

ASMA ISLAHINDA POLİPLOİDİ ÇALIŞMALARI

Zeliha ORHAN ÖZALP*, Onur ERGÖNÜL
Bağcılık Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Tekirdağ, Türkiye
*Corresponding author: e-mail: zelihaozalp@bagcilik.gov.tr

Received (Alınış) : 10 Ekim 2014, Accepted (Kabul Ediliş) : 16 Aralık 2014, Published (Basım) : Ağustos 2015

Özet: Dünyada çekirdeksiz üzüm çeşitleri tüketiciler tarafından daha fazla tercih edilmektedir. İslah çalışmalarında çekirdeksizliğin iki ana kaynağı vardır. Bunlar stenospemokarpi ve partenokarpidir. Çekirdeksiz üzümlerin en belirgin özelliği tanelerinin çekirdeksiz ancak küçük olmalarıdır. Asma ıslahında çekirdeksiz ve iri taneli yeni üzüm çeşidi elde etmede bir diğer yol poliploididir. Kyoho, Pione, Olimpia, Heukgoosul önemli tetraploid çeşitlerdir. Bunların diploidlerle melezlenmesi sonucu triploid Honey Seedless, King Dela ve Mirai çeşitler elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Üzüm, tetraploidi, kolhisin, flow sitometri.

Polyploidy Studies in Viticulture

Abstract: Seedless table grapes are the most preferred grapes by the consumers. Stenospermocarp and parthenocarp are the natural causes of seedlessness in breeding studies. The most significant characteristic of seedless grapes are their small sized and seedless fruits. Polyploidy is an alternative way to obtain seedless and large sized new table grape cultivars. Kyoho, Pione, Olimpia, Heukgoosul are some of the tetraploid grape varieties. Triploid grapes of the varieties Honey Seedless, King Dela and Mirai were obtained by hybridization of these tetraploid cvs. with diploid genotypes.

Key words: Grape, Tetraploidy, Colchicine, Flow Cytometer.

Giriş

Doğal melezleme, seleksiyon, mutasyon, poliploidi sonucu kültür bitkileri meydana gelmiştir (Şehirali ve Özgen 2010). Kültür bitkilerinin büyük kısmı ve belki de % 50'si allopoloiddir. Bunların en önemlileri arasında buğday, pamuk, tütün ve birçok buğdaygıl yem bitkisi sayılabilir. Allopoloidi, farklı genomlar taşıyan iki türün melezlenmesi ve kromozom sayısının iki katına çıkması ile oluşur. Genellikle iki türün kromozomları homolog olmadıklarından, aralarında eşlenmezler ve dolayısıyla melezler kısır olur. Ancak kromozom sayısının iki katına çıkması ile diploidi tekrar yaratılır ve döldarlık sağlanır. Poliploidi doğal olarak iki şekilde oluşur:

- Meristematik hücrelerde mitoz bölünme sırasında oluşan anormalliklere bağlı olarak somatik katlanmalar meydana gelir.
- Mayoz bölünme sırasında kromozom takımları ayrılmaz ve böylece gametler beklenenin iki katı kromozom taşırlar.

Yapay olarak bitkilerde poliploidi oluşturmak için ise kromozom katlama yöntemi kullanılır. Bu yöntemde ıslahçıların en çok kullandığı kimyasal kolhisindir. Bu madde güz çiğdeminin (*Colchicum autumnale* L.) köklerinden elde edilen alkaloid yapısında kuvvetli bir zehir olup; renksiz, alkol, kloroform ve soğuk suda eriyen; sıcak suda ve eterde

erimeyen bir maddedir. Kolhisin, uygulandığı dokuların hücrelerinde mitoz bölünmenin metafaz safhasında iğ ipliklerinin oluşumunu engeller ve dolayısı ile replikasyona uğramış kromozomların kutuplara çekilmesini önleyerek, kromozom sayısının iki katına çıkmasını sağlar (Köksal 1999). Kolhisin uygulaması ile suni olarak autotetraploid *Brassica* formları oluşturulabilmektedir. Bu formlar autopoloidi, allopoloidi ve amfiploidinin gen düzenlenmesi ve ekspresyonu konularını araştırmak için kullanılabilir (Snowdon 2009). Doku kültürü, pek çok konuda olduğu gibi poliploid bitkilerin elde edilmesinde de ıslahçılara kolaylık sağlamaktadır. Besin ortamına ilave edilen kromozom katlamada kullanılan kimyasal maddeler yardımıyla *in vitro* koşullarda poliploid bitkiler elde edilebilmektedir. *In vitro* koşullarda poliploid bitkilerin elde edilmesi için kullanılabilecek en pratik yöntemlerden birisi, besin ortamı içerisine kolhisin ilave edilmesi ve eksplantların bir süre için bu ortamda geliştirilmesidir (Griesbach 1990; Rose ve Tobutt 2000; Vainöle ve Repo 2000).

Bitkilerde tetraploid gibi ploidi seviyelerinin değiştirilmesi, özellikle süs bitkisi ve yaprağı yenen sebze türlerinde önemli bir ıslah yöntemidir (Petersen ve ark. 2003). Tetraploid bitkilerin hücre yapıları diploid bitkilere göre daha büyüktür. Bu nedenle tetraploid bitkilerin bazı vejetatif (gövde uzunluğu, yaprak eni ve boyu, yaprak sayısı) ve çiçek özelliği

(çiçek sayısı, stigma uzunluğu, yumurtalık büyüklüğü) diploid bitkilere göre oldukça farklı olduğu bildirilmiştir (El-Morsy ve ark. 2009, Vainola ve ark. 2000).

Bağcılıkta Yapılan Çalışmalar

Asmalar *Rhamnales* takımına bağlıdır. Bu takımın üç familyasından (Rhamnaceae, Leeaceae ve Vitaceae) yalnızca Vitaceae (Vitidaceae, Ampelidaceae, Ampelidae) familyasına ait bitkiler, bilinen anlamda asmaları tanımlamaktadır. Kültür asmalarının tümü *Vitis* cinsine aittir. *Vitis* cinsi iki alt cinsden oluşmaktadır. Bunlar, kromozom sayısı $2n = 38$ olan *Euvitis* ve $2n = 40$ olan *Muscadinia*'dır (Çelik ve ark. 1998). Asma ıslahı çalışmalarının hedefleri; verim-kalite, çekirdeksizlik, hastalıklara dayanıklılık, erkencilik-geçcilik, kuraklık ve soğuk gibi stres koşullarına dayanıklılıktır. Yabancı tozlanan çok yıllık bir bitki olması nedeniyle asma, ürün görmek için beklenen sürenin uzunluğu (2-5 yıl), kendilenme depresyonu ve somatik mutasyonlar ile himeyrelere görülmesi gibi problemlerle karşı karşıyadır (Yaşa 2005). Ülkemizde özellikle sofralık üzüm çeşitlerine yönelik ıslah programları, klon seleksiyonu ve melezleme ıslahı teknikleri ile yürütülmektedir. Yeni çeşit geliştirilmesinin hedeflendiği melezleme ıslahı çalışmaları, ıslah sürecinin çok uzun olmasına karşılık, değişen tüketici talepleri ve pazar ihtiyaçlarını beklenildiği ölçüde zaman zaman karşılayamamaktadır. Asma tür ve çeşitlerinin uzun yıllar vejetatif çoğaltılan populasyonlar olduğu dikkate alındığında, populasyon içerisinde yüksek mutasyon birikiminin bulunduğu açıktır. Bununla birlikte, klon düzeyinde yüksek oranda varyasyon gösteren üzüm çeşitlerinde gözlenen bu varyasyonlar, çevre koşullarından kaynaklandığı gibi, kalıcı nitelikte ise somatik mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Günümüzde ekonomik öneme sahip birçok üzüm çeşidi, somatik mutasyonların fark edilmesi ve selekte edilmesiyle geliştirilmişlerdir. Asmalarda doğal mutasyonlar sonucunda tetraploid yapıların gerçekleştiği çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Kunter ve ark. 2011). Bu çeşitlere; Alphonse Lavallée'nin "Leopold III", Muscat of Alexandria'nın "Muscat Canon Hall" (Olmo 1937), Chasselas'nın "Chasselas Gros Coulard" (Branas ve Truel 1965) ve Barbera isimli İtalyan üzüm çeşidinin ise iri taneli tetraploid formları (Botta ve ark. 1988) ve Razakı'nın "Centennial" (Kim ve ark. 2002) üzüm çeşitleri örnek olarak verilebilir.

20.yy'ın ikinci yarısında Çin, Japonya ve Kore büyük taneli çekirdekli ve çekirdeksiz sofralık üzüm eldesinde önemli gelişmeler göstermiştir. İslah çalışmalarında kromozom katlaması yöntemiyle tetraploid Kyoho, Pione, Olympima, Heukgoosul gibi üzüm çeşitlerini elde etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda tetraploid çeşitlerin diploid çeşitlerle melezlenmesi sonucu triploid Honey Seedless, King Dela ve Mirai gibi çekirdeksiz çeşitler geliştirilmiştir. Asya'da

triploid ve tetraploid olan hemen hemen bütün çeşitler *V. vinifera* ve *V. labrusca*'dan türemiştir.

2003 yılında Çin'de Champion Seedless triploid çekirdeksiz üzüm çeşidi piyasaya sunulmuştur (Zhao ve ark. 2009). Bu çeşit diploid Zaohong (*V. vinifera* L.) ve tetraploid Kyoho (*V. vinifera* x *V. labrusca*) çeşidinin melezlenmesi ile geliştirilmiştir. Gelişimi çok kuvvetli olup olgunlaşma zamanı Hebei-Çin'de Kyoho'dan 30 gün önce olup temmuz ayı sonudur. Salkımları orta-küçük ve gevşek yapılıdır. Salkım ağırlığı 210 g., tane ağırlığı ise 3 g'dır. GA₃ ve CPUU uygulamaları ile salkım ve tanelerde oldukça büyüklük sağlanabilmektedir. Ploidi seviyesi flow sitometri ve kromozom sayımı ile gerçekleştirilmiştir. Yine Çin'de 'Hu 30', yeni tetraploid sofralık üzüm çeşidi olarak tescil edilmiştir. Jinya ve Zizhenxiang melezidir. Salkımları konik ve ortalama 400 g, taneleri ise oval, mor-siyah renkli ve % 14-16.5 SÇKM 'de 8 g'dır. Meyveleri Shanghai, Çin'de Ağustos başında olgunlaşmaktadır. Çeşidin, iyi meyve tutumu, erken olgunlaşma, yüksek verim, iyi bir renklenme ve yüksek kalite, serada veya açıkta yetiştirmeye uygunluk gibi özellikleri vardır (Aili 2006).

Japonya'da sofralık üzüm üretiminin yarısını Kyoho ve Delaware üzüm çeşidi oluşturmaktadır. Kyoho (4x) üzüm çeşidi dünyadaki en önemli tetraploid üzüm çeşididir. *Vitis vinifera* x *Vitis labrusca* (Avrupa-Amerika melezi) melezidir. Japonya, Çin ve Kore'de oldukça popülerdir. Dane ağırlığı 12-15 g, Brix değeri % 18-20'dir. Olgunlaşması Ağustos sonudur. Taneleri menekşe-siyah renkli, çekirdekli, hastalıklara dayanıklı ve geniş bir adaptasyon yeteneği olan bir çeşittir. Meyveleri çok tatlı, sulu ve lezzetli, tatlı olarak soyulmuş şekilde tüketilebilmektedir. Japonya'da tetraploid üzüm eldesi için yapılan diğer bir araştırmada (Aihong ve ark. 2005) *in vitro* da Jingxiu ve Red Globe üzüm çeşitleri ile çalışmışlardır. Uygulamalar, sürgün parçalarının kolhisin solüsyonuna batırılması ve yetiştirme ortamına kolhisin eklenmesi şeklinde yapılmış ve ploidi seviyeleri flow sitometri ile ölçülmüştür. Araştırma sonuçlarına göre sürgün parçalarının kolhisin solüsyonuna batırılmasının yetiştirme ortamına kolhisin eklenmesine göre tetraploid bitki oluşumunu daha çok tetiklediği belirlenmiştir. Tetraploid bitki eldesi için en uygun şartlar, sürgün parçalarına 3-4 gün süre ile 3000 mg/L kolhisin solüsyonun yapıldığı uygulamada elde edilmiş, bu uygulama tetraploid bitki eldesini % 16,7-23,3 oranında arttırmıştır. Diğer bir çalışmada, Jingxiu üzüm çeşidinden kolhisin kullanarak tetraploid üzüm elde etmeye yönelik olarak kullanılan kültür ortamında, kolhisin konsantrasyonları ve kullanım sürelerinin etkisi incelenmiştir (Zhang ve ark. 2011). Tetraploid oluşumlar flow sitometri kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlara göre, tek gözlü çelikler için uygulama dozunun tetraploid oluşuma etkisinin uygulama zamanına göre daha etkili olduğu ve en iyi uygulamanın 24 saat süreyle % 0,3'lük konsantrasyondan elde edildiği tespit edilmiştir.

Kolhisinin yetiştirme ortamına katılmasına yönelik metotta ise uygulama zamanının konsantrasyondan daha güçlü etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu metotta en iyi uygulama ise 30 günlük 2000 mg/l'lik konsantrasyondan elde edilmiştir (Wu ve ark,2010).

Diploid hatlardan tetraploid yapıda fertil hatlar oluşturmak oldukça zordur. Çünkü kromozom katlamada kullanılan kimyasal, kullanılan doz, uygulama tekniği ve en önemlisi diploid genotipin yapısı tetraploid bitki elde edilmesini etkilemektedir. Birçok değişkene bağlı olarak oluşan tetraploid bitki elde etme oranı oldukça düşüktür. Tetraploid çeşitlerin özelliklerinin belirlendiği çalışmada (Olmo 1952), 20 tetraploid üzüm çeşidini 4 yıldan fazla bir süreyle incelenmiştir. Bu çeşitlerin iri tane ve erkenci oluşları haricinde bir takım zayıf yönlerinin de olduğu tespit edilmiştir. Zayıf vejetatif gelişim, kısa boğum arası mesafe, seyrek yaprak oluşumu ve bu nedenle meyvelerde güneş yanıklıkları oluşumu, dal, sürgün ve salkım saplarında gevrek yapı ve bu nedenle rüzgarda kolay kırılabilme durumu gözlenmiştir. Bunun yanında diploidlere göre düzensiz ve zayıf tane tutumu, daha az çiçeklenme ve sonuçta da verimde azalma gibi olumsuz yönler belirlenmiş. Ancak bazı tetraploid çeşitlerde belirtilen kusurlu yönlerin tersi belirtiler de görülmüştür.

Diploid asmaların olgunlaşmamış zigotik embriyolarından elde edilen somatik embriyolarına kolhisin uygulaması yoluyla *in vitro* da tetraploid bitki elde edilmesine yönelik protokol oluşturulması çalışmasında Yang ve ark. (2006), kolhisinin 0, 10 ve 20 mg/l'lik dozları ile 1,2 ve 3 gün uygulama sürelerini denemiştir. Bu metot kullanılarak yapılan ilk yayın olduğu yazar tarafından bildirilen araştırmada, uygulama zamanı ve dozu arttıkça canlı kalan rejenere bitkicik ve somatik embriyo sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Her uygulamada 50 somatik embriyonun kullanıldığı çalışma sonucunda 10 mg/l doz ile 3 gün kolhisin çözeltisinde bekletilen embriyolardan 1, 20 mg/l kolhisin dozuyla 1 gün muamele edilenlerden 1, aynı dozda 2 gün muamele edilenlerden 1 ve yine aynı dozda 3 gün muamele edilen embriyolardan 2 adet tetraploid bitki elde edildiği belirtilmiştir. Bidaneh çekirdeksiz üzüm çeşidinin tane iriliğinin artırılması amacıyla değişik süre ve konsantrasyonlarda kolhisin uygulamasının yapıldığı çalışmada, yan tomurcuklara kolhisinin % 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 ve 1.1 dozları 24, 48, 72 ve 96 saat sürelerle pamuğa emdirme yoluyla uygulanmıştır. Uygulama sonrası tomurcuklar distile su ile yıkanmış ve 60 gün sonrasında uygulama yapılan her tomurcuktan süren sürgün için 4 adet yaprak örneği alınmış ve bunlarda stoma incelemeleri yapılmıştır. Denemede autotetraploidinin teşviki için en üstün sonuçlar % 0.9 ve % 1.1 dozlarındaki kolhisinin 96 saat süreyle uygulanmasından elde edilmiştir (Rassoulli ve Mahmoodzadeh 2005).

Triploid tohum elde edilmesi için tetraploid hatların ana ebeveyn olarak kullanılması gerekmektedir.

Yapılan bir çalışmada, diploid hatların tetraploid polenlerle tozlanması sonucunda boş ve steril tohumlar meydana geldiği bildirilmiştir (Mohr 1986). Diğer bir çalışmada ise, bu boş tohumların içerisinde endospermsiz embriyo da oluşabildiği tespit edilmiştir (Sarı 1994). Tetraploid ve diploidler arasındaki melezlemede başarı oranı düşüktür. Bu nedenle triploid üzüm ıslahı oldukça zordur. Önceki çalışmalar, embriyo kültürü tekniğinin triploid eldesinde başarılı olduğunu göstermiştir. Ancak genç bitki elde edilme oranı oldukça düşüktür (Yamashita ve ark. 1998). *In vitro* kültürler, genellikle çok düşük oranda bölünen hücreye sahiptirler. Birçok hücre farklılaşır ve bölünmez. Bu gibi durumlarda kromozom sayarak kültürlerin ploidi düzeylerinin belirlenmesi imkansızdır. Flow sitometri ile ploidi belirlenmesinde bölünen hücreye gereksinim olmaması nedeniyle *in vitro* çoğaltmalardan sonra ploidi düzeyinin stabilitesinin kontrolü için metot büyük kolaylık sağlamaktadır (Wyman ve ark. 1992, Kreuger ve ark. 1996).

Luo ve ark. (1995), Hamburg Misketi çeşidinin tetraploid mutantlarını elde etmek amacıyla sürgün uçlarını % 0.2 dozundaki kolhisin çözeltisinde 45 gün süreyle tutmuşlardır. Araştırmacılar uygulamanın etkinliğini belirlemek amacıyla yaptıkları kromozomal incelemelerde kromozom sayısını $2n=4x=76$ olarak belirlemişlerdir. Elde edilen tetraploidlerin özellikleri 3 generasyon boyunca değişmeden kalmış; tane renk ve kalitesinde değişim gözlenmezken tane iriliğinde artış saptanmıştır.

1950'li yıllarda kolhisin kullanılarak bitkilerde sitokimeralar (kromozom sayısı katlanmış ve katlanmamış hücreler veya farklı ploidi seviyesindeki hücreler içeren doku, organ veya bitkiler) elde edilmiştir (Elliott 1958). Notsuka ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada 29 diploid, 3 triploid ve 1 tetraploid üzüm tipinde *in vitro* kromozom katlaması amacıyla yetiştirilen mikro çelikleri kullanmışlardır. Araştırmacılar kolhisinin % 0.05'lik dozunun 1 ya da 2 gün süreyle uygulamasının tetraploidinin teşviki için uygun olduğunu belirlemişlerdir. Uygulama yapılan gözlerden süren sürgünlerin anormal yaprak tipi gösterdiği bunların bazılarının sitokimera ($2x+4x$)'lara dönüştüğü saptanmıştır. Çalışmada diploid çeşitlerin kolhisine olan yanıtının farklı olduğu; tetraploid eldesi bakımından *V. vinifera*'ların Amerikan hibritlerinden daha olumlu sonuç verdiği belirlenmiştir. Oluşturulan tetraploid bitkilerin diğer formlara göre daha güçlü geliştiği, kolay köklendiği ve uzun yıllar bu yapısının değişmeden kaldığı görülürken, $3x+6x$ ve $4x+Sx$ sitokimeraların dışarı aktarma süresince kaybolduğu ve sırayla triploid ve tetraploid kaynağına dönüşüm yaptığı belirlenmiştir. Araştırmada elde edilen tetraploid bitkiler diploid kaynaklı bitkilerle karşılaştırılmış ve sonuçta olgunluk zamanı, salkım ve tane şekli, tane rengi, ŞÇKM ve asit düzeyinde belirgin bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın çalışmada, çeşide bağlı olarak tetraploidlerde tane

iriliğindeki artış 1.1 ile 1.5 kat fazla olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde asmada poliploidi oluşturmaya yönelik çalışmalar oldukça azdır. Trakya İlkeren ve Flame Seedless çeşitlerinde, *in vitro* ve *in vivo* denemeleriyle poliploidinin oluşturulmasına neden olan en uygun kolhisin dozu, uygulama süresi ve şeklinin belirlenmeye çalışıldığı araştırmada (Bilir 2010), *in vivo* kolhisin denemesinde Trakya İlkeren çeşidi için % 1; Flame Seedless çeşidinde ise % 0.75 ve % 1 dozlarının sürgün uçlarının tamamının kurummasına neden olduğu saptanmıştır. Her iki çeşitte canlı sürgün ucu oranı açısından kontrole en yakın sonuçlar % 0.5 lik kolhisin dozunun 1 ya da 3 günlük sürelerle uygulanmasından elde edilmiş; Trakya İlkeren çeşidinde % 0.75'lik dozun 3 ve 5 gün süreyle uygulanmasında ise canlılık oranının % 50'nin altına düştüğü gözlenmiştir. Kolhisin uygulama doz ve sürelerinin artışına bağlı olarak her iki çeşitte yaprak alanı ve sürgün uzunluğu değerlerinde ve stoma sayısında azalma; stoma genişliği ve uzunluğunda artış saptanmıştır. Trakya İlkeren çeşidinde % 0.9 dozundaki kolhisinde 3 ve 5 saat; Flame Seedless çeşidinde ise 5 saat süreyle tutulan mikro çeliklerin tamamının kuruduğu saptanmıştır.

Sonuç

Asma ıslahı çalışmalarında yeni çeşitlerin geliştirilmesinde öncelikli hedefler çekirdeksizlik, tane büyüklüğü, yüksek kalite, hastalıklara dayanım, erkencilik-geçcilik, stres koşullarına dayanıklılık öncelikli çalışmalardır. Bu amaçla ülkemizde ve dünyada yeni bir yöntem olan triploid ve tetraploid üzümlerinin geliştirilmesine önem verilmelidir. Plodi seviyeleri morfolojik gözlemler ve flow sitometri yöntemi ile belirlenebilmektedir. Ploidi düzeyinin stabilitesinin kontrolü için flow sitometri büyük kolaylık sağlamaktadır.

Kaynaklar

1. Aihong, M., Parga, F., Jlarsh, S. & Shaohua, L. 2005. Study on the Induction of Tetraploid Grapes. *Scientia Agricultura Sinica*, 38(8): 1645- 1651.
2. Aili, J., ShiCheng, L. 2006. Breeding of good-quality large-grain tetraploid strain "Hu 30". *Acta Agriculturae Shanghai*, 22 (3): 70-72.
3. Bilir, E.H. 2010. Trakya ilkeren ve flama seedless üzümlerinde Co60 ve kolhisin kullanılarak mutasyon ve poliploidi oluşturma olanakları. Çukurova Üniversitesi, Adana. Doktora Tezi.
4. Botta R & Vallania, R., MeG. 1988. Grapevine Breeding by Gamma Radiation: Results and Prospects. *Acta Horticulture*, 224: 421-423.
5. Branas, J. & Truel, P. 1965. Variétés de raisins de table. Nomenclature, description, sélection, amélioration. Le Progrès Agricole et Viticole, Montpellier, 886s.
6. Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Maraslı, B. & Söylemezoglu, G. 1998. Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi 1., Ankara, 253s.

7. Elliott, F.C. 1958. Plant Breeding and Cytogenetics. McGraw-Hill Book Company, 395s.
8. El-Morsy, Sh. I., Dorra, M.D.M., Abd El-Hady, E.A.A., Hiaba, A.A.A., & Mohammed, A.Y. 2009. Comparative Studies on Diploid and Tetraploid Levels of *Nicotiana glauca*. *Academic Journal of Plant Sciences*, 2 (3): 182-188.
9. Griesbach, R.J. 1990. A fertile tetraploid *Anigozanthos* hybrid produced by *in vitro* colchicine treatment. *HortScience*, 25 (7): 802-803
10. Kim S.H., Jeong J.H., Kim, S.K. & Paek K.Y. 2002. Parantage identification of "Daebong" grape (*Vitis* spp) using RAPD analysis. *Journal Plant Biotechnology*, 4(2): 67-70.
11. Köksal, N. 1999. Haploid Kavun Bitkilerinin *in vitro* ve *in vivo* Yöntemlerle Dihaplodizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), Adana. 116 s.
12. Kreuger, M., Van Der Meer, W., Postma, E., Abbestee, R., Raaijmakers, N. & Van Holst G.J. 1996. Genetically stable cell lines of cucumber for the large-scale production of diploid somatic embryos. *Physiologia Plantarum*, 97: 303-310.
13. Kunter, B. & Karataş, D.D. 2011. Asmalarda Mutasyonlar ve Mutant *Vitis vinifera* L. Çeşitleri. *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(2): 146-151.
14. Luo, Y.W., Qaco, Z.J., Zhu, Z.Y., Huangpu, Z.S. & Cheng, J.H. 1995. Study on The Induction of A Tetraploid Mutant From Diploid Grape Cultivar Muscat Hamburg By Treatment With Colchicine. *China Fruits*, 2: 5-7.
15. Mohr, H.C. 1986. Watermelon Breeding. 37-36. In: Basset M.J. (ed), *Breeding Vegetable Crops*. AVI Publishing Company, 584s.
16. Notsuka, K., Tsuru, T. & Shiraiishi, M. 2000. Induced Polyploid Grapes Via 'In Vitro' Chromosome Doubling. *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science*, 69(5): 543-551.
17. Olmo, H.P. 1937. Muscat Canon Hall. *Revue de Viticulture*, 87:403.
18. Olmo, H.P. 1952. Breeding tetraploid grapes. *American Society for Horticultural Science*, 59: 285-290.
19. Petersen, K.K., Hagberg, P. & Kristiansen, K. 2003. Colchicine and Oryzalin Mediated Chromosome Doubling in Different Genotypes of *Miscanthus sinensis*. *Journal of Plant Sciences*, 73(2): 137-146.
20. Rassoulli, V.A. & Mahmoodzadeh, H. 2005. Induced Mutation in Grape (*Vitis vinifera* var. Bidaneh) by Using Colchicine. International Workshop on Advances in Grapevine And Wine Research, 15-17 September, Venosa (Italy), 26s.
21. Rose, J.B., Kubba, J. & Tobutt, K.R. 2000. Induction of Tetraploidy in *Buuleia Globosa*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 63: 121-125.
22. Sarı, N. 1994. Karpuzda Işınlanmış Polen Uyartımıyla Haploid Bitki Eldesi Üzerine Genotipin ve Mevsimin Etkisi ile Işınlama Yerine Geçebilecek Uygulamalar

- Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 242 s.
23. Snowdon, R.J. 2009. Genome analysis and molecular breeding of Brassica oilseed crops. Habilitationsschrift. Institut für Pflanzenzucht. Justus-Liebig-Universität Giessen, 155s.
24. Şehirali, S. & Özgen, M. 2010. Bitki Islahı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 1582. Ankara Üniversitesi Basımevi, 270 s.
25. Vainöle, A. & Repo, T. 2000. Polyploidisation of Rhododendron cultivars in vitro and how it affects cold hardiness. 4th International Symposium on in vitro culture and horticultural breeding. 2-7 July 2000, Tampere-Finland, s.99.
26. Wu, L., Wei, L., Jin, L. & Cheng, J. 2010. Studies on an excellent, early-maturing bud sport of 'Kyoho'. 10. International Conference on Grapevine Breeding and Genetics. Geneva, New York, USA.
27. Wyman, J., Brassard, N., Flipo, D. & Laliberte, S. 1992. Ploidy level stability of callus tissue, axillary and adventitious shoots of *Larix x eurolepis* Henry regenerated in vitro. *Plant Science*, 85: 189-196.
28. Yamashita, H. Shigehapa, I. & Haniuda, T. 1998. Production of triploid grapes by in ovulo embryo culture. *Vitis*, 37 (3): 113-117.
29. Yang, X.M., Cao, Z.Y., An, L.Z., Wang, Y.M. & Fang, X.W. 2006. In Vitro Tetraploid Induction via Colchicine Treatment From Diploid Somatic Embryos In Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica*, 152: 217-224.
30. Yaşa, Z. 2005. Asma (*Vitis vinifera* L.)'da Önemli Vegetatif Ve Generatif Karakterler İle Hastalıklara Dayanım Özelliklerine Yönelik Genom Haritalaması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara. Doktora Tezi. 123 s.
31. Zhang, B., Li, L., Yang, G. & Gao, Q. 2011. Study on tetraploid induction of Jingxiu grape. *Journal of Northeast Agricultural University*, 7: 91-97.
32. Zhao, S.J., Zhang, X.Z., Guo, Z.J. & Ma, A.H. 2009. Characteristics of New Triploid Seedless Table Grape Cultivar 'Champion Seedless' Released In China. *Acta Horticulturae*, 827: 51-455.

