

## Poliploidi

Bilindiği gibi, organizmalarda kromozom sayılarında meydana gelen değişmelere "ploidi", somatik hücrelerde ikiden fazla kromozom takımının bulunması durumuna ise "poliploidi" denir. Bir tür içinde genom sayısının katlanarak artmasına "autoploidi" ya da "autopoliploidi", farklı genomların bir araya gelmesine "alloploidi" ya da "alloploidi" denir. Genom olarak bilinen temel kromozom sayısı "x" ile gösterilir. Bazen "x" yerine "n" harfi de kullanılmaktadır.  $2n$ , somatik hücrelerin kromozom sayısını; n ise gamet hücrelerinin kromozom sayısını gösterir.

Bitki türlerinin kromozom yapıları çeşit geliştirmede kullanılacak ıslah uygulamalarını etkiler. Normal meyoz ve mitoz bölünmelerde genomun kromozomları birlikte yavru döllere geçer. Türlerle ilişkili olan farklı genomlar büyük harflerle gösterilir (A, B, C gibi). Ploidi, kromozom takımları değişimleri (euploidi) ve kromozomların bir ya da birkaçında ortaya çıkan değişimler (aneuploidi) olarak iki gruba ayrılır.

**Euploidi:** Euploid bitkiler temel kromozom sayısının katlarını bulundururlar. Monoploidler bir kromozom takımını (x), diploidler iki kromozom takımını ( $2x$ ) taşırlar. İki kromozom takımından fazla sayıda kromozom takımı taşıyan bireyler poliploid olarak adlandırılır. Bunlar triploid ( $3x$ ), tetraploid ( $4x$ ), pentaploid ( $5x$ ), hekzaploid ( $6x$ ) gibi isimlendirilir. Aynı genomun iki takımından fazla kromozom takımı bulunduran poliploidlere "Autoploid", iki ya da daha fazla sayıda farklı kromozom takımı bulunduran poliploidlere ise "alloploidi" denir. İki genomu A ve B olarak kabul ettiğimizde, "autotetraploidler" ( $4x$ ) A ya da B genomundan 4 takım bulundururlar. "Allotetraploidler" ise ( $4x$ ), A ve B genomlarından ikişer takım bulundururlar.

Somatik hücrelerin kromozom sayıları genellikle  $2n$  şeklinde gösterilir. Buradaki "n" harfi, bulunan kromozomların farklı sayılarından oluşan "x" i göstermez. Bununla birlikte genotiplerin kromozom sayılarını açıklamada "x" ve "n" yardımcı olurlar. Örneğin, diploidlerin somatik hücrelerinde  $2n=2x$  ve gametlerinde  $n=x$  dir. "Autohekzaploid"lerin somatik hücrelerinde ise,  $2n=6x$  ve gametlerinde  $n=3x$ 'dir.

Haploid bireylerde (n) ya da gametlerdeki kromozom takımı sayısı somatik hücrelerin yarısı kadardır. Autoploid bitkilerde bireyler, diploid, triploid, ve hekzaploid gibi, farklı ploidi düzeyinde aynı genomları taşırlar. Eş kromozomlar, meyoz (meiosis) bölünmedeki sayı (univalent, bivalent gibi) ve şekillerine (çubuk, halka gibi) göre özel isimler alırlar.

**Aneuploidi:** Bitki türlerinin somatik hücrelerinde kromozom sayısı, temel monoploid kromozom sayısının (x) katları halindedir. Her kromozomun homolog çiftini taşıyan bireylere disomik ( $2x$ ) adı verilir. Kromozom sayılarındaki farklılıklar monoploid sayısının katları şeklinde değilse, buna "aneuploidi" denir. Bu farklılıklar tam kromozomların ya da kromozom parçalarının eklenmesi ya da eksikliği şeklinde görülür.

## Poliploid Bitkilerin Elde Edilmesi

Poliploid bitki elde etmek için kullanılan kromozom katlama yöntemleriyle ilgili ilk çalışmalar 1931 yılında başlamıştır. Daha sonraları **indol asetik asitten** yararlanılarak başta patates (*Solanum sp.*) olmak üzere bazı türlerde poliploid bitkiler elde edilmiştir. Ancak, bu konuda esas çalışmalar **1937 yılından sonra "kolkisin"** (colchicine) maddesinin bulunmasından sonra hızlanmıştır. Kolkisin, güz çiğdemi (*Colchicum autumnale*) bitkisinden elde edilen kuvvetli bir alkaloiddir. Bu maddenin kromozom sayılarını iki katına çıkarması, mitoz bölünme sırasında iğ ipliklerinin geçici bir süre tahrip edilmesiyle ve anafaz hareketinin engellenmesiyle açıklanmaktadır. Böylelikle, hücre bölünmeden kromozomlar bölünmekte ve bölünen kromozomlar aynı hücre içerisinde kalarak kromozom sayısı katlarına çıkmaktadır.

Kolkisin maddesi genellikle **tohum, kök ve sürgünlere** uygulanmaktadır. Uygulamanın süresi ve hazırlanan eriyiğin yoğunluğu, uygulanacak bitkinin türüne ve kullanılacak yöntemle bağlı olmaktadır. Tohum ve çimlere genel olarak % 0.1-0.4'lük kolkisin uygulanmakta ve bunun süresi 30 dakika ile üç saat arasında değişmektedir. Yoğunluğun % 0.05'e inmesi halinde, süre 24 saate kadar çıkabilmektedir.

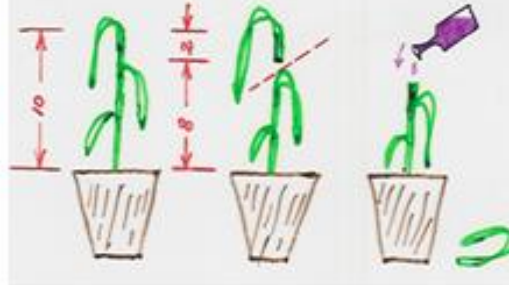
**Tohumlara kolkisin uygulaması** kuru tohumlara yapılabileceği gibi, bir gün su ile ıslatılmış tohumlara da yapılabilmektedir. Tohumlara kolkisin uygulamaları genellikle petri kutularında ve çimlendirme kağıtları arasında yapılır. Kuru tohumlar 12 saat, nemli tohumlar 6 saat süreyle kolkisinle muamele edilirler.

**Fidelere kolkisin uygulanacağı** zaman, % 0.1'lik eriyik ile ıslatılmış pamuklardan yararlanılır. Bu pamuklar fidelerin büyüme konilerine konur ve pamuklar günde 1-3 kez yenilenir. Buğdaygillerde büyüme konileri kapalı olduklarından bunlara kolkisin uygulamalarında daha değişik yöntemler kullanılmaktadır. Genellikle 2-4 mm. boyundaki çim kınlarının (Coleoptile) % 0.25'lik kolkisine batırılarak 18-20° sıcaklıkta 30 dakika bekletilmeleri iyi sonuç vermektedir.

BEATY, RUPERT ve DENGAN (1976)

MATERYAL : *T. durum* x *S. cereale* ( $2n=21$ )  
*T. aestivum* x *S. cereale* ( $2n=28$ )

LİYULAMA YERİ : ARAŞAP  
ZAMANI : 10 cm. BOYLANINCA  
DOZU : %0.1 COLCHICINE + %0.2 DMSO  
SÜRESİ : 12h IŞIK ALTINDA  
İŞLENDEN SONRA 2-5 HAFTA VERNALİZE EDİLDİ



### BÜYÜYER UYGULANABİLEN ÖZEL COLCHICINE YÖNTEMLERİ

THOMAS ve KALTSKES (1977) :

MATERYAL : PENTAPLOİD TRİTİKALE ( $2n=35$ )  
(TETRAPLOİD BUĞDAY x HEKSAPLOİD TRİTİKALE)

LİYULAMA , YERİ : İLKEL BAŞAK  
ZAMANI : METAFAZ-I SAHNASI ÖNCESİ  
DOZU : %0.03  
İSİSİ : 20°C  
SÜRESİ : U 40 h



Kolkisin ile muamele edilmiş materyal su ile iyice yıkanarak kasa ya da yastıklara yerleştirilirler. Bitkilerin gelişmeleri sürekli olarak kontrol edilerek morfolojik değişimler izlenir.

Kolkisinden etkilenen bitkilerin;

- **yaprakları koyu yeşil olur ve kalınlaşır,**
- **boyları kısalır,**
- **çiçek, meyve ve tohumlar irileşir.**

Aşırı kolkisin öldürücü etki yapmaktadır. Kolkisin ile muamele edilmiş bitkilerin değişik dokularında farklı kromozom sayılı hücreler bulunabilir. **Kimera (Chimera)** denilen bu özellik genellikle ıslahçıların yanılmalarına neden olduğundan, bu konuda dikkatli olunmalı ve bitkinin tamamının poliploid olması sağlanmalıdır. Daha sonra, seçilen poliploid çiçekler birbirleriyle melezlenir. Elde edilen melezlerin kromozom sayıları kontrol edilir. Amaca uygun olanlar yetiştirilerek tarlaya şaşırtılır. Tarlada yetiştirilen birinci kuşak (**C<sub>1</sub>**) bitkilerinden elde edilen tohumların ertesi sene ekilmeleriyle elde edilen **C<sub>2</sub>** kuşağında hemen seçmeye başlanabilir. Ancak seçmelere başlamadan önce bitkileri birkaç kuşak kendi haline bırakmak yeni kombinasyonların oluşmasına fırsat vermek açısından yararlı olmaktadır. Bundan sonra, poliploid formunu koruyan, tohum bağlaması yüksek olan, iyi gelişme gösteren ve istenen özelliklere sahip olan bitkiler seçilir. Bu seçme işlemleri bitkinin türüne bağlı olarak bir kaç yıl sürdürüldükten sonra üstünlükleri kesin olarak belli olan bitkiler üretmeye alınır.

Poliploidi ıslahında kolkisinden başka kimyasal maddeler de kullanılmaktadır. Bunların başında "**kloral hidrat**", "**eter**", "**kloroform**", "**fenil üretan**" gibi maddeler gelmektedir. Poliploid bitkilerin elde edilmesinde aşırı sıcak ve aşırı soğuk gibi ısı şoklarından da yararlanılmaktadır. Bunların kullanılmasıyla da hücre bölünmesi sırasında iki hücre arasındaki hücre zarının oluşumu engellenmekte ve kromozomların aynı hücre içerisinde bölünmeleri sağlanabilmektedir. Ancak, bunda başarı oranı % 3-5 gibi son derece düşük düzeyde olmaktadır. Bu tip uygulamalar genellikle mısırda yapılmış ve elde edilen sonuçlar başarılı olunabileceğini göstermiştir. Bunun için, bitkilerin tozlanma ve döllenenleri kontrol altında tutulmakta, döllenen yumurta hücresinin bölünmesi sırasında (örneğin, arpada tozlanmadan 20 saat sonra) 20-30 dakika süreyle 43°C'lik ısı şoku uygulanmaktadır.

Poliploid oluşturmada kullanılan bir başka yöntem ise "regenerasyon" yöntemidir. Çok eski ve güvenilir olmayan bu yöntem de yaralanan dokulardan yararlanılmaktadır. Yaralanan dokularda oluşan "kallus" tabakasından çıkan tomurcukların bazen poliploid oldukları saptanmıştır. Bu nedenle, bitkilerin tomurcuklarının ve büyüme konilerinin yapay olarak zedelenmeleriyle kallus dokusunun oluşumu sağlanmakta ve buradan oluşacak tohumların poliploid olmaları teşvik edilmektedir.

### **Poliploid Bitkilerin Saptanması**

Poliploid bitkiler, daha önce de değinildiği gibi, bazı morfolojik değişmelerle saptanabilmekte ise de **en güvenilir yöntem, kök hücrelerindeki kromozomların sayılmasıdır.** Ancak, bu yöntem zaman alıcı ve güç olduğundan daha pratik

yöntemler de geliştirilmiştir. Poliploid bitkilerin belirlenmesinde kullanılan bu yöntemler sırasıyla;

- **çiçektozlarının boylarının ölçülmesi,**
- **epidermis hücrelerinde kloroplastların sayılması,**
- **kromozom sayılarının belirlenmesi** şeklinde özetlenebilir. Elde edilen bu sonuçların normal bitkilerdeki değerlerle karşılaştırılmaları ile bitkilerin poliploid olup olmadıklarına karar verilebilmektedir.

Hücredeki kromozom sayılarının artması, hücrenin de hacimca artmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı, poliploid bitkilerin çiçektozları, diploid olanlarına oranla daha iridir. Polenler oküler mikrometre ile kolaylıkla ölçülebilmektedir.

Poliploid olmuş bitkilerin epidermis hücrelerindeki kloroplastlarının sayıları, normal formlarına oranla daha fazladır. Kloroplastları sayabilmek için, yaprağın alt yüzeyinden bir parça epidermis soyulur. Epidermis gümüş nitrat ( $AgNO_3$ ) ile muamele edilir. Kloroplastlar gümüş nitratın etkisiyle siyahlaşarak mikroskop altında kolaylıkla sayılabilir. Ölü kloroplastlar boyanmadıkları için, bu işlemin kesinlikle canlı yaprak örneklerinde yapılması gerekmektedir. Gümüş nitratın etkisini artırmada "tipol" denilen bir maddenin kullanılması yararlı olmaktadır. İşlem görmemiş bitkiye oranla fazla kloroplastın bulunması, bitkinin poliploid olduğunun belirtisidir. Ancak, kesin olarak sonuç almanın tek yolu kromozomların sayılmasıdır.

## **Colchicine Uygulamasından Sonra Yapılacak İşler**

- Bitkiler bol su ile yıkanır
- Toprağa aktarılır
- Morfolojik gelişmeler izlenir
  - Yapraklar koyulaşır
  - Bitki kalınlaşır ve kısalır
  - Büyüme yavaşlar
- Laboratuvar çalışmaları yapılır
  - Polen boyu ölçülür
  - Epidermiste kloroplast sayılır
  - Kromozom sayılır
- Yeni rekonminasyona ve doğal seleksiyona olanak sağlanır
- 2 - 3 kuşak sonra seleksiyon yapılır

### **Poliploid Bitkilerin Sorunları**

Poliploid bitkilerin gelişmeleri, normallerine oranla oldukça zayıftır. Özellikle ilk kuşaklarda bu durum açıkça görülür. Poliploid bitkiler, fizyolojik olarak da bir takım

farklılıklar gösterirler. Bunların osmotik basınçları daha düşük olup, hücre bölünmesi için daha uzun zamana gereksinim gösterirler. Düşük osmotik basınç, soğuklara ve donlara karşı da dayanma gücünü azaltır. Öte yandan, azotlu ve fosforlu gübrelere karşı da oldukça hassastırlar. Bu nedenlerle, poliploid bitkiler özenle yetiştirilmeli ve özel yetiştirme teknikleri uygulanmalıdır.

**Poliploid bitkilerin en önemli sorunlarından biri de kısırlıktır.** Kromozomların homologlarının sayılarındaki artış, meyoza bölünme sırasında eş kromozomların birbirlerini bulmada güçlük çekmeleri nedeniyle düzensizliklere yol açmakta ve dengesiz gametlerin oluşmalarıyla büyük ölçüde kısırlık ortaya çıkabilmektedir.

Poliploid popülasyonlar prensip olarak sabittirler. Ancak, bunların bazen diploidleriyle bir arada yetiştirilmeleriyle değişik ploidi düzeyine sahip bitkiler ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, tetraploid bitkilerin diploidlerle bir arada yetiştirilmeleri triploid bitkilerin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir.

Özellikle allopoliploid bitkilerde görülen en büyük sorunlardan biri de türler arasındaki doğal izolasyondur. Bu tip bitkilerde genellikle çiçektozları birbirlerinin stigmaları üzerinde çimlenmede güçlük çekmektedirler. Çimlenme olsa bile, çiçektozu çim borusu dışı borusu içerisinde gelişmemektedir. Bunun sonucunda, tohum bağlama oranı son derece düşük olmaktadır. Öte yandan, endosperm ile ana doku arasında da uyumsuzluğun görülmesi sık rastlanan bir olaydır. Bu nedenle, karşılıklı (resiprok) melezlemelere ağırlık verilmelidir.

### **Autopoliploid Bitkilerin Özellikleri**

Autopoliploid bitkilerde meristematik dokudaki hücrelerin büyüklüklerinin arttığı görülmektedir. Ancak bu durum her zaman bitkilerin hacminin de artması demek değildir. Kromozom katlanmalarına karşı farklı türler farklı tepki gösterirler. Ancak, genellikle hücrelerde ortaya çıkan hacim artışı bitkilerde de devsi özelliklere neden olmaktadır.

Hücrenin büyümesiyle, hücre içindeki şu, protein, klorofil, selüloz ve vitamin miktarlarında da artışlar görülmektedir. Özellikle yapraklarda hücre büyümesiyle birlikte bir irileşme ve kalınlaşma ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca çiçektozları, tohum ve meyvelerde de belli oranlarda artışlar görülmektedir.

Autopoliploid bitkilerde kimyasal yapı bakımından da bazı değişiklikler kendini göstermektedir. Örneğin, tetraploid mısırdaki A vitamini aktivitesi, diploid olanlara oranla, % 40 daha fazladır. Ayrıca birçok sebze ve meyvede kromozom katlanmasının etkileriyle C vitamini miktarları da artmaktadır. Yine araştırmalar, tetraploid tütünde nikotin miktarının diploid tütüne oranla % 18-33 daha fazla olduğunu göstermektedir. İngiliz çimi (*Lolium perenne*)'de de poliploidleşmeyle birlikte şeker ve kuru madde oranlarında artış görülmüştür. Fakat buna karşılık triploid şeker pancarında kök hacminin artmasıyla birlikte diploid pancara oranla şeker oranında azalmalar ortaya çıkmaktadır.

Genel olarak poliploidlerin büyüme hızları diploidlere oranla daha azdır. Buna neden olarak büyüme hormonu miktarının autopoliploidlerde, diploid olanlara oranla daha az olması gösterilmektedir. Autopoliploid bitkilerde çiçeklenme gecikmekte ve çiçeklenme süresi uzamaktadır. Buğdaygillerde görülen en belirgin özelliklerden birisi ise, poliploidleşme ile birlikte kardeşlenme oranının azalmasıdır.

Autopoliploid bitkilerin ekolojik istekleri de diploid olanlara oranla çok farklıdır. Örneğin, kavun tohumlarının çimlenebilmesi için, normalden daha fazla sıcaklığa gereksinim duyulmaktadır. Tetraploid çavdar ise, daha uzun fotoperiyodik dönem istemekte ve bu koşullar sağlanırsa tohum bağlama oranını artırmaktadır.

## **Yapay Poliploidi**

Bitkilerin somatik kromozom sayılan birçok fiziksel ve kimyasal madde ile ikiye katlanabilir. Bu maddeler içerisinde en yaygın olarak kullanılan "colchicine", güz çiğdemi (*Colchicum autumnale*) bitkisinden elde edilen doğal bir alkaloiddir. "Colchicum" ve "Calcemid" ise, bu maddenin sentetik olarak elde edilen formlarıdır. Bu kimyasal maddeler, bitkinin mitoz bölünmekte olan meristematik bölgesine uygulanır. Böylece hücrelerde bölünme sırasında iki katına çıkan kromozom sayısı, iğ iplikleri oluşmadığı için metafazda orta düzlem üzerinde toplanmaz, normal anafaz ve telofaz meydana gelmez. Sonuçta, orijinal kromozom sayısının iki katı kromozoma sahip olan poliploid hücreler oluşur.

**Yapay poliploidlerin bitki ıslahındaki rolü Dewey (1980) tarafından incelenmiştir. Buna göre, yapay poliploidlerin ıslahta üç kullanım şekli vardır;**

- a) Mevcut türlerin kromozom sayısını artırarak autopoloidlerin elde edilmesi,**
- b) Farklı genomlu iki türün melezlenmesinden elde edilen melezin kromozom sayısını artırarak amfidiploidlerin elde edilmesi,**
- c) Türler arasında ya da farklı ploidi düzeylerindeki genotipler arasında gen aktarma olanağının sağlanması.**

Bitki ıslahı yönünden yapay autopoloidi ya da allopoloidinin kullanılmasında dört konu dikkate alınmalıdır.

**Ploidi Düzeyi:** Mevcut bitki türleri optimum ploidi düzeyinde olmalıdır. Ploidi düzeyindeki herhangi bir artış, yarardan çok zarar getirir. Yapay poliploidi düzeyinin farklılığı üzerindeki araştırmalar, **hekzaploid düzeyinin ötesinde kromozom sayısını artırmanın avantajının olmadığını ya da çok az olduğunu göstermektedir.** Amaç tarımsal üretimi artıracak genotip geliştirmek olduğunda, en fazla **tetraploid ya da hekzaploidlerin** kromozom sayısına kadar katlama önerilmektedir.

**Ekonomik değeri olan bitki aksamı:** Yapay poliploidi kromozom eşleşmelerinde anormalliklere neden olur. Bu da canlı gametlerin frekansını ve tohum tutmayı

azaltmaktadır. Yapay poliploidi, vegetatif kısımları ekonomik önem taşıyan ve vegetatif olarak, çoğaltılan türler için büyük başarı şansına sahiptir. Tohumları için ticari olarak yetiştirilen türlerde yapay poliploidlerin kullanılması çok güçtür.

**Bitkinin ekonomik önemi:** Yapay poliploidinin ıslah potansiyelini belirlemeden önce genellikle birkaç kuşak melezleme ve seleksiyon gerekmektedir. Bu nedenle, gereksinim duyulan geniş zaman ve para harcamaları sonucunda elde edilecek olan yeni ploidi düzeyine sahip bitki, kullanılan türlerden daha üstün ise yapay poliploidi uygulanmalıdır. Başka bir deyişle yeni bitki büyük ölçüde ekonomik gelir sağlamalıdır.

**Seçme süresinin uzunluğu:** Yapay poliploidlerin kullanılması, genellikle birkaç kuşak melezleme ve seçme gerektirir. Yararlı çeşitlerin elde edilmesinden önce seçme süresi uzun yıllar almaktadır. Bu nedenle, yapay poliploidi, seçme süresi oldukça kısa olan tek yıllık ürünlerde kullanılmalıdır. Bu gibi bitkilerde elde edilen sonuç, çok yıllık türlere oranla daha başarılı olmaktadır.

## Poliploid Bitkilerin Özellikleri

### 1. Morfolojik

- Tohum ve meyvelerde irilik (Verim artışı)

### 2. Kimyasal

- A Vitamini artışı (tetraploid mısır)
- C vitamini artışı (meyve ve sebzeler)
- Nikotin artışı (tetraploid tütün)
- Kuru madde artışı (İngiliz çimi)
- Şeker oranı azalması (tetraploid pancar)

### 3. Fizyolojik

- Büyüme hızının azalması
- Kardeşlenme azalması
- Çiçeklenme gecikmesi

### 4. Ekolojik

- Yüksek çimlenme ısısı isteği (Kavun)
- Uzun fotoperiyodik dönem (tetraploid çavdar)



## Kromozomu Katlanmış Bitkilerin Sorunları (Örnek: Buğday)

1. Ploidi düzeyinde geriye dönüş
2. N'lu ve P'lu gübrelere aşırı duyarlılık (Özel gübreleme teknikleri gerekir)
3. Cinslerarası doğal izolasyonun görülmesi
  - Çiçektozlarının birbirlerinin stigmalarında çimlenememesi
  - Çiçektozu hortumunun dişicik borusuna ulaşamaması
  - Endosperm ile ana dokunun uyuşmaması
4. İlk kuşaklarda gelişme zayıflığı
5. Soğuklara ve dona dayanıksızlık