



Biber Tohumlarında Canlılık Tespitine Yönelik Kullanılan Tetrazolium Test Metodunun Modifikasyonu

Nuray Akbudak^{1*}, Sevinç Başay²

¹Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü 16059 Bursa, Türkiye

²Atatürk Bahçe kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü 77102 Yalova, Türkiye

*e-posta: nakbudak@uludag.edu.tr

Özet: Araştırmamızda, ülkemizde de yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan 'Kandil Dolma' ve 'Yalova Yağlık-28' çeşidi biber tohumlarında, canlılık tespitinde kullanılan tetrazolium (2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride) (TZ) testi için en uygun prosedür belirlenmeye çalışılmıştır. Denemede biber tohumları (her çeşit için 3'er parti) 45°C'de 3 saat nemli ortamda tutulduktan sonra 35, 40 ve 45°C'de %1'lik TZ solüsyonunda 2 ve 3 saat bekletilmiştir. Elde edilen sonuçlar, korelasyon analizi yapılarak çimlenme ve fide çıkış oranları ile ilişkilendirilmiştir. Her iki çeşitte de en yüksek ve doğru canlılık oranını 40°C'de 3 saat tutulan tohumlar ('Kandil Dolma' %99.50 2 No'lu parti, 'Yalova Yağlık-28' %96.90 2 No'lu parti) vermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Capsicum annum*, Çimlenme, Fide çıkış oranı, Tohum canlılığı, 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride

Modification of Tetrazolium Test Methodology for Determining Viability of Pepper Seeds

Abstract: Alternative procedure for tetrazolium (2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride) test to determine viability of pepper (cvs. 'Kandil Dolma' ve 'Yalova Yağlık-28') seeds were studied in this research. In the pretreatment of work, three lots of cvs. 'Kandil Dolma' ve 'Yalova Yağlık-28' were hydrated (3h at 45°C) followed by staining for 2 and 3 h in a 1% TZ solution at 35, 40 ve 45°C. Results of viability were associated with germination and seedling emergence test. The results indicated that the highest and right values of viability (cv. 'Kandil Dolma' 99.50% lot 2 and cv. 'Yalova Yağlık-28' 96.90% lot 2) were obtained at 40°C 3h.

Key Words: *Capsicum annum*, Seed viability, 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride, Seed germination, seedling emergence

Giriş

Biber ülkemizde olduğu kadar dünyada da gerek örtü altında gerekse açıkta yoğun yetiştiriciliği yapılan türler arasındadır. Biber kadar yoğun yetiştiriciliği yapılan türlerde tohum veya tohumluk, üretimin en eski ve en önemli kriteridir. Başarılı üretimin sağlanması için tohum kalitesi ve sağlıklı fide elde edilmesi birinci kuraldır. Tohum kalitesi; yüksek canlılık oranı ve tohum gücü ile fiziksel ve genetik saflığa bağlıdır (Bewley, 1997). Formal tohumluk programlarında sürekli kalite kontrolü önerilmekle birlikte, bugün tohumluk tescil ve sertifikasyon sistemlerinde zorunlu olarak yapılan kalite kontrolleri içinde canlılık, tohum sağlığı, fiziksel ve genetik saflık kontrollerini görmektedir (Eser ve ark., 2005). Kalite kontrollerinde yaygın kullanılan standart çimlendirme testi, optimum tarla koşullarında çıkışın tahmin edilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Hampton, 2002; Copeland ve McDonald, 1995). Bu nedenle, tohumların canlılıklarının önceden ve doğru olarak tahmin edilmesi önem kazanmaktadır. Kullanılan tohumluğun canlılığı düşük ise bitkilerin çıkışı çok zayıf olur. Bitkiler homojen gelişemez ve tarlada boşluklar oluşur.

Bu çalışmamızda, tohum canlılığını çabuk ve doğru tespit edebilmek için halihazırda kullanılan tetrazolium testinin biberdeki etkinliğini arttırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü ve Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada, materyal olarak 'Kandil Dolma' ve 'Yalova Yağlık-28' biber çeşitleri kullanılmıştır. Tetrazolium ile canlılık tespiti için, her partiden 50'şer adet tohum kullanılarak kurulan denemeler 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür (AOSA 2000). Tohumlar 45°C'de 3 saat nemli ortamda (Santos ve ark., 2007) bekletildikten sonra nem içerikleri %45 olunca uzunlamasına kesilerek 2 eşit parçaya ayrılmış, kesilen tohumlar %1'lik 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride (TZ) solüsyonu içine konularak bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra biber tohumları 35, 40 ve 45°C de 2 ve 3 saat tutulmuştur. Bu periyotlardan sonra tohumlar TZ solüsyonundan alınarak soğuk su içerisinde çalkalanmış ve mikroskop (x40) altında incelenmiştir. Tohumlar boyanma durumlarına göre canlı veya cansız olarak belirlenmiştir. Embriyo dokuları tam, sert dokulu, turgorlu, embriyo ve endospermin tamamı açık kırmızıya boyanmış veya boyanmamış kısmı %50 fazla olmayan tohumlar canlı olarak sayılmıştır. Gevşek yapılı, embriyo, endosperm ve kök ucunda boyanmamış bölge %50'den fazla olan tohumlar cansız olarak sayılmıştır (Santos ve ark., 2007).

Standart çimlendirme testleri ISTA (2004) kurallarına göre, 50'şer adet tohum kullanılarak ve 4 tekerrürlü olacak şekilde düzenlenmiştir. Tohumlar petri kapları içinde 16 saat karanlık 22±2°C ve 8 saat ışıklı ortamda 27±2°C'de iklim dolabında tutularak çimlenmeye bırakılmışlardır. 7. ve 14. gün sonunda sayımlar yapılarak, her bir çeşit ve parti için ortalama çimlenme oranı belirlenmiştir. Fide çıkış oranını belirlemek için her tekerrürde 50 adet tohum kullanılarak kurulan denemeler 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Tohumlar tohum ekim harcı içine ekilerek 25±2°C sıcaklıktaki iklim dolabına yerleştirilmiş ve düzenli olarak sulama yapılmıştır.

Denemeden elde edilen sonuçların istatistiki analizleri her çeşit için ayrı olacak şekilde MINITAB (version 14) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygulama ve tohum partileri arasındaki farklar %5 düzeyinde LSD testi (Fisher's least significant difference)

uygulanarak belirlenmiştir. Fide çıkış oranları ve laboratuvar testleri arasındaki ilişki korelasyon katsayıları hesaplanarak değerlendirilmiştir.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Canlılık performansının doğru olarak tespiti ve özellikle tohum partileri arasındaki farkları da ayırt etmeye yarayan uygun yöntemlerin belirlenmesi tohum kalite kontrol programları ve hasat sonrasında karşılaşılan ticari problemlerin azaltılması açısından oldukça önemlidir. Bu çalışma, tohum canlılığını hızlı ve doğru olarak tahmin etme amacıyla kullanılan tetrazolium yönteminin biber tohumlarında canlılık oranlarının belirlenmesinde doğruluk oranını arttırmak ve yöntemin ayrıntılarını netleştirmek açısından yararlı bilgiler içermektedir.

Türkiye’de yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan çeşitlerden birisi olan ‘Kandil Dolma’ biber çeşidinin canlılık ve çimlenme sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde en yüksek çimlenme (%91.30) ve çıkış oranı (%94.00) 2 no’lu partiden elde edilmiştir. Canlılık oranlarına bakıldığında; tohumların 40°C’de 3 saat bekletilmesi sonucu alınan değerlerin diğer uygulamalara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Tohum partileri arasında çimlenme ve çıkış oranları bakımından 2’olu partinin 1 ve 3’olu partilere göre daha yüksek değerler verdiği gözlenmiştir. 40°C’de 2 ve 3 saat’lik uygulamalarda da yine 2’olu parti yüksek değerler vermiş ancak diğer sıcaklık uygulamalarında ise sıcaklık ve süreye bağlı olarak farklar ortaya çıkmıştır.

Çizelge 1. ‘Kandil Dolma’ biber çeşidinin tetrazolium testlerine ait canlılık oranları, çimlenme ve çıkış oranları.

Parti	Tetrazolium Uygulamaları						Çimlenme Oranı, (%)	Çıkış Oranı (%)
	35 °C		40 °C		45 °C			
	2 saat	3 saat	2 saat	3 saat	2 saat	3 saat		
1	75.00 a*	75.75 b	86.70 b	92.80 b	77.75 b	66.70 ab	80.65 b	83.30 a
2	70.00 a	92.30 a	94.50 a	99.50 a	66.65 c	71.40 a	91.30 a	94.00 a
3	71.40 a	92.70 a	90.90 ab	92.70 b	88.85 a	60.00 b	83.30 b	84.00 a
Lsd	11.09	9.20	5.20	6.58	5.00	8.50	6.91	10.96

* Ortalamalar p<0.05 düzeyinde karşılaştırılmıştır.

‘Yalova Yağlık-28’ biber çeşidine ait sonuçlar incelendiğinde; 40°C ve 3 saat’lik uygulama en iyi sonucu vermiştir. Bu değerler, çimlenme ve çıkış oranları ile de paralellik göstermiştir. Tüm sıcaklıklarda 2 saatlik uygulamalara tabi tutulan tohumlar, 3 saatlik uygulamalara tabi tutulandan daha düşük canlılık oranlarına sahip olmuştur.

Çizelge 2. ‘Yalova Yağlık-28’ biber çeşidinin tetrazolium testlerine ait canlılık oranları, çimlenme ve çıkış oranları

Parti	Tetrazolium Uygulamaları						Çimlenme Oram (%)	Çıkış Oram (%)
	35 °C		40 °C		45 °C			
	2 saat	3 saat	2 saat	3 saat	2 saat	3 saat		
1	70.80 b*	90.90 a	81.00 a	93.60 a	85.70 a	91.65 a	84.30 a	90.00 a
2	76.15 a	71.40 c	73.30 b	96.90 a	60.00 b	60.00 c	89.30 a	96.60 a
3	77.75 a	83.30 b	72.50 b	90.00 a	58.65 b	75.00 b	84.00 a	86.00 a
Lsd	4.59	5.40	7.47	10.59	7.52	8.16	6.68	7.14

* Ortalamalar p<0.05 düzeyinde karşılaştırılmıştır.

Tohum partileri arasında 2 No’lu parti çimlenme oranı, çıkış oranı ve 40°C ve 3 saat’lik uygulamalarda en iyi sonuçları vermiştir. En düşük değerler ise 3 No’lu partiden alınmıştır. Domates tohumlarında çalışan Santos ve ark. (2007) domatesde tetrazolium yöntemini kullanmışlar ve en iyi sonuçların biberde olduğu gibi 40°C’de 3 saatlik uygulamadan alındığını bildirmişlerdir. Farklı bir çalışmada kullanılan karpuzda ise tohumları %0,075 oranındaki tetrazolium içinde 30°C’de 4 saat bekletmenin canlılık tespiti için yeterli olduğu bildirilmiştir (Nery ve ark., 2007). Mısırla ilgili yapılan bir çalışmada ise 40°C sıcaklığın 35°C sıcaklığa göre daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Chamma ve Novembre 2007).

Yapılan çalışmada kriterler arasındaki ilişkiyi netleştirmek amacıyla Çizelge 3’de verilen korelasyon değerleri de hesaplanmıştır. Her iki çeşitte de bütün tetrazolium uygulamaları arasında 40°C ve 3 saatlik uygulama %1 düzeyinde önemli çıkarken, yine 40°C de 2 saatlik uygulama sadece ‘Kandil Dolma’ çeşidinde %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çimlenme oranları ile çıkış oranları arasında da hem ‘Yalova Yağlık-28’ hem de ‘Kandil Dolma’ çeşidinde %5 oranında önemli olan korelasyon görülmektedir. Ayrıca *r* değerleri incelendiğinde; 40°C ve 3 saatlik uygulamaya ait *r* değerlerinin diğer uygulamalara ait değerlerden daha yüksek olduğu dolayısıyla bu uygulamanın fide çıkış oranını daha yüksek oranda tahmin edebileceği sonucuna varılabilir. 35°C’de 2 ve 3 saat tutularak yapılan uygulamaların fide çıkış oranı ile arasında bir korelasyon bulunamamıştır.

Çizelge 3. ‘Kandil Dolma’ ve ‘Yalova Yağlık-28’ ve biber çeşitleri tohum partilerinin çıkış oranı ile tetrazolium uygulamaları ve çimlenme oranları arasındaki korelasyon (*r*)

Parti	Tetrazolium Uygulamaları						Çimlenme Oram (%)
	35 °C		40 °C		45 °C		
	2 saat	3 saat	2 saat	3 saat	2 saat	3 saat	
Kandil Dolma	-0.754	0.270	0.912*	0.983**	-0.837	0.777*	0.983*
Yalova Yağlık-28	-0.082	-0.711	-0.662	0.986**	-0.097	-0.501	0.945*

** P< 0.05 düzeyinde önemlidir.

* P< 0.01 düzeyinde önemlidir.

Yapılan çalışma sonucunda, biber tohum partileri arasındaki farkı belirleyebilmek ve kalite kontrol programlarında kullanılacak hızlı ve doğru bir metod olan tetrazolium ile tohum canlılığı tespiti yönteminin ideal olarak uygulanabilmesi için en iyi uygulamanın 40°C'de 3 saat tetrazolium çözeltisinde bekletme olduğu sonucu elde edilmiştir.

Kaynaklar

- AOSA, 2000. Tetrazolium Handbook. Association of Official Seed Analysts First Revision. Contribution No: 29.
- Bewley, J.D., 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, Cilt: 5, 1055-1066. *Science*. 22: 637-640.
- Chamma, H. M. C. P. and A.D. L. C Novembre, 2007. Tetrazolium test for corn seeds: Preconditioning and staining periods. *Revista Brasileira de Sementes* 29(2): 125-129.
- Copeland, L.O. and M.B. McDonald, 1995. *Principle of Seed Science and Technology*. (3rd ed.) Chapman and Hall, New York, 428p.
- Eser, B., H. İlbi. Abay ve S. Kavak, 2005. Tohum Kalitesi Açısından Tohum Gücünün (vigor) Önemi ve Türkiye'deki Uygulamalar. *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi Bildiri Kitabı*. s: 67-72, Adana.
- Hampton, J.G., 2002. What is seed quality? *Seed Science and Technology*. 30: 1-10.
- ISTA, 2004. *International Rules for Seed Testing Edition*. Zurich, Switzerland.
- Nery M.C., M. L. M. Carvalho and L.M. Oliveira, 2007. Tetrazolium test in the evaluation of watermelon physiological seed quality. *Semina-Ciencias Agrarias* 28 (3): 365-372.
- Santos, M.A.O., A.D.L.C. Novembre, and J. Marcos-Filho, 2007. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. *Seed Science and Technology*, 35, 213-223.