

BEZELYE TOHUMLARINDA SU ZARARI, CANLILIK VE KROMOZOM BOZULMALARI ÜZERİNE HİDRASYON UYGULAMALARININ ETKİLERİ¹

H. Özkan SİVRİTEPE²

ÖZET

Yüksek ve düşük nem kapsamlarındaki bezelye (*Pisum sativum* L.) tohumlarının, yüksek ve düşük canlılıklardaki tohum grupları suda farklı periyotlarda bekletilmiştir. Tohum canlılığı ile tohumların su zararına hassasiyeti arasında negatif bir ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, vakumla kurutma sonrasında elde edilen düşük nem kapsamındaki bezelye tohumlarının başlangıç canlılığı, su zararında etkili olan önemli bir faktör olarak belirlenmiştir.

Su zararını önlemek ya da minimum düzeye indirmek ve ayrıca yaşlanmadan kaynaklanan genetik bozulmaların onarımını sağlamak için yüksek ve düşük nem kapsamındaki bezelye tohumlarına humidifikasyon uygulamaları yapılmıştır. Çimlenme öncesi yapılan humidifikasyon uygulamaları, bezelye tohumlarında su zararının meydana gelmesini önlemiştir. Ayrıca, bütün bezelye tohum gruplarında, ilk mitoz bölünmelerdeki kromozomal bozulma gösteren anafaz hücrelerinin frekansında azalma olduğu belirlenmiştir. Humidifikasyon uygulamalarından sonra, kromozomal bozulma gruplarından en çok kromatid-tipi bozulmalarda azalma olduğu gözlenmiştir.

GİRİŞ

Leguminosae familyası sebzelerinin tohumları, düşük nem kapsamlarına kadar kurutulduktan sonra çimlenme ortamına alındıklarında, hızlı su alımı nedeniyle su zararına maruz kalmaktadırlar (14, 10, 19, 15, 16, 5). Ayrıca, genetik materyalin uzun süreli muhafazasında kullanılan çok düşük nem kapsamındaki tohumların, çimlenme testine alındıklarında da, hızlı su alımı nedeniyle zarar gördükleri ve çimlenme oranının düştüğü bilinmektedir (8, 7). Tohumları suda bekletme etkisi ile oluşan su zararı, kurak

bölgelerde toprağa ekilen tohumların ani sağanak yağışları takiben çok hızlı su alımı sonucunda meydana gelmektedir. Bu zarar ise daha çabuk ve daha şiddetli olmaktadır.

Tohumlarda su alımı fizyolojik olarak üç safhada gerçekleşmektedir (6, 9). Kuru tohumlarda meydana gelen su zararı da ilk safhadan itibaren başlamaktadır. Bu safha tohumların türüne bağlı olarak 6-24 saat sürer. Bezelye tohumlarında su zararı; oksijen alımında azalmaya, hücre membranlarında fiziksel zararlanmalara ve membranlarda geçirgenliğin bozulmasına, şekerler, organik asitler, iyonlar,

1. Yayın Kuruluna geliş tarihi: Ocak 1996.

2. Yrd.Doç.Dr., Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü - BURSA

amino asitler ve proteinlerin zararlanmış hücre ve dokulardan dışarıya doğru sızıntı şeklinde akmasına neden olmaktadır (14, 20, 15, 2). Su zararı, solunumun ve çimlenmenin azalmasına yol açtığı gibi, kotiledonlardan büyüme uçlarına taşınan besin rezervlerinin oranında azalmaya ve böylece üretilen fidelerin büyüme oranlarının da düşük kalmasına neden olmaktadır (14, 16). Rowland ve Gusta (19)'nın yaptıkları bir çalışmada, düşük nem kapsamındaki (%7.5) bezelye tohumlarının normal çimlenme oranının, aynı tohum popülasyonunun %13.5 ya da daha yüksek nem kapsamındaki gruplarına göre daha düşük olduğu bildirilmektedir. Tohumlarda görülen su zararı konusunda yapılan çalışmalar daha çok *Leguminosae* familyasında yoğunlaşmaktadır. Ancak, Ellis ve ark. (6) aynı problemin pamuk ve sorgum tohumlarında da ortaya çıktığını belirtmişlerdir.

Tohumlarda meydana gelen su zararı, humidifikasyon uygulamaları ile en aza indirilebilmekte ya da tamamen önlenebilmektedir. Humidifikasyon; suya doyurulmuş bir atmosferde (%100 oransal neme sahip olan bir ortamda) su alımının ilk safhasında tohumların bünyelerine çok yavaş su girişini sağlayan bir çimlenme öncesi uygulamasıdır (21). Birçok araştırmacı farklı türlerde bu uygulamanın faydalı etkilerini ortaya koymuşlardır.

Basu ve Pal (1), pirinç tohumlarında çimlenme öncesi 25°C'de 24-72 saat süre ile yaptıkları humidifikasyon uygulamalarının, çimlenme ortamında meydana gelen su zararını önlediğini bildirmişlerdir. Fakat yüksek sıcaklıkta humidifikasyon süresinin uzaması tohumlarda yaşlanma etkisi yaptığından, uygulama süresi iyi belirlenmelidir (11). Sıcaklık, zaman ve tohum nem kapsamının birleşik etkileri tohum canlılığında düşmeye neden olmaktadır (7). Diğer taraftan, humidifikasyon süresi tohum nem kapsamının yeterince yüksek bir seviyeye çıkarılması için yeterli değilse, uygulama sonrasında su zararı önlenememektedir (8). Ayrıca, Sivritepe ve Dourado (22) bezelye tohumlarında humidifikasyon için en uygun sıcaklığın 16°C ve uygulama sonunda ulaşılması gereken tohum nem kapsamının ise %16.3-18.1 arasında olduğunu bildirmektedir.

Rao ve ark. (18) marul tohumlarında yaptıkları bir çalışmada, humidifikasyon uygulamalarının fide büyümesini artırdığını ve fide geliş-

mesi sırasında ortaya çıkan morfolojik anormalliklerin miktarını azalttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışma ile humidifikasyonun bir başka boyutunu da ortaya koymuşlardır. Bu sonuçlara göre; humidifikasyon uygulaması, düşük canlılıktaki marul tohumlarında normal çimlenme yüzdesini arttırmış ve depolama esnasında DNA'da meydana gelen zararlanmanın onarımına bağlı olarak, ilk mitoz bölünmelerdeki kromozomal bozulmaların frekansını azaltmıştır. Optimum humidifikasyon süresinin ise (tohum nem kapsamının %34'e ulaştığı) 3 gün olduğunu bildirmişlerdir.

Bu araştırma ile öncelikle suda bekletme uygulamaları ile "Douce Provence" çeşidi bezelye tohumlarında su zararının şiddetinin belirgin bir şekilde gösterilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca suda bekletme sürelerine bağlı olarak, farklı nem kapsamı ve canlılıktaki tohum gruplarının su zararına olan eğilimlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Aynı tohum popülasyonları ile yapılan humidifikasyon çalışmalarının ilk amacı; bu uygulamanın, farklı nem kapsamlarında ve canlılık seviyelerindeki bezelye tohumlarında su zararını önleme, canlılığın (normal çimlenme oranı) yeniden artması ve kromozomal bozulmaların onarımı üzerine etkilerini incelemektir. İkincisi ise; daha önce buruşuk bir yapıya sahip olan "Kelvedon Wonder" çeşidi bezelye tohumlarında ortaya koyduğumuz optimum humidifikasyon koşullarının (22) yuvarlak yapıdaki "Douce Provence" çeşidi bezelye tohumlarında uygulanabilirliğini test etmektir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada %15.1 nem kapsamına ve %96.5 normal çimlenme oranına sahip olan "Douce Provence" çeşidi bezelye (*Pisum sativum* L.) tohumları kullanılmıştır. Düşük nem kapsamındaki (%4.8) tohumlar, yukarıda özellikleri verilen popülasyondan tesadüfi olarak alınmış, kısmi vakum sağlanan bir desikatör içinde belirli aralıklarla değiştirilen silica gel üzerinde, yaklaşık 6 ay 20°C'de kurutularak elde edilmiştir.

Metot

1. Tohum nem kapsamı tayini

Bezelye tohumlarında nem kapsamı tayini, Uluslararası Tohum Deneme Birliği (ISTA) Kuralları'na uygun olarak, Yüksek Sabit Sıcaklıktaki Fırın Metodu'na göre yapılmıştır (12, 13).

2. Çimlenme testleri

Kurutma, yaşlandırma ve hidrasyon uygulamalarından önce ve sonra; çimlenme testleri, 8 tekerrürden oluşan (her tekerrürde 25 tohum) toplam 200 tohumla, $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de ve ISTA kurallarına bağlı kalınarak yapılmıştır (12, 13). Her tekerrürdeki bezelye tohumları nemlendirilmiş iki kat kağıt havlu üzerine gelişigüzel yayılmış ve diğer bir kat nemli kağıt havlu ise üzerlerine örtülmüştür. İçinde tohumlar bulunan kağıt havlular rulo edilerek plastik çimlenme kutuları (boyutları : $28 \times 16 \times 10$ cm) içine yerleştirilmiştir. Tohum canlılığı 8 gün sonunda yüzde çimlenme (normal çimlenen tohumların yüzdesi) olarak belirlenmiştir. Ancak düşük nem kapsamındaki tohum gruplarında, sert tohumluluk sorununun ortaya çıkması nedeniyle, 8. gün sonunda çimlenemeyen tohumlarda testa ince bir zımpara kağıdı ile aşındırılmış ve 6 gün daha çimlenme ortamında tutulmuştur.

3. Yaşlandırma uygulamaları

Nem kapsamı ve canlılığı bilinen tohumlar, alüminyum folye paketlere konulmuş, hermetik olarak paketlerin ağızları kapatılmış ve paketler etiketlenmiştir. Tohumların kontrollü yaşlandırma uygulamaları $50 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ve $65 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 'lere ayarlanan iki inkübatörde yapılarak, düşük canlılıktaki tohum grupları elde edilmiştir. Tohum nem kapsamı %15.1 olan grup 4 gün 50°C 'de tutulmuş ve canlılığı %96.5'ten %79.5'e düşürülmüştür. Nem kapsamı %4.8 olan tohum grubu ise 42 gün 65°C 'de tutulduktan sonra canlılığı %94.0'ten %73.5'e düşürülmüştür.

4. Hidrasyon uygulamaları

Hidrasyon, tohumların çeşitli yollarla bünyelerine su alması olayıdır. Bu çalışmada,

hidrasyon uygulamalarından suda bekletme ve humidifikasyon teknikleri incelenmektedir.

4.1. Suda bekletme uygulamaları

Yüksek ve düşük nem kapsamındaki tohum gruplarının, yüksek ve düşük canlılıktaki tohumları (her gruptan tesadüfi olarak alınan 200 tohum), 200 ml saf su ile doldurulmuş beherler içine konularak, 20°C 'de 0 (kontrol), 1, 2, 4, 8 ve 12 saat süre ile bekletilmişlerdir. Böylece, her tohum grubundan 6 uygulama olmak üzere toplam 24 uygulama grubu oluşturulmuştur. Her gruptaki tohumlar uygulamalardan önce ve sonra 0.0001 g hassasiyetdeki terazide tartılmıştır. Tohumların son nem kapsamı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (21):

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

d - tohumun son nem kapsamı (%)

a - tohumun başlangıç ağırlığı (g)

b - tohumun başlangıç nem kapsamı (%)

c - tohumun son ağırlığı (g)

4.2. Humidifikasyon uygulamaları

Yüksek ve düşük nem kapsamındaki tohum gruplarının alt gruplarını oluşturan yüksek ve düşük canlılıktaki tohumlar (toplam 4 tohum grubu) suda bekletme uygulamalarında kullanılanlar ile aynıdır. Humidifikasyon uygulamaları her bir tohum grubu için aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

Bir desikatörün içine 1 litre saf su konulmuş ve suyun en üst seviyesinden yaklaşık 15 cm yukarısına (desikatörün genişleyen omuz kısmına) metal bir ızgara yerleştirilmiştir. Bu metal ızgara üzerine bir higrometre konulmuş ve desikatörün kapağı sıkıca kapatılmıştır. Sonra 16°C 'de çalışan bir inkübatör içine yerleştirilen desikatörün içindeki havanın oransal neminin %100'e ulaşması beklenilmiştir. Daha sonra 0.0001 g hassasiyette tartımı yapılan 250 tohum, bir petri kabı içine konulmuş ve üstü açık kalacak şekilde desikatörün içindeki metal ızgaranın üzerine yerleştirilmiştir (bu tohumlardan 200 tanesi uygulama sonrası çimlenme testinde, 50 tanesi ise sitolojik gözlemlerde kullanılmıştır). Desikatörün kapağı yine sıkıca kapatılarak, tohum nem kapsamı %16-18'e ulaşmaya kadar, 16°C 'de humidifikasyon uygulamasına devam edilmiştir. Tohum örneklerinin bu nem kapsam-

larına ulaşmaları günlük yapılan tartımlarla (humidifikasyon esnasında tohumların ağırlığında meydana gelen değişimlerle) belirlenmiştir. Tohum gruplarının son nem kapsamlarının belirlenmesinde suda bekletme uygulamalarında kullanılan formülden yararlanılmıştır.

5. Sitolojik gözlemler

Çimlenme testlerindeki metot kullanılarak, her uygulama grubu için 50 tohum, nemli kağıt havlular arasında 20°C'de çimlenmeye bırakılmışlardır. D'Amato (3) ve Dourado (4)'ya göre, çimlenmenin başlangıcından itibaren uzayan kök uçları belirli boylara ulaştığında (canlılığı %80 ve daha yukarı olan tohum grupları için 4-8 mm, canlılığı %50-80 arasında olan tohum grupları için ise 9-13 mm), bir bistüri ile kesilerek tohumlardan ayrılmıştır. Bu kök uçları 1 : 3 oranında ki, glasiyel asetik asit : absolut alkol karışımında, oda sıcaklığında 15 dakika fikse edilmiştir. Daha sonra saf su ile iki kere durulanan kök uçları %70'lik alkol içeren tüplerde buzdolabına konarak 3°C'de saklanmıştır.

Sitolojik gözlemler Sivritepe (21)'ye göre yapılmıştır. Her tohum grubu için ayrı ayrı incelenen kromozomal bozulmalar; kromozom-tipi, kromatid-tipi, karışık ve diğerleri olmak üzere dört kategoride değerlendirilmiştir (17, 21). Her uygulama grubu için bozulma kategorileri yüzde olarak hesaplanmıştır.

6. Verilerin analizi

6.1. Suda bekletme uygulamaları

Suda bekletme sürelerine karşılık tohumların normal çimlenmesi şeklinde elde edilen sonuçlar GENSTAT 5 bilgisayar programında, GLIM (Generalised Linear Models) kullanılarak, regresyon analizi ile değerlendirilmiştir.

6.2. Humidifikasyon uygulamaları

Humidifikasyondan sonra, tohum canlılığında kantitatif olarak meydana gelen iyileşme çok küçük olduğundan, probit analizi yöntemi ile bu varyasyon önemli bulunamamıştır. Ancak değerlendirmeye alınan her durumda, humidifikasyon tohum canlılığında belirgin bir artışa neden olmuştur (Cetvel 1). Bu nedenle, veriler yalnızca

ortalamaların standart hatalarının belirlenmesi şeklinde değerlendirilmiştir.

SONUÇLAR

Suda bekletme uygulamaları

Şekil 1'de yüksek canlılıkta ve yüksek nem kapsamındaki tohum grubunda suda bekletme uygulamasının etkisi görülmektedir. Uygulamadan önce tohumların normal çimlenmesi %96.5 iken 12 saatlik suda bekletme uygulaması sonrasında %94'e düşmüştür. Çok az olan bu canlılık kaybı istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

Düşük canlılıkta ve yüksek nem kapsamındaki tohum grubunda (Şekil 2), 12 saatlik uygulama sonrasında normal çimlenme %79.5'ten %3'e düşmüştür ($P<0.001$).

Yüksek canlılıkta ve düşük nem kapsamındaki tohum grubunda normal çimlenme, uygulamanın birinci saati sonunda %94'ten %86.5'e düşmüştür. İkinci saat sonunda, canlılık sabit kalmış ve daha sonra tekrar düşmeye devam etmiştir (Şekil 3). 12 saatlik uygulama sonunda ise normal çimlenme %56'ya ulaşmıştır ($P<0.001$).

Düşük canlılıkta ve düşük nem kapsamındaki tohum grubu (Şekil 4), uygulama süresince canlılığın düşmesi açısından Şekil 3'tekine benzer bir eğilim göstermiştir. Başlangıçta bu tohum grubunun normal çimlenmesi %73.5 iken, 12 saatlik uygulama sonunda %16.5'e düşmüştür ($P<0.001$).

Başlangıç tohum canlılığı ve suda bekletme sürelerinin tohumların su zararına hassasiyeti üzerine etkilerinin, hem yüksek nem kapsamına sahip tohum gruplarında (Şekil 1 ve 2) hem de düşük nem kapsamına sahip tohum gruplarında (Şekil 3 ve 4) önemli olduğu varyans analizi sonuçları ile de onaylanmıştır ($P<0.001$).

%15 nem kapsamında ve %96.5 normal çimlenme oranındaki tohumların 12 saatlik suda bekletme uygulaması sonunda, canlılıklarında %2.5'lik bir azalma olurken (Şekil 1), aynı uygulama sonucunda %4.8 nem kapsamında ve yaşlandırma uygulaması yapılmamış tohumlarda canlılık, %94'ten %56'ya düşmüştür (Şekil 3). Bu nedenle, düşük nem kapsamındaki tohumların yüksek nem kapsamındaki tohumlara göre su

zararına daha hassas oldukları söylenebilir. Ayrıca, yüksek ve düşük nem kapsamlarındaki yaşlandırılmış tohum gruplarında (Şekil 2 ve 4) su zararına hassasiyetin, yaşlandırılmamış tohum gruplarına (Şekil 1 ve 3) göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tüm bezelye tohum gruplarında genel olarak ortaya çıkan diğer bir sonuç ta; suda bekletme süresi ne kadar uzatılırsa, meydana gelen su zararındaki artışın o kadar çok olduğudur.

Humidifikasyon uygulamaları

“Douce Provence” çeşidi bezelye tohumlarında yapılan humidifikasyon uygulamalarından elde edilen sonuçlar, standart çimlenme testi öncesinde bu tekniğin kullanılması ile su zararının önlenileceğini ortaya koymaktadır. Humidifikasyon uygulamaları bütün tohum gruplarında normal çimlenme yüzdesinin artmasına ve anormal çimlenme yüzdesinin azalmasına neden olmuştur. Humidifikasyonun maksimum faydası, özellikle %4.8 nem kapsamındaki tohumlardan 65°C’de 42 gün yaşlandırılmış olan tohum grubunda (humidifikasyon öncesi %73.5 normal çimlenme) görülmüştür (Cetvel 1).

Ayrıca humidifikasyon uygulamaları; kromozomal bozulma gösteren anafaz hücrelerinin frekansını, düşük nem kapsamındaki tohum gruplarında %1.85 ile %3.90 arasında ve yüksek nem kapsamındaki tohum gruplarında ise %1.55 ile %2.69 arasında azaltmıştır (Cetvel 1). Humidifikasyon uygulamaları sonrasında, bütün tohum gruplarında her bir kromozomal bozulma grubunda azalma olmuştur (Şekil 5).

Her iki nem kapsamı seviyesinde, humidifikasyon uygulaması yapılmış ve yapılmamış olan tohum gruplarında, “kromatid-tipi” bozulmalar en yaygın olan kategoridir. Humidifikasyon ile oransal olarak en çok azalma “diğerleri” kategorisinde belirlenmiştir. Ancak frekans olarak değerlendirildiğinde, en çok azalma özellikle “kromatid-tipi” bozulmalarda görülmüş ve bunu “diğerleri” kategorisi takip etmiştir. Bununla birlikte, humidifikasyon uygulamalarından sonra, “kromozom-tipi” bozulmalar tamamen ortadan kalkmıştır (Şekil 5).

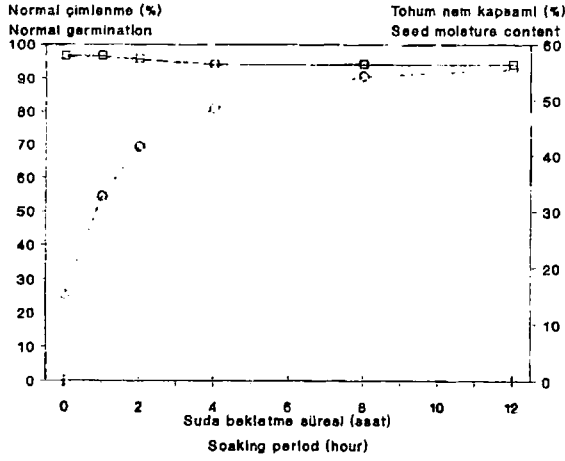
TARTIŞMA

Düşük nem kapsamındaki bezelye tohumları suda bekletildiğinde, önemli bir canlılık kaybı meydana gelmektedir. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmaların bulguları ile (14, 10, 19, 16, 5, 7) benzerlik göstermektedir.

Yaşlandırılmış bezelye tohumlarında suda bekletme uygulamaları konusunda yapılan ilk çalışmalardan biri de Powell ve Matthews (15)’e aittir. Bu araştırmacılar, yaşlandırılmış bezelye tohumlarında artan su zararına bağlı olarak, tohumların hücre ve dokularından sızıntı şeklinde dışarı doğru çeşitli madde akıntılarının olduğu sonucuna varmışlardır. Bu çalışma ile bezelye tohumlarında farklı canlılık seviyeleri yanında, farklı tohum nem kapsamlarının da su zararı üzerine etkileri, şimdiye kadar ilk defa incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; hem yüksek nem kapsamındaki tohumlarda (Şekil 1 ve 2) hem de düşük nem kapsamındaki tohumlarda (Şekil 3 ve 4) canlılık ve su zararına hassasiyet arasında negatif bir ilişki olduğu belirlenmiştir.

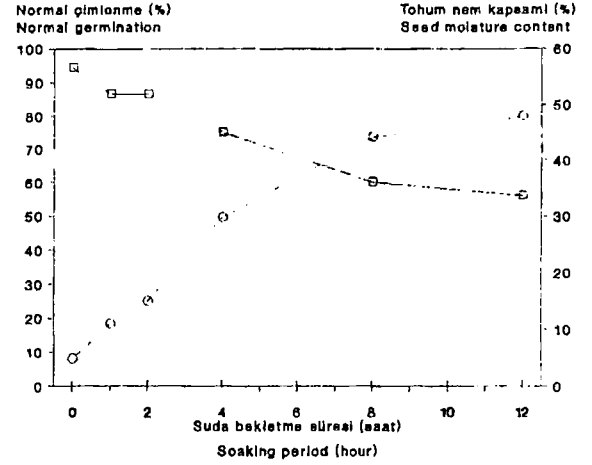
Tohumlarda suda bekletme ya da standart çimlenme testleri esnasında hızlı su alımının neden olduğu su zararının önlenmesi için, neme doyurulmuş bir atmosferde tohumların su buharını absorbe etmesi yoluyla nem kapsamının yavaşça artırılması (humidifikasyon), tavsiye edilen bir tekniktir (1, 8, 6, 7). Bu çalışmada yapılan humidifikasyon uygulamalarının sonuçları da bu tavsiyeyi desteklemektedir (Cetvel 1). “Douce Provence” çeşidi bezelye tohumlarının bütün gruplarında (yüksek ve düşük nem kapsamındaki tohumların yüksek ve düşük canlılık-taki gruplarında) humidifikasyon uygulamalarının, su zararını önlediği belirlenmiştir.

Ayrıca, bu çalışmada kullanılan bütün tohum gruplarında humidifikasyon uygulamaları sonunda; normal çimlenmenin arttığı ve buna bağlı olarak ta anormal çimlenme ile ilk mitoz bölünmeler esnasında meydana gelen kromozomal bozulmaların azaldığı tespit edilmiştir. Kromozomal bozulma gruplarından en çok kromatid-tipi bozulmaların azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar, humidifikasyon uygulamalarının tohumlarda enzim aktivitesini teşvik ederek,



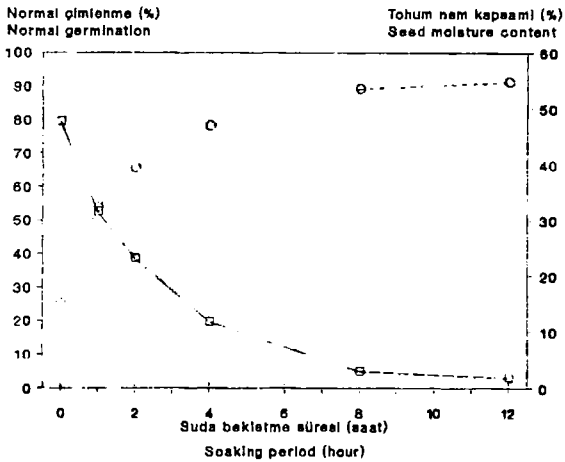
Şekil 1. Yüksek canlılık (%96.5 normal çimlenme) ve yüksek nem kapsamındaki (%15.1) bezelye tohumlarında suda bekletme süresi ile normal çimlenme (—□—) ve tohum nem kapsamı (—○—) arasındaki ilişkiler.

Figure 1. The relationships between soaking period and normal germination (—□—) and seed moisture content (—○—) in high viability (96.5% normal germination) and high moisture content (15.1%) pea seeds.



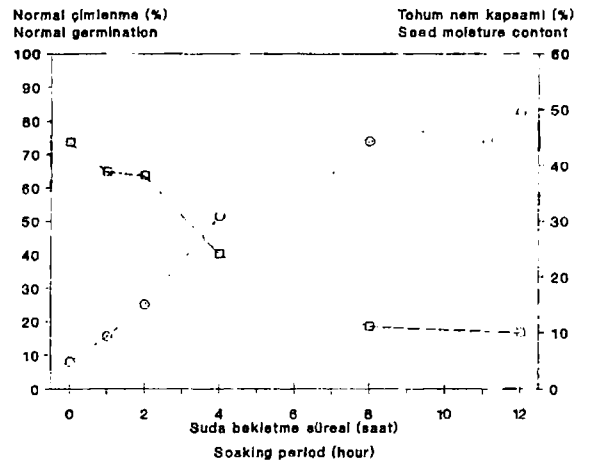
Şekil 3. Yüksek canlılık (%94.0 normal çimlenme) ve düşük nem kapsamındaki (%4.8) bezelye tohumlarında suda bekletme süresi ile normal çimlenme (—□—) ve tohum nem kapsamı (—○—) arasındaki ilişkiler.

Figure 3. The relationships between soaking period and normal germination (—□—) and seed moisture content (—○—) in high viability (94.0% normal germination) and low moisture content (4.8%) pea seeds.



Şekil 2. Düşük canlılık (%79.5 normal çimlenme) ve yüksek nem kapsamındaki (%15.1) bezelye tohumlarında suda bekletme süresi ile normal çimlenme (—□—) ve tohum nem kapsamı (—○—) arasındaki ilişkiler.

Figure 2. The relationships between soaking period and normal germination (—□—) and seed moisture content (—○—) in low viability (79.5% normal germination) and high moisture content (15.1%) pea seeds.



Şekil 4. Düşük canlılık (%73.5 normal çimlenme) ve düşük nem kapsamındaki (%4.8) bezelye tohumlarında suda bekletme süreleri ile normal çimlenme (—□—) ve tohum nem kapsamı (—○—) arasındaki ilişkiler.

Figure 4. The relationships between soaking period and normal germination (—□—) and seed moisture content (—○—) in low viability (73.5% normal germination) and low moisture content (4.8%) pea seeds.

Cetvel 1. “Douce Provence” çeşidi bezelye tohumlarına depolama sonrası yapılan humidifikasyonun canlılık ve kromozomal bozulmaların frekansı üzerine etkisi.

Table 1. The influence of post-storage humidification of pea seeds “cv. Douce Provence” on viability and the frequency of chromosomal aberrations.

Uygulamalar <i>Treatments</i>	Uygulama sonrası nem kapsamı <i>Subsequent moisture content (%)</i>	Normal çimlenme <i>Normal germination (%, ± s.e)</i>	Anormal çimlenme <i>Abnormal germination (%, ± s.e)</i>	Kromozomal bozulmalar <i>Chromosomal aberrations (%)</i>
Düşük Nem (% 4.8)	4.8	94.0±1.85	5.0±1.96	3.90
Düşük Nem (% 4.8) + Humidifikasyon (16°C’de 6gün)	16.5	96.5±0.91	2.5±0.73	2.05
Düşük Nem (% 4.8) + Yaşlandırma (65°C’de 42gün)	4.8	73.5±2.72	6.5±1.99	10.33
Düşük Nem (% 4.8) + Yaşlandırma (65°C’de 42gün)+ Humid. (16°C’de 7 gün)	16.4	86.0±3.02	1.0±0.66	6.43
Yüksek Nem (% 15.1)	15.1	96.5±0.91	3.5±0.91	3.32
Yüksek Nem (% 15.1) + Humidifikasyon (16°C’de 3gün)	17.7	99.5±0.50	0.5±0.50	1.77
Yüksek Nem (% 15.1) + Yaşlandırma (50°C’de 4gün)	15.1	79.5±3.16	7.0±1.46	8.53
Yüksek Nem (% 15.1) +Yaşlandırma (50°C’de 4gün)+ Humid. (16°C’de 4 gün)	18.1	85.0±1.96	4.5±1.40	5.84

Düşük nem - *Low moisture*
Yüksek nem - *High moisture*

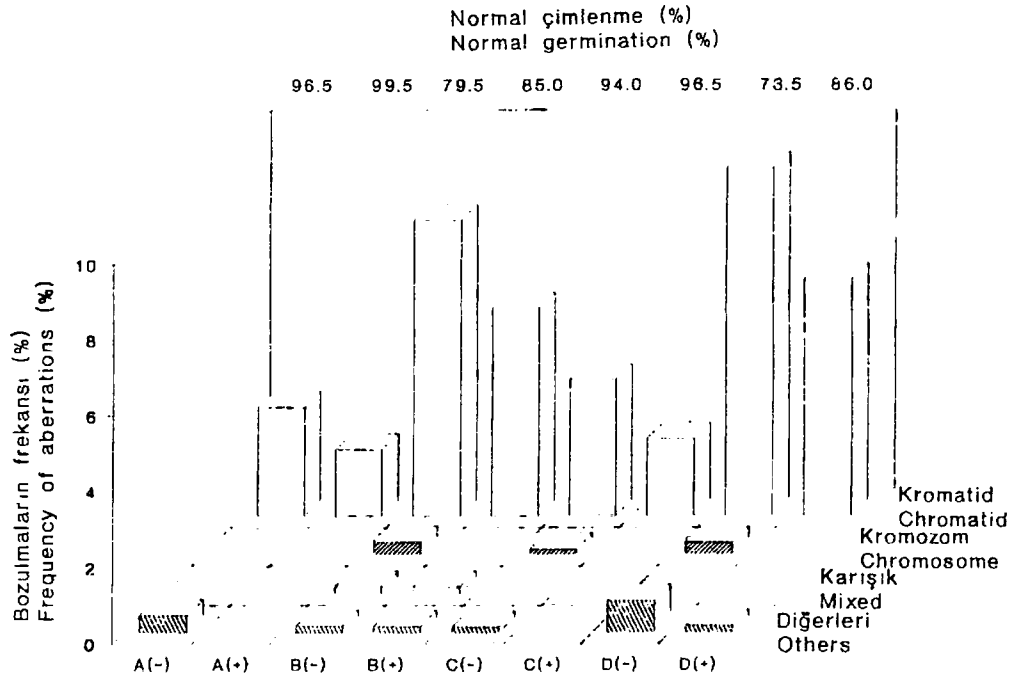
Yaşlandırma - *Ageing*
Humidifikasyon - *Humidification*

Gün - *Day*

muhtemelen DNA yapısında meydana gelen zararlanmanın onarımını sağladığı konusunda bir delil olmaktadır. Nitekim, benzer sonuçlar daha önce Rao ve ark. (18) tarafından marul tohumlarında ortaya konmuştur.

İki ayrı fakat birbiri ile yakın ilişkili olan faktör tohumlara yapılan humidifikasyon uygulamalarında etkili olmaktadır. Bunlar, sıcaklık ve belirli bir zaman aralığında tohumların ulaştığı son nem kapsamıdır. Daha önce, "Kelvedon Wonder" çeşidi bezelye tohumlarında optimum humidifikasyon koşullarını araştırdığımız bir çalışmada (22); optimum sıcaklığın 16°C ve tohumların ulaşması gereken son nem kapsamı aralığının ise %16.3-18.1 olduğunu tespit etmiş-tik. Fenotipik olarak buruşuk bir yapıda olan

"Kelvedon Wonder" çeşidi bezelyelerde bulduğumuz sonuçlar ile bu çalışmada kullanılan yuvarlak tohum yapısına sahip "Douce Provence" çeşidinden elde edilen sonuçlar birbiri ile uyum içindedir. Dolayısıyla bu çalışma ile birlikte, kültürü yapılan bezelye tohumlarında optimum humidifikasyon koşulları bir kere daha onaylanmış ve çimlenme öncesi rutin bir uygulama olması gerektiği kanısına varılmıştır. Optimum humidifi-kasyon koşullarının diğer türlerin tohumlarında (özellikle canlılığını daha çabuk kaybeden soğan ve biber gibi tohumlarda) da araştırılması tohum teknolojisi açısından büyük önem taşımaktadır.



Şekil 5. "Douce Provence" çeşidi bezelye tohumlarında humidifikasyon uygulamalarının kromozomal bozulma tiplerinin frekanslarında meydana gelen değişim üzerine etkileri.

- (A) %15.1 tohum nem kapsamı / 50°C - 0 gün yaşlandırılmış (kontrol),
- (B) %15.1 tohum nem kapsamı / 50°C - 4 gün yaşlandırılmış,
- (C) %4.8 tohum nem kapsamı / 65°C - 0 gün yaşlandırılmış (kontrol),
- (D) %4.8 tohum nem kapsamı / 65°C - 42 gün yaşlandırılmış,
- (--) Humidifikasyon uygulanmamış ve (+) Humidifikasyon uygulanmış.

Figure 5. The effects of humidification treatments on changes in frequencies of chromosomal aberration types in seeds of pea "cv. Douce Provence".

- (A) 15.1% seed moisture content / 50°C - 0 day aged (control),
- (B) 15.1% seed moisture content / 50°C - 4 days aged,
- (C) 4.8% seed moisture content / 65°C - 0 day aged (control),
- (D) 4.8% seed moisture content / 65°C - 42 days aged,
- (--) Non-humidified and (+) Humidified.

SUMMARY

THE EFFECTS OF HYDRATION TREATMENTS ON IMBIBITION INJURY, VIABILITY AND CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN PEA SEEDS

High and low viability samples of high and low moisture content pea (*Pisum sativum* L.) seed lots were soaked in distilled water for various periods of time. It was concluded that in pea seeds there was a negative correlation between seed viability and susceptibility of pea seeds to imbibition injury. Moreover, it was determined that the initial viability of pea seeds was an important factor affecting imbibition injury after desiccation to low moisture contents.

In order to avoid or minimise imbibition injury and possibly recover any damage which resulted from ageing, humidification treatments were conducted in high and low moisture content pea seed lots. These observations confirmed that imbibition injury could be removed by using pre-germination humidification treatments. Furthermore, the frequency of anaphase cells which showed chromosomal damage at the first mitotic divisions decreased in all pea seed lots. The greatest reduction was observed in chromatid-type aberrations, following humidification treatments.

LİTERATÜR KAYNAKLARI

1. Basu, R.N. and P. Pal, 1980. Control of rice seed deterioration by hydration-dehydration pretreatments. *Seed Sci. & Technol.*, 8: 151-160.
2. Bewley, J.D. and M. Black, 1985. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. 367 pp. Plenum Press, New York.
3. D'Amato, F., 1951. Spontaneous chromosome mutations in seedling of *Pisum sativum* L. *Caryologia*, 3: 285-293.
4. Dourado, A.M., 1983. Genetic deterioration in aged barley (*Hordeum distichon* L.) and pea (*Pisum sativum* L.) seeds. PhD Thesis, University of Reading, U.K.
5. Ellis, R.H. and E.H. Roberts, 1982. Desiccation, rehydration, germination, imbibition injury and longevity of pea seeds (*Pisum sativum* L.). *Seed Sci. & Technol.*, 10: 501-508.
6. _____, T.D. Hong and E.H. Roberts, 1985. Handbook of seed technology for genebanks. Vol. 1. Principle and methodology, 210 pp. International Board for Plant Genetic Resources, Rome.
7. _____ and _____, 1990. Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibition damage. *Seed Sci. & Technol.*, 18: 131-137.
8. _____, K. Osei-Bonsu and E.H. Roberts, 1982. Desiccation and germination of seed of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Seed Sci. & Technol.*, 10: 509-515.
9. Gray, D., 1989. Improving the quality of horticultural seeds. *Professional Hort.*, 3: 117-123.
10. Harrison, J.G., 1973. Localization of damage incurred during water imbibition by *Pisum sativum* and *Zea mays* seeds, as revealed by the topographic tetrazolium test. *Hort. Res.*, 13: 119-124.
11. Heydecker, W. and P. Coolbear, 1977. Seed treatments for improved performance-survey and attempted prognosis. *Seed Sci. & Technol.*, 5: 353-425.
12. ISTA., 1985a. International Rules for Seed Testing. Rules 1985. *Seed Sci. & Technol.*, 13: 299-355.
13. _____, 1985b. International Rules for Seed Testing. Annexes 1985. *Seed Sci. & Technol.*, 13: 356-513.
14. Larson, L.A., 1968. The effect soaking pea seeds with or without seedcoats has on seedling growth. *Plant Physiol.*, 43: 255-259.
15. Powell, A.A. and S. Matthews, 1977. Deteriorative changes in pea seeds stored in humid or dry conditions. *J. Exp. Bot.*, 28: 225-234.
16. _____ and _____, 1978. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. *J. Exp. Bot.*, 29: 1215-1229.

17. Rao, N.K., 1986. Chromosomal aberrations and gene mutations induced in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds during storage, 214 pp. PhD Thesis, University of Reading, U.K.
18. _____, E.H. Roberts and R.H. Ellis, 1987. The influence of pre and post-storage hydration treatments on chromosomal aberrations, seedling abnormalities, and viability of lettuce seeds. *Ann. Bot.*, 60: 97-108.
19. Rowland, G.G. and L.V. Gusta, 1977. Effects of soaking, seed moisture content, temperature and seed leakage on germination of faba beans (*Vicia faba*) and peas (*Pisum sativum*). *Can. J. Pl. Sci.*, 57: 401-406.
20. Simon, E.W. and R.H. Raja Harun, 1972. Leakage during seed imbibition. *J. Exp. Bot.*, 23: 1076-1085.
21. Sivritepe, H.Ö., 1992. Genetic deterioration and repair in pea (*Pisum sativum* L.) seeds during storage. 227 pp. Ph.D. Thesis, University of Bath, England.
22. _____ and A.M. Dourado, 1994. The effects of humidification treatments on viability and the accumulation of chromosomal aberrations in pea seeds. *Seed Sci. & Technol.*, 22: 337-348.