

## KATLANMIŞ DİPLOİD BİBERLERDE MORFOLOJİK, SİTOLOJİK VE DNA MİKTARINA GÖRE YAPILAN İNCELEME SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Büşra YAPICI<sup>1</sup>, Emre İPEK<sup>2\*</sup>, Süleyman KAVAK<sup>3</sup>, Beyza Nur YILDIZ<sup>4</sup>, Şeküre Şebnem ELLİALTIÖĞLU<sup>5</sup>

<sup>1</sup>PETEKTAR Tohum Sanayi Ticaret Ltd. Şti., Aksu/Antalya; ORCID:

<sup>2</sup>PETEKTAR Tohum Sanayi Ticaret Ltd. Şti., Aksu/Antalya; ORCID:

<sup>3</sup>Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bilecik; ORCID:

<sup>4</sup>PETEKTAR Tohum Sanayi Ticaret Ltd. Şti., Aksu/Antalya; ORCID:

<sup>5</sup>Ankara Üniversitesi, Teknokent, Doqutech Academy Ltd. Şti., Gölbaşı/Ankara; ORCID:

### ÖZ

Kapya biberlerde, tohumuz meyve veren çeşitler geliştirmeye yönelik ıslah programlarında kullanılacak tetraploid ebeveynlerin elde edilmesi amacıyla bir dizi çalışma yapılmıştır. Bu kapsamda gerçekleştirilen kolhisin uygulamaları sonucunda gelişen bitkiler/sürgünler üzerindeki çiçeklerin kendilenmesiyle tohumlar elde edilmiştir. Olası tetraploid tohumlar ekilmiş ve bitkiler fidelikte yetiştirilmiştir. Polikarbon serada yerlerine dikilen bitkiler çeşitli morfolojik özellikleri bakımından gözlemlenmiş (yaprak alanı, çiçek çapı, meyve eni / boyu, tohum oluşumu), bu bitkilerin yapraklarında birim alandaki stoma sayıları ve boyutları kayıt altına alınmış, ayrıca genç fide döneminde alınan örneklerde flow sitometri yöntemi ile ploidi seviyesi belirlenmiştir. Böylece morfolojik, sitolojik ve DNA miktarı bakımından yapılan incelemelerin sonuçları bir arada değerlendirilebilmiştir. Üç farklı yöntemden elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak aralarındaki ilişkiler araştırılmıştır. Çalışma sonucunda en güvenilir bulguları veren flow sitometri yöntemi esas alınarak, morfolojik ve sitolojik tahminlerin tutarlılığı yorumlanmıştır. Morfolojik ve sitolojik yollarla geniş bir bitki popülasyonu içinde ön seleksiyonun yapılabileceği, seçilen bitkilerin ploidi seviyesinin teyit edilmesi için flow sitometri yoluyla analiz yapılmasının gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Capsicum annuum*, flow sitometri, stoma, ploidi

## COMPARISON OF THE EXAMINATION RESULTS ACCORDING TO MORPHOLOGICAL, CYTOLOGICAL AND DNA AMOUNT IN DOUBLED DIPLOID PEPPERS

### ABSTRACT

A series of studies have been carried out to obtain tetraploid parents to be used in breeding programs to develop seedless fruiting varieties in capia peppers. In this context, the seeds obtained by the selfing of flowers on the plants / shoots developed as a result of colchicine applications were sown and the seedlings were grown in the seedling greenhouse. Seedlings planted in the polycarbonate greenhouse were observed in terms of various morphological characteristics (leaf area, flower diameter, fruit width and length, seed formation) and the number of stoma per unit area and size in the leaves of these plants were determined. Also, the ploidy level of plants was determined by flow cytometry method in the samples taken during the young seedling period. Thus, the results of the examinations made in terms of morphological, cytological and DNA amount could be evaluated together. At the end of the study, the consistency of morphological and cytological predictions was interpreted based on the flow cytometry method, which gave the most reliable result. It has been concluded that preselection can be made in a large plant population by morphological and cytological means, but analysis by flow cytometry is necessary to confirm the ploidy level of the selected plants.

**Keywords:** *Capsicum annuum*, flow cytometry, stoma, ploidy

### GİRİŞ

Dünyada ılıman ve tropikal bölgelerde yetiştirilen önemli bir sebze türü olan biberde dünya üretimi 36 milyon ton civarındadır. Türkiye; üretim miktarı bakımından ilk üç sırayı alan Çin, Meksika ve Endonezya'dan sonra, 2.6 milyon tonluk üretim ve %7.3'lük payla dünya biber üretiminde dördüncü sırada yer almaktadır [5].

Biber, klasik ıslah yöntemlerine ek olarak hızlandırıcı ıslah tekniklerinden doku kültürü, omik teknolojileri ve poliploid ıslah yöntemlerini kullanarak geliştirilmesi gereken önemli bir sebze türüdür. Biber çeşitlerine antimitotik ajanlar kullanılmak suretiyle üretilen tetraploid bitkiler, üretim ve ıslah materyali olarak kullanılabilir. Poliploidi hem yabani hem de kültür bitkilerinde evrimsel sürecin içinde yer alan başlıca kaynaklardan

\*Sorumlu yazar / Corresponding author: emreipek1992@hotmail.com

biridir. Poliploid organizmalar diploid akrabalarına göre çoğunlukla daha yüksek vigor veya farklı özellikler bakımından daha üstün özellikler gösterir [22]. Zira poliploid bitkilerin morfolojik değişiklikler, genetik uyum ve çevresel streslere karşı diploidlere göre daha toleranslı ve esnek olabildikleri bildirilmektedir [18, 27, 30]. Poliploidler, bitki çeşitlerinin geliştirilmesini sağlamak için doğal veya sentetik yollar ile poliploidiyi teşvik eden birçok bitki ıslahçısının son yüzyılda temel hedefi olmuştur. Poliploidlerin bitki ıslahında sağladığı önemli sonuçlar, bitki organlarındaki artış (gigas etkisi), zararlı mutasyonlardan koruması, heterozigoti ve heterozisi arttırmasıdır. Ayrıca poliploidi ıslahı ile mayotik hatalardan dolayı fertilitede azalmaya neden olunur (triploid genotipler gibi) ve çekirdeksiz (tohumsuz) genotipler elde edilebilir [22]. Bunun diğer bir yolu da poliploidi ıslahı ile tetraploid bitkiler elde ederek bunların diploidlerle melezlenmesi, böylece triploid çeşitlerin elde edilmesidir.

Tüketiciler için partenokarpik (tohumsuz= çekirdeksiz) meyveler oldukça cezbedicidir. Özellikle karpuzda tohum miktarı ve iriliği fazla olan çeşitler tüketiciler tarafından tercih edilmemekte, patlıcanda tohumlar meyve etinde kahverengileşmeye ve acılaşmaya neden olarak tüketim kalitesini düşürmekte ve biberde tohum özellikle endüstriyel amaçlı kullanımda tercih edilmemektedir. Bu nedenle son yıllarda ıslahçı tohum firmaları, tohum miktarı az ve küçük olan ya da çekirdeksiz çeşitler geliştirmeye yönelik çalışmalara ağırlık vermiştir. Doğal partenokarpi yoluyla çekirdeksiz biber çeşitlerinin elde edilmesi günümüze kadar mümkün olmamıştır ve bu yüzden partenokarpiyi teşvik için kimyasal uygulamalar kullanılmaktadır. Birçok sebze türünde partenokarpinin teşvik edilmesi için oksinler, gibberellinler ve sitokininler [24, 14] ve oksin taşınımını engelleyen inhibitörler [14] yaygın ve başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Çekirdeksiz (tohumsuz) meyve elde etmenin pratikte yer edinen diğer bir yolu da poliploidi ıslahı kullanılarak elde edilen tetraploid hatların ana ebeveyn olarak kullanımı ve bunların diploid baba hatlarla melezlenerek triploid çeşitler elde edilmesidir. 1937 yılında kolhisin adı verilen bir alkaloidin antimitotik etki yaptığı anlaşıldıktan sonra, poliploid bitkilerin elde edilmesi için yapılan çalışmalar hızlanmıştır. Triploid (3x) hibrit karpuz, ilk kez Kihara ve Nishiyama tarafından 1939'da üretilmiştir ve çekirdeksiz meyve üretimi için kolhisin kullanımı ile teşvik edilen poliploidlere klasik bir örnektir [6]. Poliploidinin yapay olarak uyarımında çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte birçok türde en yaygın olarak kullanılan kimyasallar,

kolhisin ve oryzalin adlı antimitotik maddelerdir. *Colchisum autumnale* (güz çiğdemi) bitkisinden ekstrakte edilen bir alkaloid olan kolhisin, mitoz bölünmenin metafaz aşamasından sonra mikrotübül sentezini etkileyerek iğ iplikçiklerinin oluşumunu bloke eder ve böylece kromozom sayısının katlanmasını sağlar [2]. Poliploidi, kolhisin uygulamaları ile sağlanabilmekte ve bitki ıslahçılarının ihtiyaç duyduğu bitki materyallerine sadece bir üretim sezonunda ulaşılabilmektedir [20].

Tetraploid bitki elde etmede kolhisin uygulamaları nispeten hızlı, pratik ve güvenilir bir yöntemdir [19]. Kolhisin kullanılarak kromozom sayısının katlanması (ploidi seviyesinin artırılması) uygulamalarında, tohumların kolhisin çözeltisine daldırılması veya çimlenen tohuma uygulama (%0.001 ile %1 arasında, %0.2 daha yaygın), genç fidelerin sürgün uçlarına ve koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulanması (%0.1 ile %1 arası), kotiledon aşamasında büyüme ucu uygulaması (%10'luk gliserin içinde %0.2 ile %0.4 kolhisin) ve *in vitro* besin ortamlarına kolhisin ilavesi (%0.05 ile %1.0 arası) gibi çok farklı yöntemler kullanılmaktadır [7, 16, 13, 2]. Bununla birlikte en yaygın ve etkili uygulama şekli fide aşamasında sürgün uçlarına uygulamadır [3].

Kolhisin uygulamaları sonrası ploidi seviyesinin belirlenmesinde morfolojik, sitolojik ve flow sitometri analizleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Compton ve ark. [4] karpuzda tetraploid bitkilerde kloroplast yoğunluğu, yumurtalık çapı, erkek çiçeklerin taç yaprak genişliği, anter çapı ve yaprak boy/genişlik oranlarının ploidi belirlemede iyi göstergeler olduğunu bildirmişlerdir. Sarı ve ark. [21] karpuzda ploidi düzeyin belirlenmesinde kromozom sayımları ve morfolojik gözlemlerin uzun zaman alması, flow sitometri için pahalı bir cihaza ihtiyaç duyulması nedeniyle stoma ve kloroplast sayımı ve ölçümlerinin pratik ve alternatif bir yöntem olduğunu rapor etmiştir. Koh [15] tetraploid karpuz bitkilerinde her bir meyve başına düşen tohum miktarının diploidlere göre yaklaşık 1/10'u kadar daha az olduğunu ve birçoğunun da boş embriyo oluşturduğunu bildirmiştir. Yine tetraploid karpuz bitkilerin diploid bitkilere göre yapraklarının daha geniş ve erkek çiçeklerinin daha büyük [10], meyve kabuğunun daha kalın, meyve başına tohum sayısının daha düşük, tohumlarının boş ve zayıf embriyolu ve kotiledon yapraklarının daha hacimli (kalın) olduğu belirtilmiştir [11]. Poliploid bitkilerin daha büyük, daha geniş ve koyu yeşil yapraklara sahip olduğu aynı zamanda abiyotik stres koşullarına karşı daha toleranslı olduğu rapor edilmiştir [23, 16]. Alsahlany ve ark. [1] patatesten ploidi seviyesinin belirlenmesinde kloroplast sayımı, SNP (Single

Nucleotide Polymorphism) ve flow sitometri yöntemleri ile benzer sonuçlar elde edildiğini, bu bakımdan kloroplast sayım tekniğinin ıslahçılar için diploid ve tetraploid bitkileri belirlemede, ucuz ve kullanışlı bir metot olduğunu ifade etmişlerdir. Tetraploid biberlerin diploid eşdeğerlerine göre daha büyük ve geniş çiçeklere sahip olduğu, diploid çiçeklerde tipik olarak 6 stamen ve petal olduğu, buna karşın tetraploid çiçeklerde 7 stamen ve petal bulunduğu, yine tetraploid bitkilerin %20 daha büyük ovaryum ve %25 daha büyük polen çapına sahip olduğu bildirilmiştir [8]. Tetraploid biberlerde yaprak alanı ve kalınlığının arttığı, diploid olanlara göre meyve uzunluğu ve ağırlığının daha düşük olmasına rağmen, artan meyve yükünde daha homojen meyveler elde edildiği belirtilmektedir [26]. Yine tetraploid patlıcan bitkilerinde yaprak alanı ve fotosentez ürünlerinde artışla birlikte meyve yüküne bakılmaksızın küçük ama daha homojen meyvelerin elde edildiği rapor edilmiştir [28].

Flow sitometri 1980'li yıllardan bu yana bitki DNA içeriğinin tahminlenmesinde, bitki ıslahında özellikle genom büyüklüğü ve ploidi seviyesinin belirlenmesinde (özellikle poliploid ve hibrit ıslahında) yaygın olarak kullanılmaktadır. Doku kültüründen elde edilen bitkilerde somaklonal varyasyonlar sonucunda DNA'nın stabil olmaması nedeniyle flow sitometri analizi tavsiye edilmektedir [25]. Domateste tetraploid bitkilerin doğrulamasında flow sitometri ve kök uçları preparasyonlarında sitogenetik analizlerin başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir [19]. Yine karpuzda kromozom sayım yönteminin tetraploid belirlemede diğer yöntemlere göre daha fazla zaman aldığı, flow sitometri analiz yönteminin tetraploid bitkilerin tespit edilmesinde daha hızlı ve elverişli olduğu rapor edilmiştir [12, 9].

Bu çalışmada, ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere belirlenen kapyta biber ıslah hatlarına ait tohumlarda veya bu tohumlardan yetiştirilen genç bitkilerde kolhisin uygulamaları yapılarak poliploidin teşvik edilmesi planlanmıştır. Kapyta biber genotiplerin tohum ve koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulaması sonrasında elde edilen bitki ve sürgünlerde ploidi seviyesinin belirlenmesinde, morfolojik, sitolojik ve flow sitometri analizlerinin karşılaştırılması yapılmış ve sonuçları bir arada değerlendirilmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Bu araştırma 2020 ve 2021 yıllarında Petektar Tohum San. Tic. Ltd. Şti., Aksu/Antalya, fidelikleri

ve üretim seralarında yürütülmüştür. Çalışmada, firmanın kapyta biber ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere gen havuzunda bulunan 12 farklı kapyta biber hattı kullanılmıştır.

### Metot

Kapyta biber hatlarında ploidi artışının teşvik edilmesi amacıyla kolhisin uygulamaları, biber tohumlarının kolhisin çözeltisine daldırılması ve genç fidelerin koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulaması şeklinde iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

•Tohumların Kolhisin Çözeltisine Daldırılması: Kapyta biber hatlarının her birinden 10'ar adet tohum  $\times$  4 tekerrür olacak şekilde; içinde %0.1 ve %0.2'lik 10 ml kolhisin çözeltisi bulunan amber renkli şişelerde (100 ml'lik) 24 ve 48 saat süresince 25°C sıcaklığındaki iklim dolabında uygulamaya tâbi tutulmuştur [17]. Uygulamalar sonrası kolhisin çözeltisi süzöldükten sonra (atıklar güvenli şekilde muhafaza edilmiştir) tohumlar önce çeşme suyu ile ve daha sonra saf suda 10 dk. süresince durulanmıştır. Tohum uygulaması tamamlandıktan hemen sonra, tohumlar hiç bekletilmeden viyollere ekilmiştir. Kontrol olarak saf su içinde bekletilen tohumlar da aynı zamanda ekilmiştir. Kolhisin uygulaması görmüş tohumlar ile birlikte fide dönemi kolhisin uygulamaları için hiç uygulama görmemiş tohumlar, ayrı bir set halinde ekilmiştir. Ekim yapılan viyoller 24°C sıcaklığındaki çimlendirme odasında 3 gün tutulmuş ve kökçük çıkışı başlar başlamaz firmaya ait fide serasına alınmışlardır. Fidler dikim büyüklüğüne gelene kadar gerekli kültürel işlemler fidelikte gerçekleştirilmiştir.

•Genç Fidlerin Koltuk Tomurcuklarına Kolhisin Uygulaması: Kolhisin uygulanmamış tohumlardan meydana gelen fideler, 3-4 gerçek yapraklı hale gelince 15 cm çapında içinde fide harcı bulunan saksılara dikilmiştir. Saksılardaki fideler 4-5 yapraklı döneme ulaştığında tepe budaması yapılmış ve hemen ardından koltuk tomurcuklarına %0.3 ve %0.5 dozlarında 12 ve 24 saat süre boyunca kolhisin uygulaması yapılmıştır. Fidlerde tepe kesimi yapıldıktan sonra, küçük pamuk topları kolhisin solüsyonlarına daldırılarak pamukların bu çözeltiyi emmesi sağlanmış, bir pens yardımı ile alınan kolhisin emdirilmiş pamuk topları, biber fidelerinin koltuk tomurcukları üzerine tutturulmuştur. Daha sonra koltuk tomurcukları üzerindeki pamuk toplarının ışıktan etkilenmemesi ve uygulama süresince kurumaması amacıyla, üzerleri alüminyum folyo ile tomurcuklara zarar vermeyecek şekilde sarılmıştır. Uygulama sürelerinin sonunda alüminyum folyo sökülmüş, tomurcuklar saf su ile

yıkanmış ve uygulama yapılan tomurcuğun bulunduğu yaprağa plastik halka etiketler takılmıştır. Uygulama sonrası fideler seralardaki yerlerine dikilmeden önce bir hafta daha fidelikte bekletilmiştir. Gerek tohumlara kolhisin uygulamasından elde edilen fideler gerekse de koltuk tomurcuklarına kolhisin uygulanmış fideler ve kontrol grubu fideler 2020 bahar döneminde seralardaki yerlerine dikilmiştir. Yetiştiricilik süresince tüm bitkilerde gerekli her türlü kültürlü işlemler, hastalık ve zararlılar ile mücadele işlemleri gerçekleştirilmiştir. Tohum uygulamalarından meydana gelen bitkilerde ve kolhisin uygulanmış koltuk tomurcuklarından meydana gelen sürgünlerdeki çiçeklerde kendilemeler yapılmış ve kendilenmiş meyveler hasat edilerek tohumları elde edilmiştir.

•Morfolojik, Sitolojik ve DNA Miktarına (Flow Sitometri) Göre Yapılan İncelemeler: 2020 bahar döneminde elde edilen kendilenmiş tohumlar ve kontrol olarak 12 genotipin tohumları 2020 güz döneminde viyollere ekilmiş ve fideler fidelikte yetiştirildikten sonra seralardaki yerlerine dikilmiştir. Serada yerlerine dikilmiş yaklaşık 4500 adet bitkide, çiçek çapı, yaprak alanı, meyve eni / boyu ve tohum oluşumu gibi morfolojik karakterler bakımından değerlendirilmiştir. Çiçek çapı, meyve eni ve boyu bir kumpas yardımı ile ölçülmüştür. Meyvelerde tohum oluşumu ise hasat olgunluğuna gelmiş meyvelerde, meyvedeki tohum sayısına göre çok fazla (50 ve üzeri), çok (30-50 arası), az (10-30 arası), çok az (0-10) ve yok (0) olarak belirlenmiştir. Yaprak alanı ölçümleri için her bir uygulamaya ait bitkilerden alınan yaprak (büyüme ucundan itibaren 4. yaprak) örnekleri alüminyum folyo arasına konulmuş ve uygulama kodu folyo üzerine yazılmıştır. Daha sonra her bir uygulama grubundan yapraklar ayrı ayrı sarılarak kuru buz kutularına sarılarak ölçüm için hazırlanmıştır. Yaprak alanı ölçümleri, Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ndeki LI-COR, LI-3000C model yaprak alanı ölçer cihazında yapılmıştır.

Yine bu bitkilerin yapraklarında sitolojik gözlem olarak birim alandaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu belirlenmiştir. Bitkilerin büyüme ucundan itibaren 4. yaprak alınmış ve her yaprakta bir preparat hazırlanarak, Saptop, CX40-T marka trinoküler mikroskopta 3 farklı bölgede birim alanda (0.08 mm<sup>2</sup>) alanda sayım ve ölçümler yapılmıştır. Preparat hazırlanırken yaprağın alt kısmından bir miktar epidermis lam üzerine konulup, üzerine 1 damla saf su damlatılarak lamel kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlarda stoma sayısı, stoma eni ve boyu belirlenmiştir. Ölçümler 40 büyütme objektif ve 10 büyütme okülerde yapılmıştır.

2020 güz döneminde morfolojik ve sitolojik gözlem/ölçümlerle olası poliploid adayı olarak belirlenen bitkilerin kendilenmiş meyvelerinden alınan tohumlar 2021 bahar döneminde viyollere ekilmiş ve firmaya ait fidelikte fideler yetiştirilmiştir. Genç fidelerden 4-5 yapraklı dönemde alınan yaprak örneklerinde flow sitometri analizi gerçekleştirilmiştir. Flow sitometri analizi için her bir olası poliploid bitkiden yaprak büyüklüğüne bağlı olarak 1 veya 2 adet yaprak alınmış, nemli kaba filtre kağıtları arasına yerleştirilerek dip tarafından delinmiş olan 60x90 mm kilitli örnek poşeti içine yerleştirilmiş ve örnek poşetleri, içinde buz kasetleri bulunan (örneklerin buzla temasını önlemek için araya strafor konulmuştur) mini soğutmalı buz kutusu içine yerleştirilmiştir. Tüm olası poliploid bitkilerden örnek alımı gerçekleştirildikten sonra flow sitometri analizi, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ndeki, Partec Cyflow Space marka flow sitometri cihazında gerçekleştirilmiştir [29].

## BULGULAR

Tohumlara kolhisin uygulamalarından elde edilen olası tetraploid bitkilerin ve kontrol bitkilerinin morfolojik karakterler olan ortalama çiçek çapı, yaprak alanı, meyve eni ve boyu üzerine etkileri Çizelge 1'de ve sitolojik incelemeler olan yaprakta birim alandaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu değerleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Olası tetraploid bitkilerde ortalama çiçek çapı (3 no.lu hat hariç), yaprak alanı, meyve eni ve boyu değerlerinin kontrol bitkilerine kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Olası tetraploidlerin çiçek çapı değerleri, 25.0 mm ile 29.5 mm arasında, yaprak alanı 23.8 cm<sup>2</sup> ile 62.3 cm<sup>2</sup>, meyve eni 3.0 cm ile 4.9 cm ve meyve boyu 6.7 cm ile 19.0 cm arasında değişmiştir (Çizelge 1).

Kontrol bitkilerinde birim alandaki stoma sayısı 8.3 ile 13.0 adet arasında değişirken, olası poliploid bitkilerde 4.3 ile 8.3 adet arasında değişmiştir. Kontrol bitkileri ile kıyaslandığında stoma eni 1, 3, 7 ve 10 no.lu hatlar hariç olası tetraploid bitkilerde daha düşük olarak belirlenirken, stoma boyu 4 ve 10 no.lu hatlar hariç kontrol bitkilerine göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Genel olarak bir değerlendirme yapıldığında, olası tetraploid bitkilerde birim alandaki stoma sayısının aynı hat içinde kontrol bitkisine göre daha az olduğu belirlenmiş ve stomaların özellikle boyunun kontrole göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Koltuk tomurcuğuna kolhisin uygulamalarının ardından seçilerek, olası poliploid olarak belirlenen bitkilerde ortalama çiçek çapı (3 no.lu hat hariç),

yaprak alanı ve meyve eninin kontrol bitkilerine göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Meyve boyu bakımından bir değerlendirme yapıldığında 3, 5, 6, 7, 9, 10 ve 11 no.lu hatlarda kontrol bitkilerinin daha uzun meyvelere sahip olduğu, diğer hatlarda ise olası tetraploidlerin (1, 2, 4, 8 ve 12 no.lu hatlar) daha uzun meyveye sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 1. Tohum uygulamalarında ortalama çiçek çapı, yaprak alanı, meyve eni ve boyu değerleri  
Table 1. Mean flower diameter, leaf area, fruit width and length values of seed treatments

Hat no Inbred line number	Çiçek çapı (mm) Flower diameter		Yaprak alanı (cm <sup>2</sup> ) Leaf area		Meyve eni (cm) Fruit width		Meyve boyu (cm) Fruit length	
	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid
1	24.3	26.3	24.4	43.5	2.3	4.1	7.8	14.7
2	23.7	25.3	42.4	50.0	3.3	4.9	8.1	16.6
3	27.6	26.5	40.7	50.9	2.7	4.4	11.4	19.0
4	25.2	26.7	45.9	56.1	3.0	4.7	10.5	17.0
5	25.3	27.3	30.3	33.7	1.7	3.0	6.3	9.5
6	19.7	27.5	19.1	23.8	1.5	3.0	3.9	6.7
7	22.1	28.7	29.1	40.0	3.2	4.8	8.2	9.7
8	24.0	27.9	35.8	58.7	3.1	4.5	7.1	10.5
9	26.7	29.0	40.9	62.3	3.2	4.2	12.7	17.7
10	26.3	29.5	53.7	60.6	2.7	4.5	11.1	15.9
11	24.9	25.9	53.8	54.7	3.0	4.5	10.0	14.8
12	22.2	25.0	26.7	38.8	2.4	4.7	7.5	10.9

Çizelge 2. Tohum uygulamalarından elde edilen bitkilerin yapraklarında birim alandaki ortalama stoma sayısı, stoma eni ve boyu değerleri

Table 2. Mean stoma number in unit of area, stoma width and stoma length values in leaf of plants obtained from seed treatments.

Hat no Inbred line number	Stoma sayısı (adet) Stoma number		Stoma eni (µm) Stoma width		Stoma boyu (µm) Stoma length	
	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid
1	11.0	6.9	21.5	24.0	30.4	32.6
2	12.3	6.1	27.3	25.0	33.0	34.8
3	13.0	6.3	23.2	23.4	30.6	33.3
4	9.0	6.6	28.7	26.9	33.4	32.6
5	11.0	5.9	26.7	23.3	29.3	32.6
6	9.7	5.4	27.7	25.4	34.1	37.4
7	8.3	4.3	24.0	27.3	30.9	45.3
8	12.7	7.6	26.4	24.3	33.2	34.9
9	8.7	6.6	24.6	24.1	32.2	34.8
10	10.3	7.5	23.7	24.4	33.2	31.2
11	11.0	8.0	26.1	24.6	33.0	35.5
12	12.3	8.3	30.2	29.1	36.0	39.7

Sitolojik incelemeler olarak değerlendirilen parametrelerden birim alandaki stoma sayısı, olası tetraploidlerde kontrol bitkilerine göre daha düşük olarak belirlenmiştir. Stoma eni (3, 5, 8 ve 12 no.lu

hatlar hariç) ve stoma boyu bakımından (8 no.lu hat hariç) olası poliploidlerin kontrol bitkilerine kıyasla daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, olası tetraploid bitkilerdeki stomaların kontrol bitkilerine göre daha iri olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4).

Çizelge 3. Koltuk tomurcuğu uygulamalarında ortalama çiçek çapı, yaprak alanı, meyve eni ve boyu değerleri

Table 3. Mean flower diameter, leaf area, fruit width and length values of axillary bud treatments

Hat no Inbred line number	Çiçek çapı (mm) Flower diameter		Yaprak alanı (cm <sup>2</sup> ) Leaf area		Meyve eni (cm) Fruit width		Meyve boyu (cm) Fruit length	
	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid
1	24.3	27.0	24.4	37.0	2.3	2.9	7.8	9.0
2	23.7	26.0	42.4	60.3	3.3	3.9	8.1	10.4
3	27.6	27.0	40.7	56.7	2.7	2.9	11.4	11.2
4	25.2	25.8	45.9	61.2	3.0	3.8	10.5	12.7
5	25.3	29.0	30.3	60.0	1.7	2.2	6.3	5.8
6	19.7	21.0	19.1	35.2	1.5	1.9	3.9	3.3
7	22.1	29.5	29.1	40.5	3.2	3.8	8.2	6.2
8	24.0	28.3	35.8	49.5	3.1	3.9	7.1	9.0
9	26.6	28.5	40.9	55.6	3.2	3.6	12.7	8.3
10	26.3	29.0	53.7	67.5	2.7	3.2	11.1	9.5
11	24.9	27.5	53.8	66.6	3.0	3.6	10.0	6.8
12	22.2	24.0	26.7	37.1	2.4	2.8	7.5	8.1

Çizelge 4. Koltuk tomurcuğu uygulamalarından elde edilen sürgünlerin yapraklarında birim alandaki ortalama stoma sayısı, stoma eni ve boyu değerleri

Table 4. Mean stoma number in unit of area, stoma width and stoma length values in leaf of shoots from axillary bud treatments.

Hat no Inbred line number	Stoma sayısı (adet) Stoma number		Stoma eni (µm) Stoma width		Stoma boyu (µm) Stoma length	
	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid	Kontrol Control	Olası tetraploid Putative tetraploid
1	11.0	6.3	21.5	23.4	30.4	34.7
2	12.3	6.5	27.3	28.5	33.0	38.5
3	13.0	8.0	23.2	22.1	30.6	32.3
4	9.0	6.9	28.7	29.4	33.4	38.8
5	11.0	4.6	26.7	25.0	29.3	37.4
6	9.7	-	27.7	-	34.1	-
7	8.3	5.0	24.0	24.5	30.9	38.4
8	12.7	8.5	26.4	23.6	33.2	32.1
9	8.7	4.8	24.6	26.5	32.2	38.5
10	10.3	8.0	23.7	24.2	33.2	37.9
11	11.0	7.0	26.1	26.2	33.0	40.8
12	12.3	7.3	30.2	27.7	36.0	40.5

Kontrol bitkileri ile olası tetraploid bitkilerin meyve başına tohum sayıları kontrol bitkilerinde ‘çok fazla’ (50 ve üzeri; 1, 2, 4, 7, 9 10 ve 12 no.lu hatlar)

ve ‘çok’ (30 ile 50 arası; 3, 5, 6, 8 ve 11 no.lu hatlar) olarak belirlenirken, hem tohumlara kolhisin uygulaması hem de koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamalarından elde edilen bitkilerde tohum sayısı ‘az’ (10 ile 30 arası) veya ‘çok az’ (0 ile 10 arası) olarak belirlenmiştir (Çizelge 5).

Morfolojik ve sitolojik gözlemler sonucunda tohum veya koltuk tomurcuğu uygulamalarından elde edilen olası tetraploid bitkilerin, gerçekten tetraploid kromozom yapısına sahip olup olmadıklarının doğrulanması için gerçekleştirilen flow sitometri analiz sonuçları Çizelge 6 ve 7’de verilmiştir. Tohum uygulamalarından sitolojik gözlemler sonucunda 89 adet ve morfolojik gözlemler sonucunda 176 adet, koltuk tomurcuğu uygulamalarından ise sitolojik gözlemlerde 34 adet ve morfolojik gözlemlerden ise 117 adet olmak üzere, her iki uygulamadan toplamda 416 adet ‘olası tetraploid bitkide flow sitometri analizi gerçekleştirilmiştir. Flow sitometri analizi sonrasında toplam 416 adet olası tetraploid bitkiden, 56 tanesi (%13.46) tetraploid kromozom miktarını net olarak göstermiştir. Bu tetraploidlerden 27 tanesi (%10.19) tohum uygulamaları, 29 tanesi (%19.21) koltuk tomurcuğu uygulamalarından elde edilmiştir (Çizelge 6 ve 7).

Çizelge 5. Tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamalarından elde edilen olası tetraploid bitkilerde ve kontrol bitkilerinde meyve başına tohum sayısı

Table 5. Seed number per fruit in putative tetraploid and control plants obtained from seed and axillary bud colchicine treatment

Hat no Inbred line number	Meyve başına tohum sayısı (adet) / Seed number per fruit		
	Kontrol Control	Tohum uygulamalarından elde edilen olası tetraploidler Putative tetraploids from seed treatments	Koltuk tomurcuğu uygulamasından elde edilen olası tetraploidler Putative tetraploids from axillary bud treatments
1	66	17	15
2	52	23	22
3	47	28	24
4	71	16	19
5	37	6	5
6	32	9	7
7	83	24	18
8	41	20	25
9	55	10	8
10	69	29	23
11	44	27	23
12	68	19	21

Sitolojik ve morfolojik gözlemler bazında değerlendirme yapıldığında tohum ve koltuk tomurcuğu uygulamalarından toplamda 17 adet tetraploid bitkinin sitolojik gözlemlerle uyumluluk gösterdiği, 39 adet tetraploidin ise morfolojik gözlemlerle birebir uyduğu görülmüştür. Elde edilen tetraploidlerin genotiplere göre dağılımına

bakıldığında, en fazla sayıda tetraploid bitki sayısı tohum uygulamalarında 7 no.lu genotipte 22 adet, koltuk tomurcuğu uygulamalarında ise 5 no.lu genotipte 9 adet olarak belirlenmiştir. Gerek tohum gerekse koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamaları sonrası 1 ve 8 no.lu genotiplerde tetraploid bitki saptanamaz iken, diğer genotiplerde en az birer adet tetraploid bitki belirlenmiştir.

Çizelge 6. Tohum uygulamalarında sitolojik, morfolojik gözlemler ve flow sitometri analizine göre tetraploid bitki sayıları

Table 6. Tetraploid plant numbers according to cytological, morphological examinations and flow cytometry analysis in seed treatments

Hat no Inbred line number	Sitolojik gözlemler Cytological examination		Morfolojik gözlemler Morphological examination	
	Sitolojik gözlemlere göre olası tetraploid bitki sayısı (adet) Putative tetraploid plant numbers according to cytological examination	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet) Tetraploid plant numbers according to flow cytometry	Morfolojik gözlemlere göre olası tetraploid bitki sayısı (adet) Putative tetraploid plant numbers according to morphological examinations	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet) Tetraploid plant numbers according to flow cytometry
1	7	-	*	-
2	13	-	53	-
3	9	1	2	2
4	1	-	2	-
5	22	1	3	-
6	12	-	15	-
7	8	6	20	16
8	5	-	47	-
9	5	1	7	-
10	2	-	6	-
11	3	-	13	-
12	2	-	8	-
Toplam Total	89	9	176	18

\*Olası tetraploid belirlenmemiştir.

\*Putative tetraploid was not determined.

Biber tohumlarına ve genç biber fidelerinin koltuk tomurcuğuna farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamalarının tetraploid bitki sayısı üzerine etkileri Şekil 1 ve Şekil 2’de verilmiştir. Tohum uygulamalarında flow sitometri analizi sonrası en fazla tetraploid bitki sayısı 14 adet ile %0.2-24 saat uygulamasından, en az ise 6 adet ile %0.1-24 saat uygulamasından elde edilmiştir. Koltuk tomurcuğuna kolhisin uygulamalarında ise en fazla tetraploid bitki 14 adet ile %0.3-24 saat uygulamasında meydana gelirken, en az ise 6 adet ile %0.3-12 saat uygulamasından elde edilmiştir. Tohum uygulamalarında %0.1-48 saat ve koltuk tomurcuğu uygulamalarında ise %0.5-24 saat uygulamasından tetraploid bitki elde etmek mümkün olamamıştır.

Çizelge 7. Koltuk tomurcuğu uygulamalarında sitolojik, morfolojik gözlemler ve flow sitometri analizine göre tetraploid bitki sayıları  
Table 7. Tetraploid plant numbers according to cytological, morphological examinations and flow cytometry analysis in axillary bud treatments

Hat no Inbred line number	Sitolojik gözlemler Cytological examination		Morfolojik gözlemler Morphological examination	
	Sitolojik gözlemlere göre olası tetraploid bitki sayısı (adet) Putative tetraploid plant numbers according to cytological examination	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet) Tetraploid plant numbers according to flow cytometry	Morfolojik gözlemlere göre olası tetraploid bitki sayısı (adet) Putative tetraploid plant numbers according to morphological examinations	Flow sitometri analizlerine göre tetraploid bitki sayısı (adet) Tetraploid plant numbers according to flow cytometry
1	4	-	5	-
2	3	1	20	1
3	1	-	1	-
4	3	1	17	1
5	5	2	7	7
6	*	-	6	1
7	4	2	18	2
8	2	-	16	-
9	5	2	1	1
10	1	-	3	3
11	1	-	4	4
12	5	-	19	1
Toplam Total	34	8	117	21

\*Olası tetraploid belirlenmemiştir.

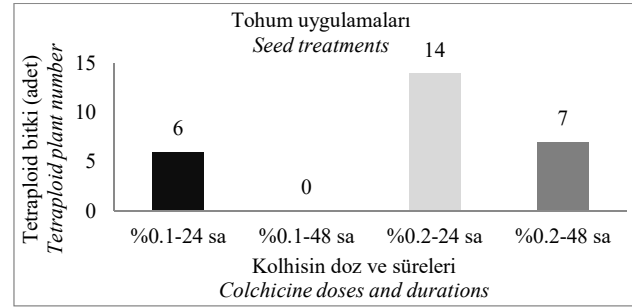
\*Putative tetraploid was not determined.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada 12 farklı kapa biber genotipinde tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamalarından elde edilen bitkilerde, morfolojik ve sitolojik gözlemler ile flow sitometri analizlerinin tetraploid bitkileri belirlemede etkinliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

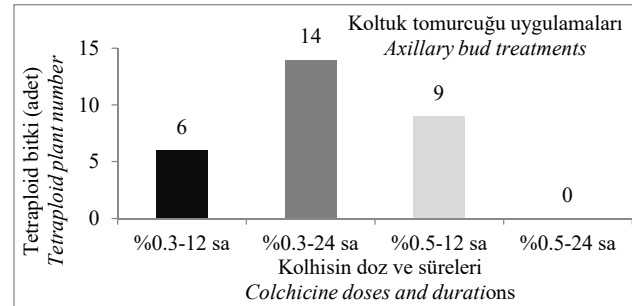
Tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamalarından elde edilen olası tetraploid bitkiler ile kontrol bitkileri arasında kıyaslama yapıldığında, morfolojik karakterler olan çiçek çapı, yaprak alanı, meyve eni/boyu ve meyve başına tohum miktarı bakımından önemli farklılıklar belirlenmiştir. Hem tohum uygulamaları hem de koltuk tomurcuğu uygulamalarında olası tetraploid olarak belirlenen bitkilerde 3 no.lu hat hariç çiçek çapının kontrol bitkilerinden daha fazla olduğu, yani olası tetraploid bitkilerin daha iri çiçeklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmalarda da tetraploid karpuz [4, 10], biber [8] ve patlıcan [13] bitkilerinde çiçeklerin daha büyük olduğu belirtilmiştir. Sattler ve ark. [22] poliploid bitkilerin organlarında gigas etkisi ile artış olduğunu ve diploid akrabalarına göre yüksek vigor ve üstün özellikler

gösterdiğini; Shao ve ark. [23] gibi Kulkarni ve ark. [16] da, poliploid bitkilerin daha büyük, daha geniş ve koyu yeşil yapraklara sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yaprak boyutlarında olduğu gibi ‘yaprak alanı’ bakımından da her iki kolhisin uygulama yönteminden elde edilen olası tetraploid bitkilerde kontrol bitkilerine göre daha yüksek sayısal değerler elde edilmiştir.



Şekil 1. Tohumlara farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamalarının tetraploid bitki sayısı üzerine etkileri

Figure 1. Effects of colchicine applications on seeds at different doses and durations on the number of tetraploid plants



Şekil 2. Biber fidelerinin koltuk tomurcuklarına farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulamalarının tetraploid bitki sayısı üzerine etkileri

Figure 2. The effects of different doses and durations of colchicine applications on the axillary buds of pepper seedlings on the number of tetraploid plants

Benzer bulgular tetraploid karpuzlarda [4, 10], tetraploid biberlerde [26] ve tetraploid patlıcanlarda [28] elde edilmiştir. Meyve eni ve boyu olası tetraploid bitkilerin bazılarında kontrol bitkilerine göre daha yüksek değerlere sahip olduğu halde, özellikle koltuk tomurcuğu uygulamalarından elde edilen olası tetraploidlerde meyve boyu özelliği kontrol bitkilerine göre genotiplere bağlı olarak bazen yüksek bazen düşük bulunmuştur. Tetraploid biber bitkilerinde diploid olanlara göre meyve uzunluğu ve ağırlığının daha düşük olduğu [26], yine patlıcanda küçük ama homojen meyvelerin elde edildiği başka çalışmalarda da bildirilmektedir [28]. Meyve

boyutlarının ploidi seviyesi ile birlikte verdiği sonuçların genotip bazında farklılık gösterdiği gözlenmiş ve genotip etkisi bu konuda oldukça önemli bulunmuştur. Tetraploid bitkilerde meyve başına tohum sayısı ile ilgili daha önceki çalışmalar incelendiğinde; karpuzda tohum sayısının diploid olanlara göre 1/10 daha az olduğu ve birçok tohumun embriyosunun az gelişmiş veya olmadığı [15, 11] bilgisine ulaşılmıştır. Sonuçları sunulan bu çalışmada da benzer bulgular elde edilmiş olup kontrol bitkilerinde meyve başına tohum miktarı ‘çok’ (30 ile 50 arası) veya ‘çok fazla’ (50 ve üzeri) olarak belirlenirken, olası tetraploidlerde ‘az’ (10 ile 30 arası) veya ‘çok az’ (0 ile 10 arası) olarak belirlenmiştir.

Hem tohum hem de koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamaları sonrası olası tetraploid bitkilerin yapraklarında birim alandaki stoma sayısının kontrol bitkilerine göre azaldığı, genel olarak stoma boyunun daha fazla olduğu belirlenirken, stoma eninin hatlara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, Khan ve ark. [13] patlıcanda tetraploid bitkilerde stomaların ve stomalardaki bekçi hücrelerinin diploid F<sub>1</sub>'lere göre daha büyük olduğunu, yine Kulkarni ve Borse [17] biberde birim alandaki stoma sayısının daha az, stomaların en ve boyunun diploidlere kıyasla daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Kolhisin veya oryzalin kullanılarak kromozom sayısı katlanmış poliploid bitkilerde ploidi seviyesinin belirlenmesi ile ilgili birçok türde yapılan daha önceki çalışmalarda morfolojik gözlemler, sitolojik yöntemler, kromozom sayımları ve DNA içeriğinin belirlenmesi (flow sitometri) gibi yöntemler kullanılmıştır. Karpuzda ploidi seviyesinin belirlenmesinde stoma ve kloroplast sayımı ve ölçümlerinin pratik ve alternatif yöntemler olduğu [21], yine karpuzda çiçek, yaprak, meyve ve meyvedeki tohum miktarı gibi morfolojik karakterlerin kullanılabilmesi [10, 11], domateste flow sitometeri ve kök ucu kromozom sayımlarında sitogenetik analizlerin başarılı bir şekilde kullanılabilmesi [19], patateste kloroplast sayımı, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ve flow sitometri yöntemleri ile benzer sonuçlar elde edildiği, bu bakımdan kloroplast sayım tekniğinin ıslahçılar için diploid ve tetraploid bitkileri belirlemede, ucuz ve kullanışlı bir metot olduğu rapor edilmiştir [1]. Bununla birlikte, karpuzda kromozom sayım yönteminin tetraploid belirlemede diğer yöntemlere göre daha fazla zaman aldığı, flow sitometri analiz yönteminin tetraploid bitkilerin tespit edilmesinde daha hızlı ve elverişli olduğu rapor edilmiştir [12, 9]. Bu çalışmada, tohum ve koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamaları sonrası elde edilen çok geniş bir bitki

popülasyonu içerisinde morfolojik gözlemlere göre 293 ve sitolojik gözlemlere göre 123 olmak üzere toplamda 416 olası tetraploid bitki belirlenmiştir. Olası tetraploid olarak belirlenen bu 416 bitkide gerçekleştirilen flow sitometri analizi sonrası ise 56 adet (%13.46) bitki, tetraploid kromozom miktarını göstermiştir. Tetraploid bitki elde etme oranı tohum uygulamalarında %10.19 olarak belirlenirken, koltuk tomurcuğu uygulamalarında ise %19.21 olmuştur. Kulkarni ve Borse [17], biberde tohumlara ve sürgün uçlarına kolhisin uygulaması sonrası elde edilen bitkilerde sitolojik gözlemler ile belirlen 313 olası poliploid bitkide gerçekleştirdikleri flow sitometri analizinde 31 adet (%9.9) tetraploid bitki belirlemişlerdir. Yine benzer bir çalışmada Ishikawa ve ark. [7], biber tohumlarına kolhisin uygulamaları sonrası meydana gelen bitkilerde yapılan flow sitometri analizi sonrasında %20 oranında tetraploid bitki elde etmişlerdir.

## SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, kopya biberde tetraploid bitki elde etmede hem tohum hem de koltuk tomurcuğu kolhisin uygulamalarının etkin bir şekilde kullanılabilmesini ortaya koymuştur. Kolhisin uygulamaları sonrası elde edilen geniş bir bitki popülasyonu içinde tetraploid bitkilerin belirlenmesinde, sitolojik/morfolojik ölçüm ve gözlemlerin ön seleksiyon yöntemleri olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir. Tetraploid bitkilerin belirlenmesinde flow sitometri analizi (DNA içeriğinin belirlenmesi) DNA'nın stabil olmasından kaynaklı olarak kesinlik ortaya koyan bir yöntem olmakla birlikte, flow sitometri cihazının ve analiz ücretinin pahalı olması nedeniyle kolhisin uygulamaları sonrası tüm bitkilerde bu analizin gerçekleştirilmesi mümkün olmayabilmektedir. Bu bakımdan özellikle ploidi ıslahıyla uğraşan ıslahçıların, yoğun iş gücü ve zaman gerektirmesine rağmen morfolojik/sitolojik gözlem ve ölçümler ile geniş bitki popülasyonu içinden olası tetraploid bitkileri belirlemesi ve tetraploidi kromozom seviyesinin kesinliği için aday bitkilerde flow sitometri analizi gerçekleştirilmesi tavsiye edilebilir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK TEYDEB tarafından desteklenmiş olan 7190921 no.lu projenin bir bölümünden hazırlanmıştır. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız. Çalışmamızda yaprak alanı ölçümlerinde destek sağlayan Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Kenan

SÖNMEZ'e ve Flow Sitometri analizleri için hizmet alımı kapsamında laboratuvar olanaklarından yararlanmamızı mümkün kılan Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Metin TUNA'ya teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR

1. Alsahlany, M., Zarka, D., Coombs, J., Douches, D.S. 2019. Comparison of methods to distinguish diploid and tetraploid potato in applied diploid breeding. *American Journal of Potato Research* 96 (3):244-254.
2. Amanah, H.A., Arumingtyas, E.L., Indriyani, S. 2016. Chromosome analysis of cayenne pepper (*Capsicum frutescens* L.) in colchicine induced mutation. *Journal of Applied Horticulture* 18(3):217-220.
3. Badu, M., Tripathy, B., Sahu, G.S., Kumar, Jena, A.K. 2017. Role of doubled haploids in vegetable crop improvement. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(6):384-389.
4. Compton, M.E., Gray, D.J., Elmstrom, G.W. 1996. Identification of tetraploid regeneration from cotyledons of diploid watermelon cultured in vitro. *Euphytica* 87:165-172.
5. FAO, 2020. FAOSTAT (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/qcl>; Erişim: 30.07.2022)
6. Grimboll, P.C. 1971. Production of seedless water melons. USDA, Technical Bulletin, No:1425.
7. Ishikawa, K., Mishiba, K., Yoshida, H., Nunomura, O. 1997. Establishment of tetraploid plants of *Capsicum annuum* L. by colchicines treatment with the analysis of flow cytometry. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 16:44-47.
8. Ishikawa, K., Kuboki, H., Mishiba, K. 2001. Tetraploid bell pepper shows high in vitro pollen germination at 15°C. *HortScience* 36(7):1336.
9. İnan, S. 2007. Karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum ve Nakai)'da *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle tetraploid bitki elde edilmesi (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 80s.
10. Jaskani, M.J., Kwon, S.W., Koh, G.C., Huh, Y.C., Ko, B.R. 2004-a. Induction and characterization of tetraploid watermelon. *Journal of The Korean Society for Horticultural Science* 45:60-65.
11. Jaskani, M.J., Kwon, S.W., Kim, E.J., Ko, B.R. 2004-b. Polyploidy affects fruit characteristics, seed morphology and germination in watermelon (*Citrullus lanatus*). *Journal of The Korean Society for Horticultural Science* 45(5):233-237.
12. Jaskani, M.J., Kwon, S.W., Dae, H.K. 2005. Flow cytometry of DNA contents of colchicine treated watermelon as a ploidy screening method at M1 stage. *Pakistan Journal of Botany* 37(3):685-696.
13. Khan, M.R., Hasnunnahar, M., Isshiki, S. 2013. Production of amphidiploids of the hybrids between *Solanum macrocarpon* and eggplant. *HortScience* 48(4):422-424.
14. Kim I.S. Okubo, H., Fujieda, K. 1992. Endogenous levels of IAA in relation to parthenocarpy in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Scientia Horticulturae* 52:1-8.
15. Koh, G. 2002. Tetraploid production of Moodeungsan watermelon. *Korean Society for Horticultural Science* 43(6):671-676.
16. Kulkarni, M., Borse, T., Chaphalkar, S. 2008. Mining anatomical traits: a novel modeling approach for increased water use efficiency under drought condition in plants. *Czech Journal of Genetics. Plant Breeding* 44:11-21.
17. Kulkarni, M., Borse, T. 2010. Induced polyploidy with gigas expression for root traits in *Capsicum annuum* (L.). *Plant Breeding* 129(4):461-464.
18. Mears, J.A. 1980. Chemistry of polyploids: a summary with comments on Parthenium (Asteraceae-Ambrosiinae). In: Lewis WH (ed.) *Polyploidy: biological relevance*. New York: Plenum Press 13:77-102 ([https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3069-1\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3069-1_5)).
19. Praça, M.M., Carvalho, C.R., Clarindo, W.R. 2009. A practical and reliable procedure for in vitro induction of tetraploid tomato. *Scientia Horticulturae* 122(3):501-505.
20. Rey, H.Y., Sansberro, P.A., Collavino, M.M., Daviña, J.R., González, A.M., Mroginski, L.A. 2002. Colchicine, trifluralin and oryzalin promoted development of somatic embryos in *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae). *Euphytica* 123:49-56.
21. Sarı, N., Abak, K., Pitrat, M. 1999. Comparison of ploidy level screening methods in watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai. *Scientia Horticulturae* 82:265-277.
22. Sattler, M.C., Carvalho, C.R., Clarindo, W.R. 2016. The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta* 243(2):281-296.
23. Shao, J., Chen, C., Deng, X. 2003. *In vitro* induction of tetraploid in pomegranate (*Punica granatum*). *Plant Cell Tissue Organ Culture* 75:241-246.
24. Sjut, V., Bangerth, F. 1982. Induced parthenocarpy: a way of changing the levels of endogenous hormones in tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.): 1. Extractable hormones. *Plant Growth Regulatuors* 1:243-251.

25. Sliwinska, E. 2018. Flow cytometry - a modern method for exploring genome size and nuclear DNA synthesis in horticultural and medicinal plant species. *Folia Horticulturae* 30(1):103-128.
26. Takizawa, K., Ishikawa, K., Nunomura, O., Ito, T. 2008. Ploidy level effect on physiology of pepper plant as affected by fruit loading. *ISHS Acta Horticulturae 779: International Symposium on Growing Media. Acta Horticulturae 779:689-697.*
27. Tal, M. 1980. Physiology of polyploids. In: Lewis WH (ed.). *Polyploidy: biological relevance*. New York: Plenum Press. 13:61-76. PMID: 550845.
28. Tanaka, M. 1950. Studies on artificial polyploid egg plants. I. The production of tetra-ploid eggplants by means of colchicine. *Reports Kihara Institute of Biological Research* 4:59-65.
29. Tuna, M. 2014. Flow sitometri ve tarımsal araştırmalarda kullanımı. II. flow sitometri ve tarımsal araştırmalarda kullanımı eğitim programı notları, 16-17 Ocak 2014, Tekirdađ.
30. Xiong, Y.C., Li, F.M, Zhang, T. 2006. Performance of wheat crops with different chromosome ploidy: root-sourced signals, drought tolerance, and yield performance. *Planta* 224:710-718 (doi:10.1007/s00425-006-0252-x).