



Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences

Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi

41 B Asma Anacına In Vivo Kolhisin Uygulamalarının Morfolojik ve Sitolojik Etkileri

Zeki KARA*, Osman DOĞAN, Kevser YAZAR, Ali SABİR

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Konya, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale geçmişi:

Geliş tarihi: 26.07.2017

Kabul tarihi: 09.11.2017

Anahtar Kelimeler:

Asma anacı

Poliploidi

Kimyasal mutasyon

Stoma

Flow sitometri

ÖZET

Ekonomik olarak çok geniş bir alanda yapılan bağcılık, filoksera zararlısının geniş alanlara yayılması nedeniyle neredeyse anaç kullanılmadan yapılamaz hale gelmiştir. Mevcut asma anaçları sektörün gereksinimlerini tam olarak karşılayamadığından anaç ıslahı da süreklilik arz etmektedir. Bu maksatla vegetasyon süresi daha kısa, biyotik ve abiyotik stress koşullarına daha dayanıklı anaçların geliştirilmesine çalışılmaktadır. Bağcılıkta tetraploid üzüm çeşitlerinin yanısıra anaçların da geliştirilmesi son yıllarda daha yoğun ilgi çekmektedir. Bu çalışmada, 41B anacına ait tek göz çelikleri serada köklendirilip hızlı büyümeye geçtikleri dönemde farklı süre (24, 48, 72 ve 96 saat) ve dozlarda (%0.1, %0.3, %0.5, %0.7, %0.9 ve %1.1) kolhisin uygulamalarının ploidiyi teşvike yönelik etkileri incelenmiştir. Kolhisin doz ve uygulama sürelerine göre morfolojik değişikliklere neden olmuştur. Stoma boyu, stoma genişliği ve stoma alanında artış, stoma sayısında ise azalma tespit edilmiştir. Ancak flow sitometri (FC) analizlerinde sitolojik değişiklik tespit edilememiştir. Sonuçta, 41B tek göz çeliklerinden gelen sürgünlere farklı doz ve uygulama süreleriyle yapılan kolhisin uygulamalarından toplam 240 adet materyalin FC analizine göre mitotic autopolyploid bitkilere ulaşamadığı anlaşılmıştır. 41B asma anacında kolhisinle polyploidi teşvikine yönelik tam mutasyon frekansının bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre 1/240'den daha düşüktür. Bununla birlikte kolhisinle muamele edilmiş materyalde tespit edilen önemli morfolojik farklılıklar ve FC analizlerindeki sınırlı varyasyon nedeniyle materyalin bundan sonraki sürecinin takip etmek üzere araziye aktarılarak izlenmektedir.

Morphological and Cytological Effects of In Vivo Colchicine Applications to 41B Rootstocks

ARTICLE INFO

Article history:

Received date: 26.07.2017

Accepted date: 09.11.2017

Keywords:

Grape rootstock

Poliploidy

Chemical mutattion

Stoma

Flow cytometry

ABSTRACT

Economically, vineyard has been cultivated in a very wide area and has become almost impossible to sustainable without grape rootstock because phylloxera pests have spread to globally. Since the existing suspended rootstocks cannot fully meet the requirements of the industry, rootstock breeding is also continuous. For this purpose, it is attempted to develop new rootstocks that are shorter in vegetation duration, more resistant to biotic and abiotic stress conditions. The development of tetraploid grape varieties as well as rootstocks in viticulture has attracted more interest in recent years. In this study, 41B rootstock was treated with colchicine applications (0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9% and 1.1%) at different times (24, 48, 72 and 96 hours) to induce ploidy at the beginning of the fast-growing period rooted single node cuttings and the effects of the treatments have been examined. Colchicine caused morphological changes according to dose and application time. While the number of stoma was decreased, stoma size, stoma width and stoma area were increased. On the other hand, no cytological changes were detected in flow cytometry (FC) assays. As a result, it has been understood that the shoots from 41B single nods cannot reach mitotic autopolyploid plants according to the FC analysis of a total of 240 materials from colchicine applications with different doses and application times. The exact frequency of colchicine-induced polyploidy induction in the 41B grape rootstock is less than 1 / 240th of that obtained from this study. However, due to the significant morphological differences detected in the colchicine treated material and limited variation in the FC analysis, the material is monitored by transferring to open are to follow the subsequent process.

* Sorumlu yazar email: zkara@selcuk.edu.tr

1. Giriş

Ekonomik olarak tüm dünyada önemi olan bağcılık sektörünün büyüklüğü Faostat (2017) verilerine göre 7124512 ha alan ve 74499859 ton üzüm üretimi şeklindedir. 12.6 milyon tonluk üretimle Çin ilk sırayı alırken, Türkiye, 4.2 milyon ton üretimle 6. sırada yer almaktadır. Bağcılığını sürdürülebilmesi için ekolojik koşullara uyumlu, filoksera ve öteki biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklı üzüm çeşitleri ve asma anaçlarıyla bağ tesislerimizin sürekli yenilenme gereği vardır (Kara ve ark. 2016).

41B asma anacı, üzerine aşılana çeşitlerin meyve bağlama ve veriminin yüksek, vegetatif periyodunun kısa, kireçli topraklara dayanımının iyi olması nedeniyle vegetasyon süresi sınırlı, kireç sorunu olan alanlarda hemen hemen vazgeçilmez anaç olarak kullanılmaktadır (Kara ve ark. 2005).

Bazı doğal veya uyarılmış makro mutasyonlar (bitkilerdeki poliploidler) istenmeyen faktörlere karşı direnç ve yüksek verimliliğe neden olabilmektedir (Einset ve Pratt 1981). Ploiploidi sebep ve sonuçlarının izahı son yüzyılda farklı araştırmaların konusu olmuş (Soltis ve Soltis 2009; Wolfe 2001; Osborn ve ark. 2003; Yang ve ark. 2011; Ramsey ve Ramsey 2014); bu çalışmalar, sınıflandırma, frekans, köken mekanizmaları ve antik poliploid olayların yanı sıra ekolojik, genetik ve evrimsel sonuçlarını içeren poliploidinin farklı yönleri hakkında geniş bir bilgi yelpazededir.

'Kyoho' üzüm çeşidine anaç olarak autotetraploid 'Gloire' ve '3309'un kullanılmasıyla tanede renklemenin daha iyi olduğu (Motosugi ve ark., 2007), ploidi seviyesi artırılmış anaçlarda filokseraya dayanımın da arttığı bildirilmiştir (Motosugi ve ark., 2002b).

Kolhisin, çok sayıda çalışmada tetraploid bitki elde edilmesinde kullanılmıştır (Yamane ve Kuruihara 1980; Motosugi ve ark. 2002a; Aihong ve ark. 2005; Yang ve ark. 2006; Chang ve ark. 2010; Sisnski ve ark. 2014). Bununla birlikte poliploidiyi uyarma, eksplant tipi, ortam, mitozu önleyen etken, uygulama süresi ve dozu (Dhooghe ve ark. 2011) gibi çok sayıda değişkene bağlıdır. Bazı çalışmalarda morfolojik olarak farklılıkların belirlendiği bildirilmekle birlikte, tetraploid bitkilerin çok az veya hiç elde edilemediği çalışmaların bulunması (Bilir 2010; Kuksova ve ark. 1997) katlamanın zor ve uzun bir süreç gerektirdiğini göstermektedir.

Bu çalışmada, 41B asma anacına farklı doz ve sürelerde kolhisinin uygulamalarının mitotik mutasyondaki başarısı morfolojik ve sitolojik incelemelerle araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. Çalışmada, *Colchicum automnale* L. köklerinden elde edilen kolhisin (C22H25O6) alkoloid kimyasal mutagen olarak kulla-

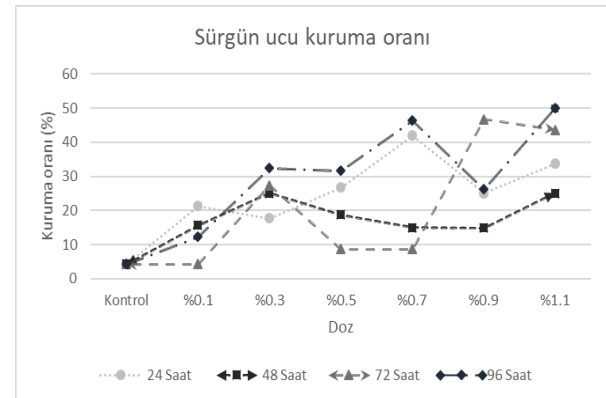
nılmıştır. Denemede kullanılan bitkisel materyal 41B [*Chasselas* (*Vitis vinifera* L.) x (*Vitis berlandieri* Planch.)] anacının cam serada, köklendirme ortamında köklendirilirdirilmiş tek göz çelikleri kullanılmıştır. Uygulamalar hızlı sürgün büyümesi döneminin başında %0.1, %0.3, %0.5, %0.7, %0.9 ve %1.1'lik kolhisin ve kolhisin + gliserin (%5) uygulaması 24, 48, 72 ve 96 saat süreyle sürgün ucuna pamukla emdirme yoluyla uygulanmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak düzenlenmiş olup her tekerrürde 10 bitki olmak üzere her uygulamada 30 adet örnek kullanılmıştır. Kolhisinin morfolojik değişime etkileri sürgün ucu kuruma oranı ve sürgün büyümesine (uzunluk ve çap) etkileri belirlenmiştir. Stoma boyutları (uzunluk, genişlik, alan ve yoğunluk)'nı saptamak amacıyla, olgun yaprakların 3 ayrı bölgesinden tırnak cılası ile kalıba dökülen stoma örneklerinin boyutları binoküler (10 x 40 büyüteli) mikroskop altında incelenmiştir. Ayrıca yapılan morfolojik tespitlerde farklılık görülen 240 adet örneğin FC analizleri yapılmış, DNA miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen sayısal değerler SPSS 17.0 ve JMP istatistik programlarında Student's t-test ile 0.05 önem seviyesinde karşılaştırılmıştır.

3. Sonuç ve Tartışma

3.1. Sürgün ucu kuruma oranı

Kolhisin uygulamaları sürgün ucunda kurumaya neden olmuştur ($p < 0.05$, Şekil 1). En yüksek 96 saat %1.1'lik kolhisin uygulamasında (50.00 ± 7.00) belirlenmiştir. Kolhisin doz ve uygulama sürelerinin canlılık oranına etkileri arasındaki interaksiyon pozitif yönde önemli olup uygulama sürelerine göre sırasıyla $r = 0.75$, $r = 0.51$, $r = 0.77$ ve $r = 0.82$ olarak farklı düzeylerde dir.

Bilir (2010), kolhisin uygulamalarında en yüksek canlılık oranını %0.5'lik dozdan elde etmiş (%88.9), %1'lik kolhisinin tüm uygulama sürelerinde sürgün uçlarının kuruduğunu bildirmiş, uygulama süre artışıyla canlılık oranında düşüş saptamıştır.



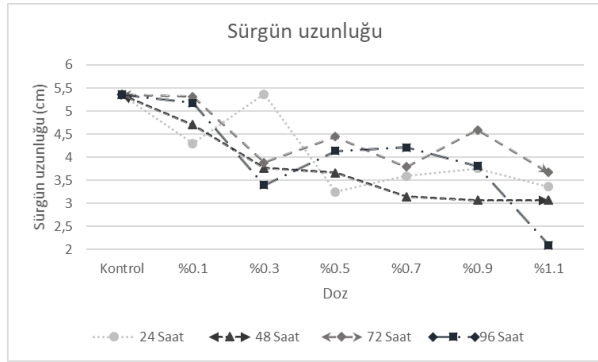
Şekil 1

Sürgün ucu kurumasına etkiler

3.2. Sürgün uzunluğu

Uygulamaların sürgün uzunluğuna etkileri önemlidir ($p < 0.05$, Şekil 2). Kontrolün sürgün boyu 5.16 ± 1.57 cm olarak saptanmış olup, en düşük sürgün uzunluğu 96 saat %1.1'lik kolhisin uygulananlardan (2.10 ± 0.45 cm) alınmıştır. Kolhisin dozu ve uygulama süresi artışının sürgün uzunluğuna etkileri negatif yönde sırasıyla $r = -0.71$, $r = -0.91$, $r = -0.74$, ve -0.81 ; farklı değerlerdedir.

Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde, Motosugi ve ark. (2002a), köklendirme ortamına konulan tetraploid bitkilerin diploidlere göre köklerinin daha kısa, Gloire ve St George anacının tetraploid olanlarında ise sürgünlerin diploidlere göre daha kısa olduğunu saptamışlardır. Yine Motosugi ve ark. (2007), tetraploid anaç sürgünlerinin diploidlere göre daha zayıf, daha kalın ve yüksek yaprak ağırlığı tespit etmişlerdir. Bilir (2010) kolhisin doz ve süre artışıyla sürgün uzunluğunda kısalma bildirmiştir.



Şekil 2
Sürgün uzunluğuna etkiler

3.3. Sürgün çapı

Sürgün çaplarındaki etkiler önemsiz düzeydedir. Sürgün çapı, 96 saat %0.7'lik kolhisin uygulamasında 2.44 ± 0.30 mm ile 96 saat %0.3'lik uygulamada 1.90 ± 0.30 mm olarak tespit edilmiştir.

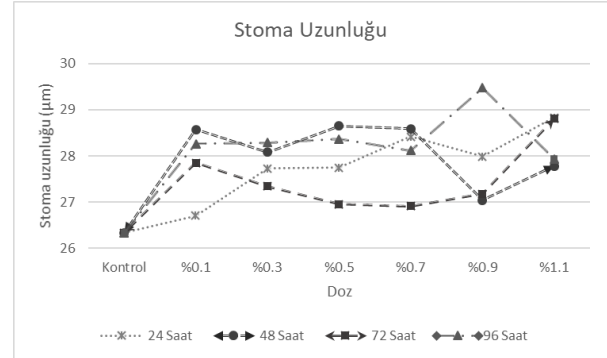
Motosugi ve ark. (2007), tetraploid anaçlar üzerine aşılama yapılan Kyoho (4n) asmalarında gövde çapı ve çubuk ağırlığı değerlerinin daha düşük olduğunu saptamışlardır.

3.4. Stoma uzunluğu

Yapılan kolhisin uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri önemlidir ($p < 0.05$, Şekil 3). Kontrolde stoma uzunluğu 26.33 ± 0.63 μm ile en küçük olup 96 saat %0.9'luk kolhisin uygulamasında 29.47 ± 0.98 μm ile en uzun stoma belirlenmiştir. Standart sapma 72 saat %0.1'lik kolhisin uygulamasında (27.85 ± 1.66 μm) en fazla bulunmuştur. Uygulama süreleri ve kolhisin konsantrasyonunun stoma uzunluğu arasındaki korelasyon katsayıları sırasıyla $r = 0.92$, $r = 0.09$, $r = 0.53$ ve $r = 0.54$ olarak hesaplanmış olup doz ve uygulama süresi artışı stoma uzunluğunu 24 saatlik uygulama dışında

düşük düzeyde ve tüm sürelerde pozitif yönde etkilemiştir.

Önceki çalışmalarda, diploid ve tetraploid bitkilerin yaprak stoma parametreleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiş (Jun ve ark. 2009; Yang ve ark. 2006; Xie ve ark. 2015); tetraploid 'Neo Muskat' yapraklarının morfolojik yapısı, diploid orijinlerinden farklı olduğu, stoma hücre iriliği ve birim olana düşen stoma sayısının diploid orijinlerinden %40 daha az olduğu bildirmiştir (Yamane ve Kurihara 1980).

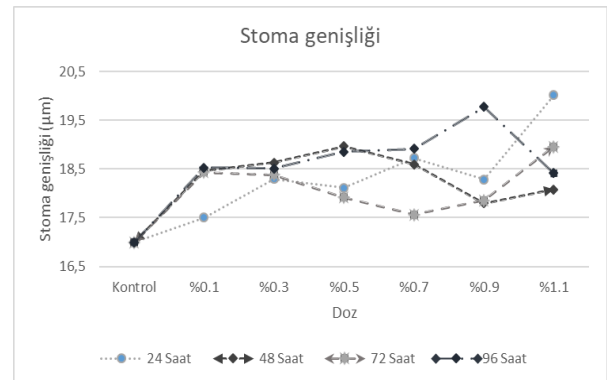


Şekil 3
Stoma uzunluğuna etkiler

3.5. Stoma genişliği

Uygulamalarının stoma genişliğine etkileri önemlidir ($p < 0.05$, Şekil 4). Kontrolün stoma genişliği 17.00 ± 0.22 μm ile en düşük düzeydedir. 24 saat süreyle %1.1'lik kolhisin uygulamasında 20.02 ± 2.38 μm stoma genişliği en yüksektir. Uygulama süreleri ve kolhisin konsantrasyonunun stoma genişliğine etkileri pozitif yönde (sırasıyla $r = 0.89$, $r = 0.15$, $r = 0.43$ ve $r = 0.62$) olmakla birlikte uygulama süresine göre oldukça farklı düzeydedir.

Önceki çalışmalarda tetraploid yaprakların diploidlere göre daha geniş stomalara sahip olduğu belirlenmiştir (Motosugi ve ark., 2002a; Jun ve ark., 2009).

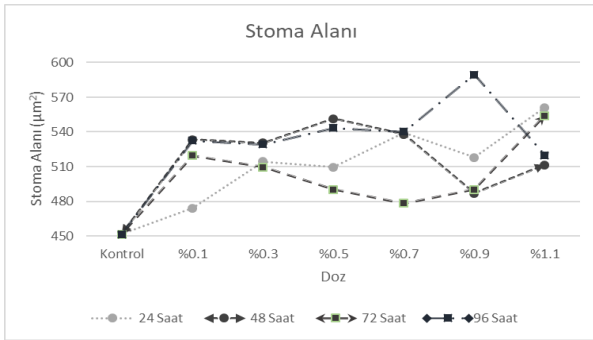


Şekil 4
Stoma genişliğine etkiler

3.6 Stoma alanı

Kolhisin uygulamaları stoma alanını önemli ölçüde ($p < 0.05$, Şekil 5) etkilemiştir. 96 saat %0.9'luk kolhisin uygulamasından en büyük ($589.52 \pm 28.16 \mu\text{m}^2$), kontrolde ($451.35 \pm 11.01 \mu\text{m}^2$) en küçük stoma alanı değeri tespit edilmiştir. Uygulama süreleri ve kolhisin konsantrasyonunun stoma alanına etkileri pozitif yönde sırasıyla $r = 0.90$, $r = 0.15$, $r = 0.48$ ve $r = 0.58$, uygulama süresine göre farklı değerlerde belirlenmiştir.

Birçok araştırmada da kolhisin doz artışına bağlı stoma alanında olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark. 2006; Chen ve ark. 2014; Sinski ve ark. 2014; Xie ve ark. 2015).

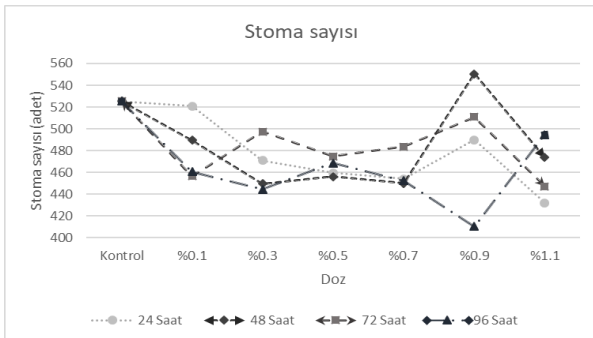


Şekil 5
Stoma alanına etkiler

3.7. Stoma sayısı

Kolhisin uygulamaları stoma sayısında önemli azalışa neden olmuştur ($p < 0.05$, Şekil 6). En yüksek stoma sayısı 48 saat %0.9 kolhisin uygulamasında (550.45 ± 21.54 adet mm^{-2}), en düşük stoma sayısı ise 96 saat %0.9'luk kolhisin uygulamasından elde edilmiştir (410.57 ± 32.24 adet mm^{-2}). Doz ve süre artışının stoma sayısına etkileri negatif yönde olup kolerasyon değerleri sırasıyla $r = -0.78$, $r = -0.03$, $r = -0.34$ ve $r = -0.34$ ancak uygulama sürelerine göre farklı değerlerdedir.

Bilir (2010), kolhisin uygulamalarının doz artışına bağlı olarak stoma sayısında azalmaya, stoma genişliği ve uzunluğunda da artışa neden olduğu bildirmiştir.

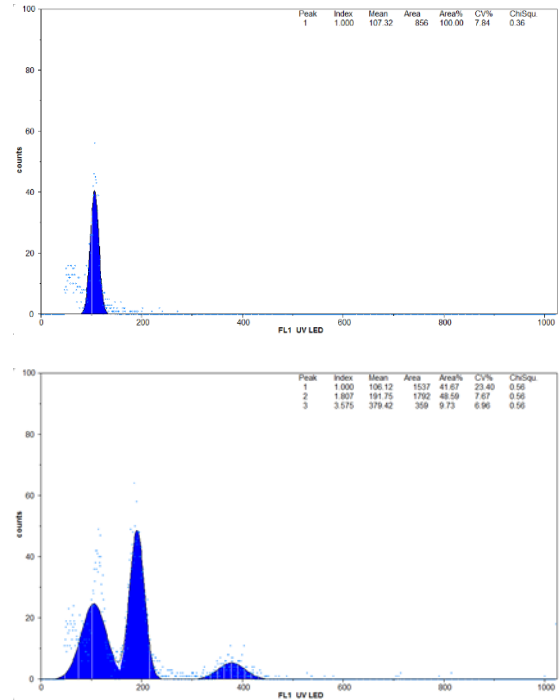


Şekil 6
Stoma sayılarına etkiler

3.8. Flow sitometri (FC)

FC analizlerinde yapılan uygulamaların hiçbirinde ploidi seviyesi değişmemiştir. Kontrol bitkinin ($2n$) piki 200 civarında olurken diploid bitkilerin piki 100 civarındadır (Şekil 7). Kolhisin uygulanan tek göz çeliklerinin FC analizleriyle elde edilen DNA miktarları (pg) arasında fark önemsizdir. FC ölçümünde kontrolün DNA miktarı 1.028 ± 0.093 pg olarak belirlenirken en yüksek değer 1.104 ± 0.057 pg ile 24 saat %0.5'lik kolhisin uygulamasından elde edilmiş, en düşük değer ise 0.985 ± 0.005 pg ile 72 saat %0.3'lik kolhisin uygulamasında belirlenmiştir.

Önceki çalışmalarda FC analizleri ile ploidi seviyeleri belirlenmiştir (Bessho ve ark. 1999; Yang ve ark. 2006; Dhooche ve ark. 2011; Acanda ve ark. 2013). FC ve mikrosatellit analizleri ile altı önemli İspanyol üzüm çeşidinden (*Vitis vinifera* L.) elde edilen bitkilerin somatik embriyogenesisle ismine doğruluğu test edilmiştir. 'Merenzao' dışında test edilen çeşitlerde tetraploid bitkilerin elde edildiği, 'Albarinõ' çeşidinden oktaploid bir bitki ve 'Torrante's' çeşidinden de mikroploid iki bitki elde edilmiştir (Prado ve ark. 2010). 'Campbell Early' (*Vitis labruscana*) sürgün uçlarından gelişen 3 genç bitkide farklı ploidi seviyeleri FC yöntemiyle belirlenmiştir (Noh ve ark., 2010).



Şekil 7
Diploid 41 B (üstteki şekil) ve kontrol (domates) (alttaki şekil) en uzun pik bitkisi + kolhisin uygulanan 41 B anacınının (alttaki şekil ikinci uzun pik) FC sonuçları

4. Sonuç

Poliploidi son yüzyılda yaygın bir şekilde çalışılan ve bitkilerdeki çeşitliliğin oluşturulmasında ve adaptasyonun sağlanmasında en önemli mekanizmalarından birisidir. Doğal popülasyonlarda gözlenen poliploidinin bazı sonuçları bitki ıslahında yapay poliploidinin uygulanmasında bir araç olarak ıslahçıların dikkatini çekmiş ve çeşitli bitki türlerinde poliploidinin teşviki için farklı protokoller geliştirilmiştir (Satler ve ark. 2016).

Kromozom sayımı ve FC poliploidi düzey analizi için doğru yöntem olduğunu, iki yöntemin sonuçları arasında anlamlı bir korelasyon bulunduğu ve bazı kromozom katlama çalışmalarının mikroploidlere neden olduğu rapor edilmiştir (Thao ve ark. 2003; Eeckhaut ve ark. 2004; Chauvin ve ark. 2005; Allum ve ark. 2007; Zhang ve ark. 2010).

Kolhisin ve orizalin gibi kimyasallar kullanılarak sürgün ucu ve somatik embriyolardan elde edilen çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde in vitro autotetraploidiyi etkileyen faktörlerin kapsamlı optimizasyonu sunulmuş, rejenerantlardaki DNA içeriği ile ilişkili ve ayrıca ön poliploid eliminasyonu için etkili olduğu belirlenmiştir (Sinski ve ark. 2014).

Son zamanlarda teşvikle elde edilen poliploid formların gerekli piyasa özelliklerine henüz ulaşamadığı, ancak ıslah çalışmalarında uygulama için değerli germplazma kaynaklarını oluşturdukları rapor edilmiştir (Sattler ve ark. 2016).

Bu çalışmada kullanılan kolhisin doz ve sürelerinin önceki çalışmalarda (Dasg ve Mukherjes 1967; Rassoulli ve Mahmoodzadeh 2005; Rasuli ve Sotudeh 2007; Chen ve ark. 2014) kromozom katlamada etkili olduklarının bildirilmesine rağmen tarafımızdan yapılan uygulamalarda tam poliploid bitki elde edilememiştir. Bununla birlikte kolhisinle muamele edilmiş materyalde tespit edilen önemli morfolojik farklılıklar ve FC analizlerindeki sınırlı varyasyon materyalin bundan sonraki sürecinin takibi konusunda cesaret vermektedir. Uygulama yapılan bitkiler takip edilmek ve poliploidi çalışmalarında tekrar kullanılmak üzere araziye aktarılarak izlenmektedir.

5. Teşekkür

Bu çalışmaya 2016-ÖYP-037 nolu proje ile desteklerinden dolayı Selçuk Üniversitesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Fonu'na, FC analizleri konusunda destekleri için Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Metin Tuna'ya teşekkür ederiz.

6. Kaynaklar

Acanda Y, Prado MJ, González MV ve Rey M. (2013). Somatic embryogenesis from stamen filaments in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Mencía): changes in ploidy level and nuclear DNA content. *In Vitro*

Cellular & Developmental Biology-Plant 49(3): 276-284.

Aihong M, Shengjian Z, Zijuan G, Xinzhong Z ve He Z. (2006) Advances in Research of Grape Tetraploid Induced with Colchicines. *Chinese Agricultural Science Bulletin* 1: 068.

Allum J, Bringloe D ve Roberts A. (2007). Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. hybrid by exposure of in vitro nodes to oryzalin: the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. *Plant cell reports* 26(11): 1977-1984.

Bessho H, Miyake M ve Kondo M. (1999). Grape breeding in Yamanashi, Japan-present and future. *Eucarpia symposium on Fruit Breeding and Genetics* 538: 493-496.

Bilir EH. (2010). Trakya ilkeren ve flama seedless üzüm çeşitlerinde Co60 ve kolhisin kullanılarak mutasyon ve poliploidi oluşturma olanakları, Çukurova Üniversitesi, Adana, 152.

Chang YY, Ji X, Zhu JL ve Hao Y. (2010). Polyploidy induction of mutation by using colchicine on tube seedlings of Victoria Grape. In X International Conference on Grapevine Breeding and Genetics 1046: 265-270.

Chauvin J, Label A ve Kermarrec M. (2005). In vitro chromosome-doubling in tulip (*Tulipa gesneriana* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 80(6): 693-698.

Chen J, Tang X, Ma X, Zhao Q ve Dong Z. (2014). Generation of a new polyploid grape cultivar by using hybrid seeds induced with colchicine. *Acta horticulturae* 251-258.

Dasg K ve Mukherjes K. (1967) Induction of Autotetraploidy in Grapes, *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 27(1): 107-116.

Dhooghe E, Van Laere K, Eeckhaut T, Leus L ve Van Huylenbroeck J. (2011). Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 104 (3): 359-373.

Eeckhaut TG, Werbrouck SP, Leus LW, Van Bockstaele EJ ve Debergh PC. (2004). Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78(3): 241-246.

Einset J ve Pratt SH. (1981). Seleksiya plodovykh rastenii (Breeding of Fruit-Bearing Plants), Moscow: Kolos.

Faostat. (2017). <http://faostat.fao.org/> (Erişim tarihi: 23.07.2017).

Jun C, XiaoPing T, XiaoHe M, QiFeng Z, FuQing L. (2009). Identification of the ploidy structure of bud sport of Red Globe grape cultivar. *Journal of Fruit Science* 26(5): 619-622.

Kara Z, Demirhan Y, Yücel NK. (2005). Tepe alma ve Gibirellik Asit uygulamalarının razakı üzüm çeşidi

- ile 5BB ve 41 B asma anaçlarında bazı yaprak karek-terlerine etkileri. Türkiye 6. Bağcılık Sempozyumu 18-23 Eylül 2005 Tekirdağ, Bildiriler 2: 375-382.
- Kara Z, Sabır A, Yazar K, Akçay A. (2016). Klineptilolitik mikronize zeolit uygulamalarının asma anacı fidanlarının vegetatif gelişme ve kalitesine etkileri. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi 3(2): 253-260.
- Kuksova VB, Piven NM, Gleba YY. (1997). Somaclonal variation and in vitro induced mutagenesis in grapevine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49(1): 17-27.
- Motosugi H, Naruno T, Komazaki S, Yamada M. (2002b). Resistance of autotetraploids of grapevine rootstock cultivars to phylloxera (*Daktulosphaera vitifoliae* FITCH). *Vitis - Journal of Grapevine Research* 41(2): 103.
- Motosugi H, Okudo K, Kataoka D, Naruo T. (2002a). Comparison of growth characteristics between diploid and colchicine-induced tetraploid grape rootstocks. *J. Japon Soc. Hort. Sci* 71(3): 335-341.
- Motosugi H, Yamamoto Y, Naruno T, Yamaguchi D. (2007). Growth and fruit quality of 'Kyoho' grapevines grafted on autotetraploid rootstocks. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 76(4): 271-278.
- Noh JH, Park KS, Yun HK, Do GR, Hur YY, Kim SH, Lee1 HC, Ryou1 MS, Park SJ, Jung SM. (2010). Determination of chimera types and ploidy level of sports from 'Campbell Early' grape (*Vitis labruscana*). *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 28(6): 996-1002.
- Osborn TC, Pires JC, Birchler JA. (2003). Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends Genet* 19:141-147.
- Prado MJ, Rodriguez E, Rey L, Gonzalez MV, Santos C. (2010). Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 103:49-59.
- Ramsey J, Ramsey TS. (2014). Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery. *Phil Trans R Soc B* 369:1-20.
- Rassoulli VA, Mahmoodzadeh H. (2005). Induced Mutation in Grape (*Vitis vinifera* var. Bidaneh) by Using Colchicine. In *International Workshop on Advances in Grapevine And Wine Research* 15-17.
- Rasuli VOL, Sotudeh R. (2007) Autotetraploid induction in grape (*Vitis vinifera* var. Bidaneh) by using colchicine.
- Sattler MC, Carvalho CR, Clarindo WR. (2016). The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta* 243(2): 281-296.
- Sinski I, Dal Bosco D, Pierozzi NI, Maia JDG, Ritschel PS, Quecini V. (2014). Improving in vitro induction of autopolyploidy in grapevine seedless cultivars. *Euphytica* 196(2): 299-311.
- Soltis PS, Soltis DE. (2009). The role of hybridization in plant speciation. *Annu Rev Plant Biol* 60:561-588.
- Thao NTP, Ureshino K, Miyajima I, Ozaki Y, Okubo H. (2003). Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72(1): 19-25.
- Wolfe KH. (2001). Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nat Rev Genet* 2:333-341.
- Xie X, Agüero CB, Wang Y, Walker MA. (2015). In vitro induction of tetraploids in *Vitis x Muscadinia* hybrids. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 122(3): 675-683.
- Yamane H, Kurihara A. (1980). Studies on polyploidy breeding in grapes. II. Polyploid induction by colchicine application. *Bulletin of The Fruit Tree Research Station. E (Kaju Shikenjo Hokoku E)* (3): 1-13.
- Yang X, Cao Z, An L, Wang Y, Fang X. (2006). In vitro tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica* 152 (2): 217-224.
- Yang X, Ye CY, Cheng ZM. (2011). Genomic aspects of research involving polyploid plants. *Plant Cell Tiss Org* 104:387-397.
- Zhang Q, Luo F, Liu L, Guo F. (2010) In vitro induction of tetraploids in crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 101(1): 41-47.