seed production and storage, *Knott's Handbook for Vegetable Growers*, John Wiley & Sons, Canada, 379-390.

- Lozano, J.L. and Leopold, A.C.**, 1988, The physiology and genetics of seed ageing , Recent advances in the conservation and utilization of genetic resources , 81-93, Proceedings of the Global Maize Germplasm Workshop, CIMMYT, Mexico.
- McKersie, B.D. and Leshem, Y.Y.**, 1994, Dessication , Stress and Stress Coping in Cultivated Plants, Kluwer Academic Publishers, 132-137.
- Moore, R.P.**, 1985, Hand Book on Tetrazolium Testing, ISTA, Zurich.
- Murata, M., Tsuchiya, T. and Roos, E.E.**, 1984, Chromosome damage induced by artificial seed ageing in barley, Theor. Applied Genetics, 67, 161-170.
- Murray, G.A. and Swensen, J.B.**, 1992, Emergence of spring and summer planted onions following osmotic priming, HortScience, 27(5):409-410.
- Osborne, D.J.**, 1980, Senescence in seeds, Senescence in Plants (Ed. by Thimann, K.V.), 13-37, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Pandey, D.K.**, 1989a, Amelioration of the effect of ageing in onion seeds, Indian J. Plant Physiol., 32(4)379-382.
- Pandey, D.K.**, 1989b, Priming induced alleviation of the effects of natural ageing derived selective leakage of constituents in French bean seeds, Seed Sci. and Technology, 17, 391-397.
- Parrish, D.J. and Leopold, A.C.**, 1978, Confounding of alternate respiration by lipoxygenase activity, Plant Physiology, 62, 470-472.
- Pearce, R.S. and Abdel Samad, I.M.**, 1980, Change in fatty acid content of polar lipids during ageing of seeds of peanut (*Arachis hypogaea* L.), Experimental Botany, 31, 1283-1290.
- Pedersen, L.H.; Jorgensen, P.E. and Pulsen, I.**, 1993, Effects of seed vigor and dormancy on field emergence, development and grain yield of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and winter barley (*Hordeum vulgare* L.), Seed Sci. and Techn., 21(1): 159-178.
- Perl, M., Yaniv, Z. and Feder, Z.**, 1987, The effect of natural and accelerated ageing on the lipid content and the fatty acid composition of seeds, Acta Hort., 215, 61-66.
- Perry, D.A.**, 1987, Handbook of Vigor Test Methods, ISTA, Zurich, 3-7.

- Pill, W.G. and Haynes J.G., 1996, Gibberellic acid during priming of *Echinacea purpurea* (L.) Moench seeds improves performance after seed storage, Journ. of Hort. Sci., 71(2):287-295.
- Priestley, D.A. and Leopold, A.C., 1979, Absence of lipid oxidation during accelerated ageing of soybean seeds, Plant Physiol., 63, 726-729.
- Priestley, D.A. and Leopold, A.C., 1983, Lipid changes during natural ageing of soybean seeds, Physiology of Plant, 59, 467-470.
- Priestley, D. A., 1986, Morphological, structural, and biochemical changes associated with seed ageing, Seed Ageing: Implication for Seed Storage and Persistence in Soil (Comstock Publishing Associates, Ithaca and London), 125-195.
- Powell, A.A. and Matthews, S., 1978, Rapid evaluation of the storage potential of seed peas, Acta Hort.(symp. on seed problems in horticulture. The search for practical solutions, 26-30. sept., 1977)133-140.
- Powell, A.A. and Matthews, S., 1981, Association of phospholipid changes with early stages of seed ageing, Annals of Botany, 47, 709-712.
- Powell, A.A. and Harman, G.E., 1985, Absence of a consistent association of changes in membranal lipids with ageing of pea seeds, Seed Sci. and Techn., 13, 659-667.
- Rajagopal, A.S.M. and Sen-Mandi, S., 1992, Studies on acid and alkaline phosphatases in aged rice embryos, Seed Sci. and Techn., 20, 215-222.
- Ram, C. and Wiesner, L.E., 1988. Effects of artificial ageing on physiological and biochemical parameters of seed quality in wheat. Seed Sci. and Techn., 16, 579-587.
- Rao, N.K., Roberts, E.H. and Ellis, R.H., 1987, Loss of viability in lettuce seeds and the accumulation of chromosome damage under different storage conditions, Annals of Botany, 60, 85-96.
- Rao, N.K., Roberts, E.H. and Ellis, R.H., 1987, The influence of pre and post storage hydration treatments on chromosomal aberrations, seedling abnormalities and viability of lettuce seeds, Annals of Botany, 60, 97-108.

- Roberts, E.H.**, 1973, Loss of seed viability: Chromosomal and genetical aspects, *Seed Sci. and Techn.* 1, 515-527.
- Roberts, E.H. and Ellis, R.H.**, 1989, Water and seed survival, *Annals of Botany*, 63, 39-52.
- Salama, A.M. and Pearce R.G.**, 1993, Ageing of cucumber and onion seeds: Phospholipase D, lipoxygenase activity and changes in phospholipid content, *Journ. of Exp. Botany*, 44, 1253-1265.
- Sanchez De Jimenez, E., Sepulveda, G., Reynoso, E, Molina-Galan, J. and Albores, M.**, 1991, Long term maize seed storage and loss of viability: polyamines and auxin contents during germination, *Seed sci. and Techn.*, 19, 83-92.
- Saxena, O.P., Pakeeraiah, T. and Lakshmi, P.**, 1985, Studies on accelerated ageing in sesamum, *Indian J. Plant Physiol.*, 28, 35-42.
- Simon, E.**, 1974. Phospholipids and plant membran permeability, *New Phytology*, 73, 377-420.
- Smith, M.T. and Berjak, P.**, 1995, Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored dessication-tolerant and dessication sensitive seeds, *Seed Development and Germination* (Ed. by Kigel, J. and Galili, G.), Newyork, 701-746.
- Sivritepe, H.Ö.**, 1992, Genetic Deterioration and Repair in Pea (*Pisum sativum* L.) Seeds During Storage, PhD. Thesis, Univ. of Bath, pp 227.
- Sivritepe, H.Ö. and Durado, A.M.**, 1994, The effects of humidification treatments on viability and the accumulation of chromosomal aberrations in pea seeds, *Seed Sci. and Techn.*, 22, 337-348.
- Snedecor, G. W. and Cochran, W.G.**, 1967, *Statistical Methods*, Iowa State University Press, 327-334.
- Standwood, P.C. and Sowa, S.**, 1995, evaluation of onion (*Allium cepa* L.) seed after 10 years of storage at 5, -18 and -196°C, *Crop Science*, 35, 852-856.
- Stayonova, S.D.**, 1991, Genetic shifts and variations of gliadins induced by seed ageing, *Seed Sci. and Techn.*, 19, 363-371.

- Stewart, R.R.C. and Bewley, J.D.**, 1980, Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes, *Plant Physiology*, 65, 245-248.
- Styer, R.C.; Cantliffe, D.J. and Hall, C.B.**, 1988, The relationship of ATP concentration to germination and seedling vigour of vegetable seeds stored under various conditions. *J. American Soc. Hort. Sci.*, 105, 298-303.
- Sung, F.J.M. and Chang, Y.H.**, 1993, Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor, *Seed Sci. and Techn.*, 21, 97-105.
- Tarquis, A.M. and Bradford, J.**, 1992, Prehydration and priming treatments that advance germination also increase the rate of deterioration of lettuce seeds, *Journ. of Experimental Botany*, 43,307-317.
- Taylor, A.G., Lee, S.S., Beresniewicz, M.M. and Paine, D.H.**, 1995, Amino acid leakage from aged vegetable seeds, *Seed Sci. and Techn.*, 23, 113-122.
- Thanos, C.A., Georghiou, K. and Passam, H.C.**, 1989, Osmoconditioning and ageing of pepper seeds during storage, *Annals of Botany*, 63,65-69.
- Thompson, J.E.; Legge, R.L. and Barber, R.F.**, 1987, The role of free radicals in senescence and wounding, *New Phytologist*, 105, 317-344.
- Tilden, R.L. and West, S.H.**, 1985, Reversal effects of ageing in soybean seeds, *Plant Physiology*, 77,584-586.
- Topaktaş, M. ve Renüzoğulları, E.**, 1995, Sitogenetik, ss:181, Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fak., Biyoloji Bölümü, Adana.
- Van Pijlen, J.G., Kraak, H.L., Bino, R.J. and De Vos, C.H.R.**, 1995, Effects of ageing and osmopriming on germination characteristics and chromosome aberrations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds, *Seed Sci. and Techn.*, 23,823-830.
- Varier, A.; Vijayakumari, G. and Agrawal, P.K.**, 1991, Effect of GA₃ on maintenance of viability in onion seed at different moisture levels during ageing under aerobic conditions, *Plant Physiology and Biochemistry*, 18(1)26-30, Hort.Abst,1993, 8303.

- Vertucci, C.H. and Roos, E.E., 1990, Theoretical basis for protocols for seed storage, Plant Physiol., 94, 1019-1023.**
- Vertucci, C.W., 1993, Towards a unified hypothesis of seed ageing, Basic and Applied Aspects of Seed Biology (IVth International Workshop on Seeds, France, 20-24, July, 1992), vol.3, 739-746.**
- Vertucci, C.H., Roos, E.E. and Crane, J., 1994, Theoretical basis of protocols for seed storage III. Optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures, Annals of Botany, 74, 531-540.**
- Villier, T.A. and Edgcumbe, D.J., 1975, On the cause of seed deterioration in dry seed storage, Seed Sci. and Techn., 3, 761-774.**
- Villier, T.A., 1983, Ultrastructural changes in seed dormancy and senescence, Senescence in Plants (Ed by...), 40-64.**
- Ward, F.H. and Powell, A.A., 1983, Evidence for repair processes in onion seeds during storage at high seed moisture contents, Journal of Exp. Botany, 34(140):277-282.**
- Wilson, D.O. and McDonald, M.B., 1986, Lipid peroxidation model of seed ageing, Seed Sci. and Techn., 14, 269-300.**
- Yaclich, K.W., 1985, Effect of ageing on soluble oligosaccharide content in soybean seeds, Crop Sci., 25, 701-704.**
- Yıldırım, M.B., Çalışkan, C.F. ve Çağırman, M.Y., 1989, Patateste çeşitli özelliklerin faktör analizi, Cumhuriyet Üniv., Ziraat Fak. Dergisi, 1(5): 93-106.**
- Zhang, M., Yajima, H., Umezawa, Y., Nakagawa, Y. and Esashi, Y., 1995, GC-MC identification of volatil compounds evolved by dry seeds in relation to storage conditions, Seed Sci. and Techn., 23, 59-68.**
- Zhang, M., Liu, Y., Torii, I., Saski, H. and Esashi, Y., 1993, Evolution of volatil compounds by seed during storage periods, Seed Sci. and Techn., 21, 359-373.**

ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında İzmir'de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İzmir'de tamamladım. 1986 yılında girdiğim E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden 1990 yılında mezun oldum. Aynı yıl E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansına başladım. 1993'te 'Sera Domates Yetiştiriciliğinde Farklı Sürelerde Vibratör Kullanımının Tozlanma ve Meyve Tutumu Üzerine Araştırmalar' adlı tezimle Yüksek Lisansımı tamamlayarak, aynı yıl adı geçen Ana Bilim Dalında 'Soğan Tohumlarında Yaşlanma ve Yaşlanma ile Oluşan Vigor Kayıplarının İyileştirilmesi' konusunda doktora çalışmalarına başladım.

Haziran-Temmuz, 1993 yılında Tarla Bitkileri Bölümünde düzenlenen 'Elektroforetik Yöntemlerin Kullanımına Yönelik Uygulamalı Kursu'; Nisan-Temmuz, 1995'te Wageningen, Hollanda'da düzenlenen '8th Internatinal Course on Seed Production and Seed Technology' adlı kursa Hollanda Hükemeti Bursuyla; Mayıs, 1996'da Girit, Yunanistan'daki 'Plant Biodiversity and Conservation' kursuna FAO ve CIHEAM bursuyla katıldım.

Ağustos, 1992'den beri E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

Evliyim ve bir oğlum var.

Hülya İLBİ
1998, İzmir

T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM BAKANLIĞI
DÖNÜŞÜMLÜK İZMİR