



Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences

Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi

'Narince' (*Vitis Vinifera L.*) Üzüm Çeşidinde Kolhisin Uygulamalarının Morfolojik ve Sitolojik Etkileri

Zeki KARA*, Ali SABIR, Kevser YAZAR, Osman DOĞAN, Abdulrahman Shakir Shakor ALBANAA

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

MAKALE BİLGİSİ

Makale geçmişi:

Geliş tarihi: 28.07.2017

Kabul tarihi: 15.11.2017

Keywords:

Narince

İslah

Ploidi

Mutasyon

Flow sitometri

ÖZET

Türkiye sofralık üzüm üretimi, tüketimi ve uluslararası pazarda önemli ülkeler arasında yer almaktadır. Sofralık üzüm pazarı artan bir trend içerisinde olup bu alandaki rekabette geleneksel çeşitlerin geliştirilmesini ve yeni üzüm çeşitleri ıslahını gerekli kılmaktadır. Bu çalışmada 'Narince' üzüm (*Vitis vinifera L.*) çeşidine kolhisin uygulamalarıyla poliploidinin teşviki *in vivo* koşullarda denenmiştir. Bu çeşidin tek gözlü kışlık gözleri serada 1:1 torf: perlit ortamında köklendirilmiş, gelişen sürgünlerin 7-10 cm'e ulaştığı dönemde 4 farklı kolhisin dozu (%0, %0.25, %0,5, %0,75, %1) %5'lik gliserinle birlikte iki farklı sürede (48 ve 96 saat) sürgün ucuna uygulanmıştır. Uygulamanın ardından sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılarak ve açık bırakılarak etkiler sürgün ucu canlılık oranı, sürgün uzunluğu, stoma boyutları (uzunluk, genişlik, alan ve yoğunluk) ve FC analizleriyle değerlendirilmiştir. Morfolojik özellikler bakımından bazı değişimler tespit edilmekle birlikte FC analizlerine göre ploidi seviyesinde önemli bir değişim belirlenmemiştir. 'Narince' üzüm çeşidinde kolhisinle polyploidi teşvikine yönelik tam mutason frekansının bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre 1/120'den daha düşüktür. Tespit edilen morfolojik farklılıklar ve Flow sitometri (FC) analizlerindeki varyasyon nedeniyle materyal, takip edilmek için araziye aktarılarak izlenmeye alınmıştır.

Morphological and Cytological Effects of Colchicine Treatments on 'Narince' (*Vitis Vinifera L.*) Grape Variety

ARTICLE INFO

Article history:

Received date: 28.07.2017

Accepted date: 15.11.2017

Keywords:

Narince

Breeding

Ploidy

Mutation

Flow Cytometry

ABSTRACT

Turkey is among the important countries in table grape production, consumption and international marketer. The table grape market is in an increasing trend and the development of the traditional varieties in this area and the breeding of new grape varieties are necessity. In this project stimulation of polyploidy with colchicine applications in 'Narince' grape (*Vitis vinifera L.*) variety has been tested in vivo conditions. Single node cuttings were rooted in greenhouse 1: 1 peat: perlite media in greenhouse, 4 colchicine dosages (0%, 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1%) with glycerine 5% were applied by dropwise to the shoot tip with two different times (48 and 96 hours). After the application, some of the shoot tips were covered with aluminium foil and the other were left open, and the effects were assessed by the shoot tip viability rate, shoot length, stoma dimensions (length, width, area and density) and flow cytometry (FC) analysis. Although some changes in the morphological characteristics were observed, a significant change in the level of ploidy was not determined according to FC analysis. In 'Narince' grape variety, the exact frequency of colchicine-induced polyploidy induction is less than 1/120 of the findings obtained from this study. Due to the detected morphological differences and variation in FC analysis, the material transferring it the open area has been monitoring to follow up the future developments.

This manuscript has been produced from the master thesis project of Abdulrahman Shakir Shakor Albanaa is titled 'Morphological and Cytological Effects of Colchicine Treatments on 'Narince' (*Vitis Vinifera L.*) Grape Variety' supported by Selcuk University Scientific Research Projects Board Project number is 16201074.

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

1. Giriş

Asmanın anavatanı Anadolu çevresi ve Mezopotamya Bölgesi olup bu alanda günümüzden 6000 yıl öncesine ait kalıntılar bulunmaktadır. Bağcılık buradan Güneybatı Asya ve Avrupa'ya Oradan da dünyanın diğer bölgelerine yayılmıştır (Kara, 2012).

Bu çalışmada Tokat yöresinde yaygın şaraplık, sıralık, sofralık ve yaprağı için üretilen 'Narince' üzüm çeşidi kullanılmıştır. Bu çeşidin ampelografik tanımı (Kara, 1990) tarafından yapılmış olup verimli, salkımları kanatlı-konik, iri, sık ve dolgun; taneleri beyaz renkli, tatlı, yuvarlak, orta irilikte, tane kabukları orta kalın, 2-3 çekirdekli (Kara ve Ağaoğlu, 1990). Tokat Yöresinde salamuralık yaprak ve üzüm üretiminin bir arada gerçekleştirildiği bağların yanı sıra yaprağı için üretim, bazı lokasyonlarda meyvenin önüne geçebilmektedir (Ağaoğlu ve ark., 1988). Bu çeşidinin göz verimliliği incelenmiş, 6. Gözün en verimli olduğu, 99R anacının 1.88 salkım/göz ile bu anaçta en yüksek salkım doğuş oranı verdiği bildirilmiştir (Kara ve Ağaoğlu, 1992).

Asma ıslahında amaç, verimi arttırmak, kaliteyi yükseltmek, asmanın genetik yapısını toplumun gereksinimlerini karşılayacak biçimde değiştirmek ve iyileştirmektir. Kolhisinin 1930'lu yıllarda keşfiyle beraber birçok bitki türünde elit tiplerin ve dolayısıyla genetik çeşitliliğin oluşturulmasında kullanılmaya başlanmıştır. Kolhisin, günümüzde kromozom katlaması için bitki ıslahçıları tarafından en yaygın kullanılan kimyasal maddelerden birisidir.

Yapay yollarla tetraploid bitki eldesi için sürgün uçlarına kolhisin uygulaması ve mikro aşılama yöntemleri kombinasyonu ya da embriyogenik kallusların kolhisin içeren ortamlarda kültüre alınarak rejenerasyon yöntemleriyle elde edilebilmektedir (Tachikawa ve ark., 1961; Barrett, 1974; Gmitter ve Ling, 1991; Aleza ve ark., 2009).

Bu çalışmada meyve kalite özelliklerinin üstünlüğünün yanı sıra orta ve geçit kuşağı iklimine adaptasyonunun mükemmelliği gibi nitelikleri ile ilgi çeken 'Narince' üzüm çeşidinden global pazarın daha çok talep ettiği iri taneli çeşit geliştirilebilmek için kimyasal mutagen uygulamalarıyla kromozom katlanması denemiştir. Bu maksatla tek göz çelikleri serada köklendirilerek gelişen sürgünlere farklı doz ve sürelerde kolhisin uygulanarak ploidi teşvikine etkileri morfolojik ve sitolojik değişimin takibiyle incelenmiştir.

2. Materyal ve Metod

Çalışma Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. Çalışmada, kolhisin ($C_{22}H_{25}O_6$) *Colchicum autumnale* L. köklerinden elde edilen alkaloid kimyasal mutagen olarak kullanılmıştır. Denemde kullanılan bitkisel materyal 'Narince' (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşidinin tek göz çelikleri cam serada, torf-perlit (1:1) karışımında köklendirilmiştir. Uygulamalar hızlı sürgün büyümesi döneminin başında

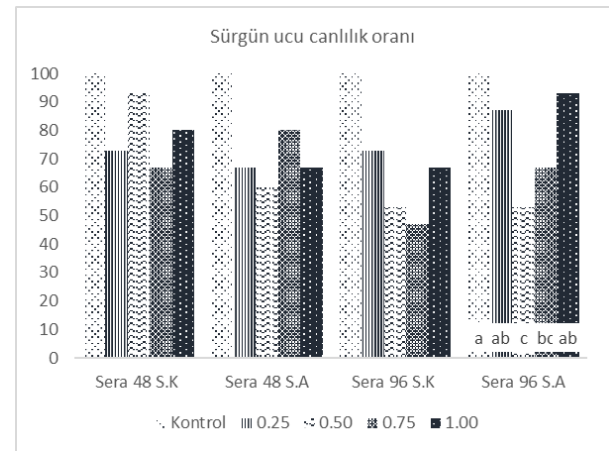
%0.25, %0.50, %0.75 ve %1'lik kolhisin + gliserin (%5) uygulaması 48 ve 96 saat süreyle uygulanmıştır. Uygulama sonrasında bir gurup bitki sürgün uçları alüminyum folyo ile kapatılmış, bir kısmı açık bırakılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak düzenlenmiş, her tekerrürde 5 bitki olmak üzere her uygulamada 15 adet köklü çelik kullanılmıştır. Kolhisinin morfolojik değişime etkileri sürgün ucu kuruma oranı ve sürgün büyümesine (uzunluk) etkileri incelenmiştir. Stoma boyutları (uzunluk, genişlik, alan ve yoğunluk) olgun yaprakların 3 ayrı bölgesinden tırnak cilası ile kalıba dökülen stoma örneklerinin boyutları binoküler (10 x 40 büyüteli) mikroskop altında belirlenmiştir. Ayrıca yapılan morfolojik tespitlerde önemli farklılık görülen 50 adet örneğin FC analizleri ve DNA miktarları tespit edilmiştir. 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 canlılığı

Kolhisinin sürgün ucuna uygulanması sonrasında açık bırakılanlarda önemli ölçüde kurumaya neden olmuştur ($p < 0.05$, Şekil 1). En yüksek sürgün ucu canlılık oranı %1'lik 96 saat uygulama sonrası açık (96sa) bırakılanlarda ve %0.50'lik 48 saat uygulama sonrası sürgün uçları kapatılan materyalde 93 ± 0.15 olarak saptanmıştır. Kolhisin doz ve uygulama sürelerinin canlılık oranına etkileri arasındaki interaksiyon negatif yönde önemli ($p < 0.05$) olup 48sk, 48sa, 96sk ve 96sa uygulamalarında sırasıyla $r = -0.53$, $r = -0.53$, $r = -0.70$ ve $r = -0.28$ olarak farklı düzeylerde.

Aynı konuda çalışan 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.

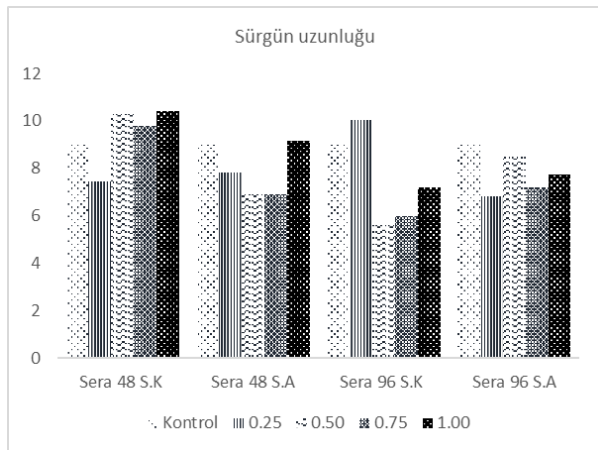


Şekil 1

Sürgün ucu canlılığına etkiler

3.2. Sürgün uzunluğu

Uygulamaların sürgün uzunluğuna etkileri önemli değildir. Kontrolün sürgün boyu (9.07 ± 3.05 cm), %0.25'lik 48sk'dan en uzun sürgün (10.42 ± 3.98 cm) alınırken, en düşük değer %0.25'lik 96 saat süreli uygulamasının ardından sürgün uçları kapatılan (96sk) materyalden alınmıştır (5.60 ± 0.94). Stabil olmayan değişim kolhisin doz artışı ile uygulama süresi arasındaki ilişkiye de yansımıştır. Kolhisin doz ve uygulama sürelerinin sürgün uzunluğuna etkileri arasındaki etkileşim 48sk'da pozitif ve diğerlerinde negatif yönde önemli ($p < 0.05$) olup 48sk, 48sa, 96sk ve 96sa uygulamalarında sırasıyla $r = 0.66$, $r = -0.1$, $r = -0.64$ ve $r = -0.39$ olarak belirlenmiştir.



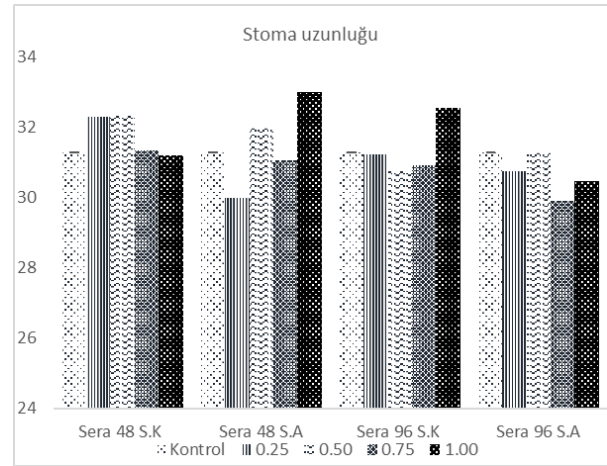
Şekil 2

Sürgün uzunluğuna etkileri

Yaptığımız çalışmada ploidi artışı tespit edilemeden elde edilen değerlere benzer sonuçları bildiren Motosugi ve ark., (2002), köklendirme ortamına konulan tetraploid bitkilerin sürgünlerin diploidlere göre daha kısa olduğunu saptamıştır. 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 uygulama süresi artışıyla sürgün uzunluğunda azalma bildirmiştir.

3.3 Stoma uzunluğu

Yapılan kolhisin uygulamalarının stoma uzunluğuna etkileri önemli bulunmamıştır ($p < 0.05$, Şekil 3). Kontrolde stoma uzunluğu 31.28 ± 1.27 μm değeri göstermişken en yüksek stoma uzunluğu %1 48sk dozunda 32.99 ± 1.79 tespit edilirken en düşük değer ise %0.75 kolhisin çözeltisinde 96sa uygulaması ile 29.89 ± 1.16 olarak saptanmıştır.



Şekil 3

Stoma uzunluğuna etkileri

Uygulamalar ve kolhisin doz artışı arasındaki korelasyon önemli ($p < 0.05$) olup 48sk, 48sa, 96sk ve 96sa uygulamalarında sırasıyla $r = -0.4$, $r = 0.64$, $r = 0.07$ ve $r = -0.66$ olarak hesaplanmıştır.

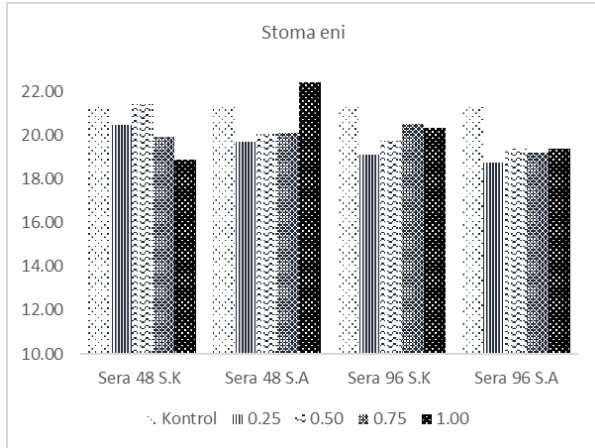
Önceki çalışmalarda, diploid ve tetraploid bitkilerin yaprak stoma parametreleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiş (Yang ve ark., 2006; Jun ve ark., 2009; Xie ve ark., 2015); tetraploid 'Neo Muskat' yapraklarının morfolojik yapısının diploid orijinlerinden farklı olduğu, stoma hücre iriliği ve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

3.4 Stoma genişliği

Yapılan uygulamaların stoma genişliğine etkileri önemli bulunmamıştır ($p < 0.05$, Şekil 4). Kontrolün stoma genişliği 21.28 ± 4.25 μm olurken en geniş stoma 22.41 ± 1.45 değeri ile %1'lik kolhisinin 48 saat süre ve uygulamadan sonra sürgün uçları açık bırakılanlarda belirlenmiştir. En düşük değer ise %0.25 kolhisin solüsyonunda 96sa olan materyalde 18.73 ± 1.34 değeri ile tespit edilmiştir.

Uygulama süre ve kolhisin doz artışının stoma genişliğine etkileri arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli oranda pozitif yönde, diğerlerinde ise negatif yönde önemli ($p < 0.05$) olmakla birlikte sırasıyla $r = -0.81$, $r = 0.38$, $r = -0.02$ ve $r = -0.54$ olup uygulamalara göre oldukça farklı düzeydedir.

Bazı araştırmacıların yaptığı çalışmalarda tetraploid yaprakların diploidlere göre daha geniş stomalara sahip olduğu belirlenmiştir (Yamane ve Kurihara, 1980; Motosugi ve ark., 2002; Jun ve ark., 2009).



Şekil 4

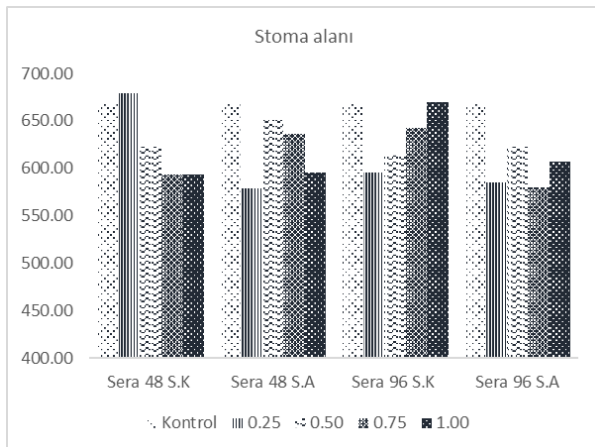
Stoma genişliğine etkiler

3.5 Stoma alanı

Kolhisin uygulamalarının stoma alanına etkileri önemli farklılık göstermemiştir ($p < 0.05$, Şekil 5). Kontrolde stoma alanı $667.65 \pm 56.15 \mu\text{m}^2$ 'dir. %0.25'lik kolhisinin 48sk'da $679.15 \pm 55.07 \mu\text{m}^2$ ile en yüksek değer göstermişken en düşük değer %0.75 kolhisin solüsyonunda 96sa uygulamasında 579.35 ± 21.35 değeri olduğu belirlenmiştir.

Uygulamalar ve kolhisin konsantrasyonları arasındaki ilişki 96sk'da pozitif diğerlerinde negatif ve önemli ($p < 0.05$) olup 48sk, 48sa, 96sk ve 96sa sırasıyla $r = -0.92$, $r = -0.37$, $r = 0.07$ ve $r = -0.56$ olarak hesaplanmıştır.

Önceki çalışmalarda kolhisin doz artışına bağlı stoma alanında da artış bildirilmiştir (Yang ve ark., 2006; Chen ve ark., 2014; Sinski ve ark., 2014; Xie ve ark., 2015).



Şekil 5

Stoma alanına etkiler

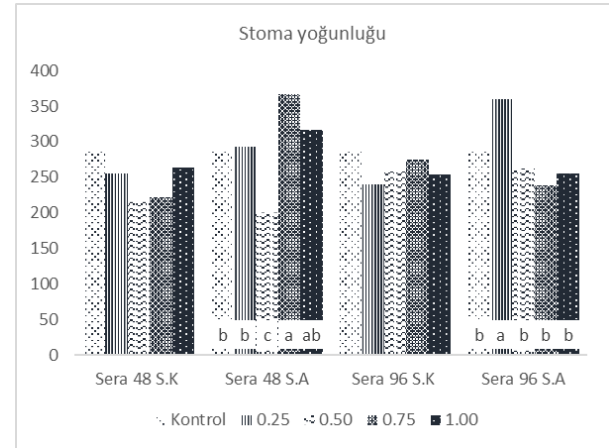
3.6 Stoma yoğunluğu

Kolhisin uygulamaları stoma sayısında 48sa ve 96sa uygulamalarında önemli farklılığa neden olmuştur ($p < 0.05$, Şekil 6). En yüksek stoma sayısı %0.75'lik

48sa'da (367.02 ± 2.44 adet mm^{-2}), en düşük stoma sayısı %0.5'lik 48sa'dadır ($200.55 \pm 5.89 \text{mm}^{-2}$).

Uygulamalar ve kolhisin konsantrasyonları arasındaki ilişki 48sa'da pozitif, diğerlerinde negatif ve önemli ($p < 0.05$) olup 48sk, 48sa, 96sk ve 96sa'da sırasıyla $r = -0.42$, $r = 0.22$, $r = -0.1$ ve $r = -0.6$ olarak belirlenmiştir.

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



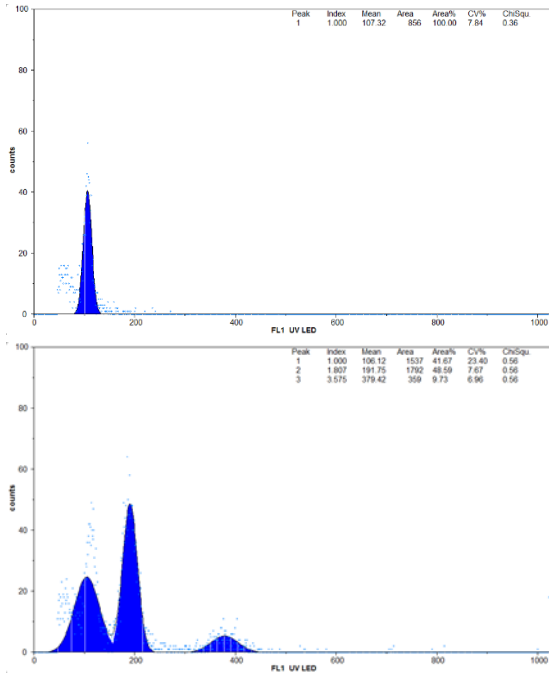
Şekil 6

Stoma yoğunluğuna etkiler

3.7. Flow sitometri (FC)

Yaptığımız FC analizleri sonucunda diploid 'Narince' üzüm çeşidinin piki 100 civarında oluşurken kontrol bitkinin (domates) piki 200 civarında oluşmuştur (Şekil 7). FC analizlerine göre örneklerimizin tamamının piki 100 civarında olduğundan dolayı ploidi seviyesinde bir değişiklik olmadığı 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 oktoploid 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 Narince (üstteki şekil) ve kontrol (domates) (alttaki şekil en uzun pik) bitkisi + kolhisin uygulanan Narince çeşidinin (alttaki şekil ikinci uzun pik) FC sonuçları

4. Sonuç

Poliploidi son yüzyılda yaygın bir şekilde çalışılan ve bitkilerdeki çeşitlilik ve adaptasyonun tartışılmaz önemli mekanizmalarından birisidir. Doğal popülasyonlarda gözlenen poliploidinin bazı sonuçları bitki ıslahında yapay poliploidi uygulanmalarında bir araç olarak ıslahçıların dikkatini çekmiş ve çeşitli bitki türlerinde teşviki için farklı protokoller geliştirilmiştir (Sattler ve ark., 2016).

Kromozom sayısı ve FC, poliploidi analizi için doğru bir yöntem olduğu, 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).

Son zamanlarda teşvikle elde edilen poliploid formların gerekli piyasa özelliklerine henüz ulaşamadığı, ancak ıslah çalışmalarında uygulama için değerli germplazm kaynaklarını oluşturdukları rapor edilmiştir (Sattler ve ark., 2016). Bu çalışmada kullanılan kolhisin doz ve süreleri önceki çalışmalarda (Das ve Mukherjee, 1967; Rassouli ve Mahmoodzadeh, 2005; Rasuli ve Sotudeh, 2007; Chen ve ark., 2014) kullanılarak kromozom katlamada etkili olduğu bildirilmesine rağmen tarafımızdan yapılan uygulamalarda tam poliploid bitki elde edilememiştir. Bununla birlikte kolhisin-

le muamele edilmiş materyalde tespit edilen önemli morfolojik farklılıklar ve FC analizlerindeki sınırlı varyasyon nedeniyle materyalin bundan sonraki gelişme süreci arazi şartlarında takibe alınmıştır.

5. Kaynaklar

- Acanda Y, Prado MJ, González MV, 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.
- Ağaoğlu Y, Yazgan A, Kara K. (1988) Tokat yöresinde yaprak salamuracılığına yönelik asma yetiştiriciliği bir araştırma, *Türkiye II. Bağ. Sem*, 315-03.
- Aleza P, Juárez J, Ollitrault P, Navarro L. (2009) Production of tetraploid plants of non apomictic citrus genotypes, *Plant cell reports*, 28(12): 1837-1846.
- Allum J, Bringloe D, 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.
- Barrett H. (1974) Colchicine-induced polyploidy in citrus, *Botanical Gazette* 135(1): 29-41.
- Bessho H, Miyake M, Kondo M. (1999) Grape breeding in Yamanashi, Japan-present and future, *Eucarpia symposium on Fruit Breeding and Genetics* 538: 493-496.
- Bilir E. (2010) Possibilities to generate mutation and polyploidy using Co60 and colchicine in Trakya ilkeren and flame seedless grape cultivars.
- Chauvin J, Label A, 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, Dong Z. (2014) Generation of a new polyploid grape cultivar by using hybrid seeds induced with colchicine, *Acta horticulturae* 1046: 251-258
- Das P, Mukherjee S. (1967) Induction of autotetraploidy in grapes, *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding (The)* 27(1): 107-116.
- Dhooghe E, Van Laere K, Eeckhaut T, Leus L, Van Huylenbroeck J. (2011) Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 104(3): 359-373.
- Eeckhaut TG, Werbrouck SP, Leus LW, Van Bockstaele EJ Debergh PC. (2004) Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78(3): 241-246.
- Gmitter FG, Ling X. (1991) Embryogenesis in vitro and nonchimeric tetraploid plant recovery from

- undeveloped citrus ovules treated with colchicine, *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116(2): 317-321.
- Jun C, Tang XP, Ma XH, Zhao QF, Liang FQ. (2009) Identification of the ploidy structure of bud sport of Red Globe grape cultivar, *Journal of Fruit Science* 26(5): 619-622.
- Kara Z,. (1990) Tokat yöresinde yetiştirilen üzüm çeşitlerinin ampelografik özelliklerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar (Doktora tezi). AÜ, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
- Kara Z, Ağaoğlu Y. (1992) Farklı Amerikan asma anaçlarına aşılınmış Narince üzüm çeşidinde boğumların pozisyonları ve çaplarına göre verim potansiyelinin değişimi üzerinde bir araştırma, *Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 2*, 587-590.
- Kara Z. (2012) Genel Bağcılık, *Mevlana Kalkınma Ajansı Yayını*, 149s.
- Motosugi H, Okudo K, Kataoka D, Naruo T. (2002) Comparison of growth characteristics between diploid and colchicine-induced tetraploid grape rootstocks, *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science* 71(3): 335-341.
- Motosugi H, Yamamoto Y, Naruo T, Yamaguchi D. (2007) Growth and fruit quality of 'Kyoho' grapevines grafted on autotetraploid rootstocks, *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 76(4): 271-278.
- Noh JH, Park KS, Yun HK, Do GR, Hur YY, Kim SH, Lee HC, Ryou 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.
- Prado MJ, Rodriguez E, Rey L, González MV, Santos C, Rey M. (2010) Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis-regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 103(1): 49-59.
- Rassoulli V, 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.
- Rasuli VOL, Sotudeh R. (2007) Autotetraploid induction in grape (*Vitis vinifera* var. Bidaneh) by using colchicine. In *AGRIS Seed and Plant Improvement Institute*, 19 p.
- 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.
- Tachikawa T, Tanaka Y, Hara S. (1961) Investigations on the breeding of Citrus trees. I. Study on the breeding of triploid Citrus varieties, *Bulletin of the Shizuoka Prefectural Citrus Experiment Station* 4: 33-44.
- 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.
- Xie X, Agüero CB, Wang Y, Walker MA. (2015) In vitro induction of tetraploids in *Vitis* × *Muscadinia* hybrids, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 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.
- 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 (PCTOC)* 101(1): 41-47.