

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra BOZ

**1-MCP (Metilsiklopropen) UYGULANMIŞ SPREY KARANFİLLERDE
MORFOLOJİK - FİZYOLOJİK GÖZLEMLER ve ETR1 - CTR1 GEN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**1-MCP (Metilsiklopropen) UYGULANMIŞ SPREY KARANFİLLERDE
MORFOLOJİK - FİZYOLOJİK GÖZLEMLER ve ETR1 - CTR1 GEN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Esra BOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 07/10/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

.....
Doç. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ
1. DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Ömür DÜNDAR
2. DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Selim ÇETİNER
ÜYE

.....
Prof. Dr. Zerrin SÖĞÜT
ÜYE

.....
Doç. Dr. Hatice K. GÜVENMEZ
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdür**

Bu Çalışma Ç.Ü.Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2009BAP13

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**1-MCP (Metilsiklopropen) UYGULANMIŞ SPREY KARANFİLLERDE
MORFOLOJİK - FİZYOLOJİK GÖZLEMLER ve ETR1 - CTR1 GEN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Esra BOZ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

1. Danışman : Doç.Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
2. Danışman : Prof.Dr. Ömür DÜNDAR
Yıl : 2010, Sayfa : 77
Jüri : Doç.Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
Prof.Dr. Ömür DÜNDAR
Prof.Dr. Selim ÇETİNER
Prof.Dr. Zerrin SÖĞÜT
Doç.Dr. Hatice K. GÜVENMEZ

Bu tez çalışması karanfil bitkilerinde, 1-MCP'nin raf ömrü üzerine etki mekanizmasını araştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla hasat sonrası ticari karanfil çeşitleri 'Amelia' ve 'Natila' karanfil örneklerine 20 °C sıcaklıkta, 24 saat süre boyunca 500 nl/l, 1000 nl/l dozları ve kontrol olmak üzere 3 farklı 1-MCP uygulaması yapılmıştır. Uygulama sonrasında karanfiller 3 hafta süresince soğuk hava deposunda muhafaza edilmiştir. Bu süre boyunca 12. saat, 24. saat, 3.gün, 6.gün, 10.gün, 15.gün ve 21.günlerde karanfil bitkilerinden petal örnekleri alınarak morfolojik ve fizyolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Muhafaza sırasında belirtilen sürelerde alınan örneklerde 1-MCP uygulamaları sonucunda, etilen biyosentezinden sorumlu olan CTR1 ve ETR1 genlerinin ifadesindeki farklılıkları tespit etmek amacıyla Real-Time PCR analizleri yapılmıştır. Bu sonuçlara dayalı olarak tüm uygulamalarda 21 günlük muhafaza sonrasında örneklerin halen canlılıklarını korudukları gözlenmiş ve örneklerde etilen üretimine rastlanmamıştır. Real Time PCR analizleri sonucunda CTR1 geninin ETR1 genine göre daha yüksek düzeyde ifade edildiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: 1-MCP, CTR1, ETR1, Karanfil, Real Time PCR

ABSTRACT

MSc. THESIS

<p>MORFOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL OBSERVATION ON 1-MCP SPREYED CARNATIONS AND RESEARCH ON THE ACTIVITY OF ETR1 - CTR1 GENES</p>
--

Esra BOZ

**CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

1. Supervisor : Assoc. Prof. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
2. Supervisor : Prof. Ömür DÜNDAR
Year : 2010, Page : 77
Jury : Assoc. Prof. N. Yeşim YALÇIN MENDİ
Prof. Ömür DÜNDAR
Prof. Selim ÇETİNER
Prof. Zerrin SÖĞÜT
Assoc. Prof. Hatice K.GÜVENMEZ

This study was conducted to determine the effect of 1-MCP mechanism on shelf life and morphological characteristics of carnations (*Dianthus caryophyllus*). Three different 1 MCP (500 nl/l, 1000 nl/l doses and control) doses were applied for 24 hours at 20°C on two commercial carnation species, 'Amelia' and 'Natila' after harvesting. Carnations were stored at 4°C for 21 days after applications. During this storage time at 12th hours, 24th hours, 3rd day, 6th day, 10th day, 15th day and 21st day petal samples were obtained and morphological plant characteristics were determined and compared against each other. Real-Time PCR analysis were carried out to determine expression differences of CTR1 and ETR1 genes responsible from ethylene biosynthesis during storage. The results showed that, petal samples were still remain fresh and there was no ethylene expression in petal samples after 21 days of storage. CTR1 gene expression was more than ETR1 gene expression according to Real Time PCR analysis results.

Keywords: 1-MCP, carnation, CTR1, ETR1, Real Time PCR

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca tezimin planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ'ye sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Muhafaza çalışmalarım sırasında katkılarından dolayı ve tez çalışması boyunca her türlü desteğinden ötürü ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ömür DÜNDAR'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında öneri ve dileklerinden yararlandığım değerli hocam Doç. Dr. Yıldız AKA-KAÇAR'a teşekkürü borç bilirim.

Adana Veterinerlik Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde çalışan Biyolog Murat ÖZMEN'e tezimin moleküler çalışmaları sırasında yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Bitki materyallerimin sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Yaltır A.Ş.'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Moleküler Biyoteknoloji ve Bitki Biyoteknolojisi laboratuvar arkadaşlarıma, Biyolog Hatice DEMİRCİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak yaşamım boyunca her zaman yanımda olan değerli aileme, özellikle eşim Altan SEVDİNLİ'ye çalışmam boyunca gösterdikleri destek için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
KISALTMALAR.....	XII
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Karanfil İle İlgili Çalışmalar.....	7
2.2. Etilen Biyosentezi İle İlgili Çalışmalar.....	9
3. MATERYAL VE METOD.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Kullanılan Bitki Materyalinin Özellikleri.....	13
3.1.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitki Çeşitleri	14
3.2. Metod	14
3.2.1. Bitkilerin Hazırlanması.....	14
3.2.2. Çiçek Örneklerinin Alınması.....	15
3.2.3. Karanfil Çeşitlerine 1-MCP Uygulanması.....	17
3.2.4. Fiziksel Analizler.....	21
3.2.4.1. Oransal Taze Ağırlık	21
3.2.4.2. Vazo Suyu Alınımı	20
3.2.4.3. Çiçek Yaprak Rengi	20
3.2.4.4. Çiçek Taç Yaprak Rengi	21
3.2.4.5. Çiçek Çanak Yaprak Rengi	21
3.2.4.6. Solunum Hızı	22
3.2.4.7. Etilen Üretimi.....	22
3.2.4.8. Koku ve Görsel Kalite	23
3.2.4.9. Kumpas İle Ölçüm	23

3.2.5. İstatistiksel Analizler.....	23
3.2.5. Moleküler Çalışmalar	24
3.2.6.1. RNA İzolasyonu	24
3.2.6.2. Total RNA İzolasyon Aşamaları	25
3.2.6.3. RNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi	26
3.2.6.4. cDNA (Komplementer DNA) Sentezi	27
3.2.6.5. Real Time PCR Reaksiyonu.....	28
3.2.6.6. Real Time PCR’da Kullanılan Örnekler	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Fizyolojik Çalışmalar	31
4.1.1. Oransal Taze Ağırlık Miktarındaki Değişimler	31
4.1.2. Vazo Suyu Alımındaki Değişimler	33
4.1.3. Çiçek Yaprak Rengindeki Değişimler	35
4.1.4. Çiçek Taç Yaprak Rengindeki Değişimler	37
4.1.5. Çiçek Çanak Yaprak Rengindeki Değişimler	38
4.1.6. Solunum Hızındaki Değişimler	40
4.1.7. Etilen Üretimindeki Değişimler	43
4.1.8. Koku ve Görsel Kalitedeki Değişimler	43
4.1.9. Vazo Ömründe Koku ve Görsel Kalitedeki Değişimler	48
4.1.10. Kumpas ile Yapılan Ölçümlerde Gözlenen Değişimler	49
4.2. Moleküler Çalışmalar	57
4.2.1. Real Time PCR Analizi Sonucunda Elde Edilen Veriler	57
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	69
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Real-Time PCR’da kullanılan primer dizileri	29
Çizelge 3.2. Real Time PCR karışımı için kullanılan kimyasallar.....	29
Çizelge 3.3. Real Time PCR için döngü parametresi	30
Çizelge 4.1. <i>Dianthus caryophyllus</i> ‘Amelia’ da yaprak rengi değişim sonuçları ...	36
Çizelge 4.2. <i>Dianthus caryophyllus</i> ‘Natila’ da yaprak rengi değişim sonuçları	36
Çizelge 4.3. <i>Dianthus caryophyllus</i> ‘Amelia’ da taç yaprak rengi değişim sonuçları	37
Çizelge 4.4. <i>Dianthus caryophyllus</i> ‘Natila’ da taç yaprak rengi değişim sonuçları.....	38
Çizelge 4.5. <i>Dianthus caryophyllus</i> ‘Amelia’ da çanak yaprak rengi değişim sonuçları	39
Çizelge 4.6. <i>Dianthus caryophyllus</i> ‘Natila’ da çanak yaprak rengi değişim sonuçları	40
Çizelge 4.7. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (%).....	41
Çizelge 4.8. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (%).....	42
Çizelge 4.9. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan görsel kalite değişimleri	44
Çizelge 4.10. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan koku değişimleri.....	44
Çizelge 4.11. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan görsel kalite değişimleri.	46

Çizelge 4.12. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan koku değişimleri.....	46
Çizelge 4.13. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da vazo ömründe görsel kalite değişimi	48
Çizelge 4.14. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da vazo ömründe koku değişimi.....	48
Çizelge 4.15. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da vazo ömründe görsel kalite değişimi	49
Çizelge 4.16. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da vazo ömründe koku değişimi	49
Çizelge 4.17. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da 12. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	51
Çizelge 4.18. <i>Dianthus caryophyllus</i> L.'in sprej 'Amelia' çeşidinde 24. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	51
Çizelge 4.19. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da 3. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	51
Çizelge 4.20. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da 6. Gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	52
Çizelge 4.21. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da 10. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	52
Çizelge 4.22. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da 15. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	52
Çizelge 4.23. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da 21. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları.....	53
Çizelge 4.24. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 12. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	54
Çizelge 4.25. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 24. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	55
Çizelge 4.26. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 3. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	55

Çizelge 4.27. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 6. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	55
Çizelge 4.28. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 10. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	56
Çizelge 4.29. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 15. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	56
Çizelge 4.30. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da 21. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları	56
Çizelge 4.31. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 geninin miktarı	59
Çizelge 4.32. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu ETR1 geninin miktarı	61
Çizelge 4.33. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 geninin miktarı	63
Çizelge 4.34. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu ETR1 geninin miktarı	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Karanfillerin serada görünümü	13
Şekil 3.2. Şekil 3.2. A) Sera Koşullarında <i>Dianthus caryophyllus</i> L. 'Amelia', B) 'Natila' Çeşitlerinin Görünümü.....	14
Şekil 3.3. Karanfillerin hasattan sonraki görünümü.....	15
Şekil 3.4. Karanfil çiçeklerinin gruplara ayrılması	16
Şekil 3.5. Kesme çiçeklerin gruplanması	17
Şekil 3.6. Plastik sistem içerisinde karanfile 1-MCP uygulanması	18
Şekil 3.7. Bitkilerin soğuk hava deposunda muhafazası	18
Şekil 3.8. Karanfillerde yaprakta renk okuma.....	20
Şekil 3.9. Karanfillerde çanak yaprakta renk okuma	21
Şekil 3.10. Karanfillerin solunum hızı ve etilen ölçümleri	22
Şekil 3.11. Kumpas ile A) Petal boy B) Petal en C) Gonca boy D) Gonca en E) Çiçek açılımı ölçümü	24
Şekil 3.12. A) Yaprakların sıvı azotta öğütülmesi B) Tüplerin üzerine solüsyonların eklenmesi C) Öğütülmüş bitkisel materyalin 56 °C 'de bekletilmesi D) Santrifüj işlemi.....	26
Şekil 3.13. A) Kimyasalların buz üzerinde tutulması B) Karışımların hazırlanması.....	27
Şekil 3.14. A) Real Time PCR karışımının hazırlanması B) Santrifüj yapılması C) Real Time PCR	28
Şekil 4.1. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da muhafaza sırasında oransal taze ağırlık (%) değişimleri.....	32
Şekil 4.2. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> ' Natila' da muhafaza sırasında oransal taze ağırlık (%) değişimler.....	33
Şekil 4.3. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da muhafaza süresi içinde solüsyon alımı (ml/gün.g taze ağırlık) Değişimler.....	34

Şekil 4.4. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da muhafaza süresi içinde solüsyon alımı (ml/gün.g taze ağırlık) değişimleri	35
Şekil 4.5. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (CO ₂ miktarı ml/kg.h) değişimleri	41
Şekil 4.6. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (CO ₂ miktarı ml/kg.h) değişimleri	42
Şekil 4.7. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Amelia' da A-B-C)12.saate, D-E-F) 24.saate, G-H-I) 3.gün, J-K-L) 6.gün, M-N-O) 10.gün, P-R-S) 15.gün, T-U-V) 21.gün sonunda saptanan görsel kalite değişimleri.....	45
Şekil 4.8. <i>Dianthus caryophyllus</i> 'Natila' da A-B-C)12.saate, D-E-F) 24.saate, G-H-I) 3.gün, J-K-L) 6.gün, M-N-O) 10.gün, P-R-S) 15.gün, T-U-V) 21.gün sonunda saptanan görsel kalite değişimleri.....	47

KISALTMALAR

ACC : 1-aminocyclopropane- 1-carboxylic acid

cDNA : Complementary deoxyribonucleic acid

CTR 1 : Constitutive triple response 1

CTAB : Cetyltrimethylammoniumbromide

DNA : deoksiribonükleik asit

ETR 1 : Ethylene triple response 1

kop : kopya sayısı

mM : Milimolar

nl : Nanolitre

PCR : Polymerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)

ppb : Milyarda bir kısım

ppm : Milyonda bir kısım

STS : Gümüş tri sülfat

1-MCP : 1- Methylcyclopropene

μ l : Mikrolitre

EDTA : Etilendiamintetraasetik asit

RNA : Ribonükleik asit

Tm : Erime eğrisi

μ g : Mikrogram

1. GİRİŞ

Dünyanın bazı ülkelerinde ve Türkiye’de, bitkisel üretim arasında Süs Bitkileri önemli bir sektör olarak yer almaktadır. Pek çok ülkede ekonomiye katkılar sağlamaktadır. Gelişmiş ülkeler yanında gelişmekte olan bazı Afrika, Asya, ve Güney Amerika ülkeleri, uygun ekoloji ve ucuz iş gücü olanaklarını süs bitkileri üretimi için kullanarak önemli ölçüde ihracat geliri elde etmektedirler. Bazı ülkelerde süs bitkileri, özellikle kesme çiçekler, geleneksel ana ihraç ürünleri arasına girmiştir.

Dünyada yaklaşık 145 ülkede 223.145 hektarlık bir alanda süs bitkileri üretimi yapılmakta ve üretilen çiçeklerin %50’sinden fazlası Avrupa Birliği ülkelerinde tüketilmektedir. AB ülkeleri 2004 yılında 12.014.000.000 € tutarında gerçekleştirdiği taze kesme çiçek ve yeşillik tüketiminin 3.142.000.000 € tutarını ithal etmiştir. Karanfilin bu ithalattaki payı ise 190.000.000 € tutarındadır. 2005 yılı verilerine göre AB ülkeleri arasında en fazla karanfil ithalatı yapan ülke İngiltere (% 40) olup bunu Hollanda (%19), Almanya (%16) ve Fransa (%6) izlemektedir. AB ülkelerine en fazla karanfil ihracatı yapan ülkeler arasında Kolombiya birinci sırada (69 milyon €), Hollanda ikinci (50 milyon €), İspanya üçüncü (34 milyon €), Türkiye ise dördüncü sırada (11 milyon €) yer almaktadır (Anonim, 2005).

Dünya kesme çiçek ithalatı ülkeler itibariyle değerlendirildiğinde, 2007 yılı verilerine göre Almanya en büyük ithalatçıdır. Almanya’yı Birleşik Krallık ve ABD izlemektedir.

Türkiye’de 28 ilde süs bitkileri üretimi yapılmaktadır. Üretimin en fazla yapıldığı iller sırasıyla İzmir, Antalya, Yalova ve İstanbul’dur. Marmara ve Ege Bölgesinde (İstanbul, Yalova, İzmir, Aydın) yapılan kesme çiçek üretimi genellikle iç pazara yöneliktir. Antalya bölgesinde ise çoğunluğu seralarda olmak üzere yüksek kaliteli ve ihracata yönelik üretim yapılmaktadır.

Ülkemizde karanfil üretimi başta Akdeniz Bölgesi olmak üzere Ege ve Marmara Bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Karanfil yetiştiriciliği en fazla Yalova, İzmir, Antalya ve Adana illerinde yapılmaktadır (Kepenek, 2002)

Ülkemizde kesme çiçek üretimi Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgelerinde yer alan mikroklimatik alanlarda yoğunlaşmaktadır. Ayrıca kıyı bölgelerinden içerde

yayla kesimlerinde yaz aylarında yüksek kaliteli karanfil üretimi de yapılmaktadır. Bu sayede yılın 10 ayı karanfil üretilebilmektedir.

Toplam süs bitkileri ihracatının % 54'ünü kesme çiçekler oluşturmaktadır. 2008 yılında 24,5 milyon dolar olan kesme çiçek ihracatımızda en önemli ürün karanfiledir ve kesme çiçek ihracatının % 88'ini, toplam süs bitkileri ihracatının ise % 47'sini oluşturmaktadır. Karanfil dışında ihraç edilen diğer kesme çiçekler arasında gerbera, gypsophilla, liliüm nemli olup, yeni türlerden ranunculus, lisianthus gibi türlerin de ihracatı önem kazanmaya başlamıştır.

Kesme çiçek üretimi Türkiye'de toplam süs bitkileri üretiminin %48'ini oluşturmaktadır. Türkiye'de 2004 yılı Tarım İl Müdürlükleri verilerine göre toplam 1.370 ha alanda kesme çiçek üretimi yapılmaktadır. Türkiye kesme çiçek üretiminin %73'ü seralarda, %27'si ise açık alanda yapılmaktadır. Seralarda yapılan üretimin büyük çoğunluğu ihracata yöneliktir. Üretim alanlarına göre Türkiye'de ağırlıklı olarak karanfil üretilmekte ve 2005 sezonu itibariyle üretimin %60'mı oluşturmaktadır. Üretimde diğer önemli kesme çiçek türleri gül (% 14) ve gerbera'dır (%10).

Türkiye'de, karanfil üretim alanı 4357 dekadır. Bu alanın 36.70 dekarı cam serada, 4318.45 dekarı plastik serada, 2.70 dekarı da açıkta yapılmaktadır. Kışın Antalya'da ve yayla şartlarında yaz üretimini yapılması; daha çok süpermarketlere yönelik yıl boyu kesintisiz üretimi hedef alan firmalar tarafından başlatılan bu üretim karlılığı nedeni ile önümüzdeki yıllarda artış gösterecektir. Isparta, Burdur illerinde yapılan üretim 2003 yılında 300 dekarı bulmuştur (Anonim, 2004).

İklim özellikleri açısından kesme çiçek yetiştiriciliği için önemli avantajlara sahip olan ülkemizde ise ticari anlamda kesme çiçek üretimi 1940'lı yıllarda İstanbul ve çevresinde başlamış, daha sonra Yalova önemli bir merkez konumuna gelmiştir. Sonraki yıllarda Ege Bölgesinde özellikle İzmir'de kesme çiçek yetiştiriciliği önem kazanmıştır. 1985 yılından itibaren Antalya'da kesme çiçek ihracatına başlanması ile bu bölgede kesme çiçek üretim alanları hızla artmaya başlamış ve günümüzde Antalya Türkiye'nin en önemli kesme çiçek ihracatı merkezi konumuna gelmiştir (Kazaz, 2006).

Kesme çiçekçilik, ülkemizde potansiyeli olan üretim kaynaklarından biridir. Son on yıllık süre içerisinde ülke ekonomisine geniş katkılar sağlayabilecek bir uğraşı haline gelmiştir. Şu anda, ülkemizde kesme çiçek üretimi, büyük ölçüde örtüaltı yetiştiriciliği şeklinde sürdürülmekte olup, kesme çiçek üretiminde ve ihracatında en büyük pay ise karanfil bitkisine aittir. Türkiye’de kesme çiçek üretiminin % 50’sini karanfil oluşturmaktadır ve kesme çiçekçiliğimiz içinde ilk sırada yer almaktadır. Ayrıca birim alandan en fazla gelir getiren bir çiçektir.

Karanfil; Caryophyllaceae (Karanfilgiller) familyası, *Dianthus* cinsi içinde yer alan bir tür olup anavatanı Akdeniz Bölgesidir. Yaklaşık 2000 yıldan daha fazla süredir karanfil yetiştiriciliği yapılmaktadır (Besemer, 1980).

Dianthus’un Güney Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika’nın ılıman bölgelerine dağılmış 300’ün üzerinde türü vardır (Boztok ve ark., 1996).

Karanfil doğal ortamda haziran- ağustos ayları arasında çiçek açar. Çiçekleri keskin kokulu ve kırmızı renktedir. Boyları 60-90 cm arasındadır. Tüketici tarafından tercih edilen karanfiller içinde kırmızı, sarı, pembe, beyaz ve iki renkliler başta gelmektedir.

Kesme çiçekler, vazoda tamamen açılabilceği ve en uzun vazo ömrünün elde edileceği en erken devrede kesilmektedir. En uygun hasat zamanı tür, çeşit, zaman/mevsim, pazarlama şekli, pazar uzaklığı, tüketici istekleri ve çevre koşullarına göre değişmektedir. Pazarlama kanallarında %25’i aşan kayıpların başlıca nedenleri; solunum ile depo besinlerinin tükenmesi, bakteriyel veya fungal bulaşma, olgunlaşma ve yaşlanma olayları, solma (su dengesinin bozulması), ezilme ve çarpma sonucu solunum yükselişi, yüksek veya çok düşük sıcaklıklar, etilen birikimi, kullanılan suyun kalitesi (tuzluluk ve flor seviyesi), hatalı kültürel uygulamalar ve yetiştirme koşullarıdır.

Kesme çiçeklerin türüne ve gelişme devresine göre değişen çeşitli uygulamalar vardır. İşletmede, değişik pazarlama kanallarında veya çiçekçi dükkanında, hatta tüketici evinde yapılması gereken bu uygulamalar, kesme çiçeklerin vazoda en yüksek kaliteye ulaşmasını ve vazo ömrünün uzamasını sağlar. Örneğin, canlı olan kesme çiçeklerin büyüme ve gelişmeleri için gerekli temel gıda şekerdir. Şeker aynı zamanda bakteriler içinde bir gıdadır. Bu nedenle şekerli çözelti

mutlaka çiçeğe uygun bir bakterisit içermelidir. Çiçek başına maliyetleri oldukça düşük, ancak faydaları büyük olan çeşitli uygulamaların amaçları; etilen zararını önleme, büyümeyi düzenleme, petal yaşlanmasını ve yaprak sararmasını geciktirme, vazo suyunda mikrobik gelişmeyi önleme ve su alımını arttırmadır.

Kesme çiçeklerin hasat sonrasında uygulanan önemli işlemlerden biri boylama ve demetlemedir. Boylamanın standartlara uygun biçimde yapılması, demetlerde türe ve pazar isteğine uygun sayıda çiçek konması ve demetlerin veya çiçeklerin ambalajlanmasında uygun malzeme kullanılması ve gereken özenin gösterilmesi çiçek kalitesi ve dayanım gücünün korunmasını sağlayacaktır. Boylama sırasında zararlanmış ve hastalıklı çiçekler çıkarılmalıdır. Demetler çok sıkı bağlanmamalıdır. Çok sıkışık çiçeklerde küf gelişir ve soğuma gecikir. Eskiden mumlu kağıtlar ile sarılan çiçekler, günümüzde çoğunlukla şeffaf plastik kılıflarla sarılmaktadır. Plastik kılıf dayanımı artırır. İhracata yönelik üretimde kullanılan plastik kılıfların, iç tüketime yönelik çiçekçilikte de yaygınlaşması, kesim sonrası kayıpları azaltacaktır.

Çiçek kalitesini etkileyen en önemli faktör sıcaklıktır. Çünkü canlılığı kesimden sonrada devam eden bir çiçeğin solma hızı sıcaklığa bağlı olarak artar. Ilıman iklim çiçeklerinin (gül, karanfil, kasımpatı v.b.) depolama sıcaklığı, mümkün olduğunca dokunun veya suda depolamada suyun donma noktasına yakın olmalıdır. Birçok çiçeğin donma noktası 0.5 °C altında olduğundan, kuru olarak en iyi bu sıcaklıkta depolanırlar. Kolay bozulabilir bir ürün olan kesme çiçeklerin kesimden sonra en kısa zamanda hızla soğutulması (ön soğutma) gerekir. Uygulamada birçok çiçek kesimden sonra basit olarak, ambalajlı veya ambalajsız, soğuk odalara yerleştirilerek soğutulmaktadır. Çiçek depolamada oransal nemin yüksek (% 90-95) olması gereklidir.

Etilen, kesme çiçeklerde kontrol altına alınması gereken en önemli faktörlerdendir. Birçok kesme çiçek etilene oldukça duyarlıdır. Etilen her yerde vardır. Egzoz gazları, olgun meyve, sigara dumanı etilen kaynağıdır. Bu nedenle, çiçeğin kısa zamanda solmasına yol açan etilenden korunması önemlidir. Bunun için, ağır metal olan gümüş içeren bir kimyasal bileşim (GTS - gümüş tiyosülfat) yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda etilen inhibitörü olarak 1-MCP bileşeni

üzerinde durulmaktadır. Ülkemizde, ihraç edilen çiçeklerde kullanılan bu kimyasalın çevre kirliliğine yol açmaması için kullanım sonrası imhası büyük önem taşımaktadır. Bu konuda kontrol mekanizması geliştirilmelidir.

Etilen yüksek yapılı bitkilerdeki tüm dokularda L-metiyonin'den sentezlenir. Etilen biyosentezindeki iki anahtar enzim ACC sentaz ve ACC oksidaz' dır. ACC sentazın ekspresyonunu çevresel stres faktörleri (fiziksel, kimyasal, biyolojik) ve hormonal sinyaller (oksin, sitokin, etilen) teşvik etmektedir. Etilene duyarlı *Arabidopsis thaliana* mutantlarından etilene bağlı çok sayıda gen belirlenmiş ve bunlardan iki tanesi iyi incelenmiştir (Chang ve Stadler, 2001). *Arabidopsis* bitkisinde etilene duyarlı olan ETR1 geni çiçek ve meyve yaşlanması sırasında sentezlenmektedir. Etilen sinyal iletim yolunun esas komponenti; CTR1 (constitutive triple response 1) geninin ürünü bir protein olmaktadır. Bu gen ETR1 (ethylene reseptör 1) ve EIN (ethylene insensitive) genlerinden sonra görev almaktadır. Etilen olmadığında reseptör, negatif düzenleyici rolünü üstlenen CTR1 aracılığı ile etki göstermektedir. Etilen bağlanması reseptörde CTR1'in aktivasyonunu engellemektedir. Etilen olmadığında ETR1 aktiftir ve sonraki proteini (EIN2'nin ürünü) inaktive eder. Etilen eşliğinde reseptöre (örneğin ETR1'e) bağlanarak tekrar aktive edilmektedir. Aktif etilen-reseptör kompleksi CTR1 ürünü doğrudan veya dolaylı olarak inaktive eder. EIN2 gen ürünü ise etilenle düzenlenen bazı genleri aktive ederek hücre uzamasını ve stres genlerinin aktivasyonunu sağlar. ETR1 geni, bakterilerin 'iki komponentli' sistemindeki histidin kinaza benzer bir protein kodlandırmaktadır. Bu proteinlerde histidin kinaz aktivitesi bulunan ve fosforilasyon olabilen aspartat içeren domainler bulunmaktadır.

Etilen biyosentezi methionine'den S-adenosylmethionine (SAM)'ın daha sonra 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)' nin ve sonuçta etilen sentezini kapsamaktadır. Biyosentez içerisinde iki regülatör gen ACC sentaz ve ACC oksidaz'dır. ACC sentaz ve ACC oksidaz enzimleri birden fazla gen tarafından kodlanmaktadır. ACC sentazın çeşitli bitki dokularında çoklu bir gen ailesi tarafından kodlandığı saptanmıştır. Etilen sentezi sırasında belirli aşamalarda ETR1, ERS1, CTR1, EIN3 gibi pozitif ve negatif gen reseptörleri aktif olmaktadır. ETR1 reseptör ailesi, etilenin olmadığı durumlarda direk olarak CTR1 ile interaksiyona

girerek onu aktif hale getirir. Aktive olmuş CTR1 ise etilen cevabını ortadan kaldırır. CTR1 etilen cevabına negatif regülatördür (Kieber ve ark., 1993). CTR1 mutasyonları daimi olarak etilen cevabını sağlar. Yani CTR1' in aktivitesini inhibe etmekte ve inaktif duruma gelmesini sağlamaktadır (Huang ve ark., 2003).

1-MCP, süs bitkilerinin muhafazası ve raf ömürlerinin uzatılması için etileni bloke eden, son yıllarda tüm dünyada üzerinde çok durulan yeni teknoloji ürünüdür. Süs bitkilerinde etilen inhibitörü olarak son yıllarda 1-MCP kullanılmaktadır. 1-MCP, etilenin etkisini engelleyen bir bileşiktir. Etilen algılanmasını önleyen 1-MCP, meyve, sebze ve süs bitkilerinde olgunlaşma ve yaşlanma üzerinde etkili olmaktadır. 1-MCP, etilen reseptörleri açısından etilenin kuvvetli antagonistidir ve raf ömrünü arttırarak olgunlaşmayı geciktirmektedir. Bunun yanında 1-MCP; yaşlanmayı geciktirmekte, etilen üretimi, solunum, renk değişimi ve yumuşamayı da geciktirmektedir (Watkins, 2006). 1-MCP, etilenin bağlanma noktalarına bağlanarak, etilenin etkisini azaltmaktadır (Blankenship ve Dole, 2003; Watkins, 2006).

1-MCP'nin standart sıcaklık ve basınçta molekül ağırlığı 54, formülü C_2H_4 olan bir gazdır. Bitkiye uygulandığında etilen alıcılarına bağlanarak etilenin bu bölgeye bağlanmasını engellemekte ve bu nedenle etilenle ilişkili biyokimyasal tepkilerin hızını yavaşlatmaktadır. 1-MCP'nin alıcı ile uyuşması etileninkinden yaklaşık 10 kat daha fazladır ve etilen ile karşılaştırıldığında çok düşük konsantrasyonlarda aktif halde olabilmektedir (Blankenship ve Dole, 2003).

1-MCP'nin etkisi tür, çeşit ve depo türlerine bağlı olarak değişmektedir. 1-MCP, toz olarak veya tabletler şeklinde üretilmekte, su veya tampon çözeltisi ile karıştırıldığında kolaylıkla gaz olarak ayrışmaktadır. 20–25⁰C arasındaki sıcaklıklarda uygulanmakta, daha düşük sıcaklıklarda da uygulanabilmesine karşılık, etkisi; uygulama zamanı, dozu ve sıcaklara bağlı olarak daha az olmaktadır (Blankenship ve Dole, 2003).

Bu çalışmada, 1-MCP' nin raf ömrü üzerine etki mekanizmasını araştırmak amacıyla hasat sonrası alınan karanfil örneklerine farklı dozlarda 1-MCP uygulamasıyla karanfillerin morfolojik özellikleri ve CTR1 ve ETR1 genlerinin Real-Time PCR tekniği ile ifade edilirliliği araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Karanfilde bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır. Burada konu ile ilgili olduğu düşünülen bazı çalışmalara yer verilmiştir.

2.1. Karanfil İle İlgili Çalışmalar

SEREK ve ark. (1994), yaptıkları çalışmada, kesme karanfile düşük konsantrasyonda (0.4µl /L) 1-MCP uygulamasıyla ilk 6 saatlik periyotta, etilen döngüsünün inhibe edildiği ve bitkinin normal solgunluğunun azaltıldığını gözlemlemişlerdir. Bitkide görülen 1-MCP'ye olan tepkilerin zaman ve konsantrasyon ile ilgili olduğunu, aynı zamanda 1-MCP'nin etilen aktivitesine etkili inhibitör etkisi kadar STS (gümüş tri sülfat)'in de etkisinden kaynaklanan ortak bir tepki olduğunu belirtmişlerdir. Karanfilde olduğu gibi diğer etilene hassas olan kesme çiçeklerde de benzer tepkilerin olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları denemelerde 1µl /L 1-MCP uygulamasıyla dört farklı zamanda 1-MCP'nin karanfil vazo ömrüne etkisini incelemişlerdir.

ÇELİKEL ve ark. (2002), çalışmalarında çiçek üretiminde 1-MCP'yi kullanmışlardır. Önceki zamanlarda yoğun olarak kullanılan STS (gümüş tri sülfat) yerine, yapılan çalışmalar 1-MCP ile çiçek solgunluğunu engellemede daha iyi sonuçların alındığını belirtmişlerdir. Karanfil petallerine 1-MCP'yi 50 ppb, 6 saat ve 1 ppm, 24 saat 20 °C' de uygulamış ve oda sıcaklığında 1- MCP'nin daha iyi çalıştığı gözlemlemişlerdir. Zamanla 1-MCP'nin geçerliliğinin kaybolduğu gözlenmiştir. Karanfillerde 4 gün oda sıcaklığında etilene verilen cevabın, 1 ay 0 °C'de daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

CHUN ve ark. (2002), çalışmalarında kesme karanfil çiçeğinde yaşlılığı geciktirmede 1-MCP'nin etkisini incelemişlerdir. Kesme çiçekleri 23 °C'de %60'a kadar nem ve 20 mikro mol /s ışıktaki laboratuvar şartlarında tutmuşlardır. 0.5, 5 ve 10 nl/L 1-MCP 6 saat uygulandığında etilen üretiminin tamamen sonlandığını kaydetmişlerdir. Bu konudaki çalışmaların temelinde daha küçük karanfil petallerinde etilen etkisinin inhibasyonunda 1-MCP'nin etkili olduğu

değerlendirilmekte ve karanfil çiçeklerinin en dış petal yapraklarına 60 °C'de etilen inhibasyonunda 1-MCP uygulamasının daha etkili olduğu belirtilmektedirler.

HADAS ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada, aynı zamanlı ya da sıralı uygulama izlenerek kesme çiçek ve saksı bitkilerinde 1-MCP'nin etkisi ile etilen etkinliğini incelemişlerdir. 1-MCP'yi farklı süs bitkilerine uygulamışlar, uygun sıcaklık, doz ve süreci bulmaya çalışmışlardır. 5 µl/l 1- MCP'yi eş zamanlı 4, 12, 20 °C'de karanfillere uygulamışlar ve bu uygulamadaki sıcaklıkların çiçek kalitesini negatif yönde etkilediğini görmüşlerdir. 1 MCP, 4 °C'de sıcaklıkta uygulandığında 15 nl/l etilenin etkisinin azaldığını belirtmişlerdir. 1-MCP 15 nl/l oranı bütün sıcaklıklarda uygulandığında etilen etkisi ortadan kalkmıştır. Araştırmacılar 1-MCP'nin, düşük sıcaklıklarda etilen ile daha iyi mücadele ettiğini ve bu şartlarda uygulanması gerektiğini önermişlerdir.

SISLER ve ark., (2004), karanfillerin kesiminde etilen etkisi ve etilenin bağlanmasında 1-MCP' nin etkisini incelemişlerdir. Karanlık ve ışık uygulamalarında karanfil çiçeklerinde etilen etkisinin bir inhibitörü olarak 1-MCP'nin etkili olduğunu görmüşlerdir. Etilen bağlayıcı olarak görülen 1-MCP sürekli bir reseptör olabilmektedir. 2.5 nl/l'de 6 saat bitkiye muamelesinin etileni korumaya karşı yeterli olduğunu, diğer yandan 0.5 nl/l 24 saat uygulanırsa bunun daha etkili olacağını belirtmişlerdir. 1- MCP konsantrasyonunun, artan çiçek yaşıyla orantılı olarak fazla miktarda gerekmede olduğunu bildirmişlerdir. Bitkinin yaşlanması sırasında üretilen doğal etilenin artışının, 1-MCP uygulamasıyla engellendiğini belirtmişlerdir.

HASSAN ve ark., (2005), kimyasal uygulaması sonucunda kesme karanfillerin hasat sonrası karakterizasyonunu incelemişlerdir. Kesme çiçeklerden *Dianthus caryophyllus* L.'yi kullanmışlar. 8-HQS (8-hydroxyquinoline sulphate) 200 ve 400 ppm ile 50 g/L sukroz; STS (silver thiosulphate) 0.2 ve 0.4 mM ile 50 g/L sukroz; 1-MCP 0.3, 0.5 ve 0.7 gm-3 6 saat, hasat sonrası kalite için denenmiştir. 8-HQS muamelesinin vazo ömrünü arttırdığı ve başlangıçtaki taze ağırlığın yüzde olarak azaldığı görülmüş. Ayrıca sukrozun eklenmesinin vazo ömründe de etkili olduğu belirtilmiştir. En iyi sonuç, 400 ppm 8-HQS ve 50g/L sukrozda gözlemiştir. STS'li tüm konsantrasyonlarda vazo ömrü ve taze ağırlık karşılaştırılmış ve en yüksek oran 0.4 mM ve 50 g/L sukrozda gözlenmiştir. Bütün 1-MCP'li oranlarda

vazo ömrü uzunluğu ve taze ağırlık artışı karşılaştırılmış, en iyi sonuç 1 MCP 0.5 gm 6 saatlik muamelede görülmüştür. Klorofil (klo *a*, klo *b*) miktarının yapraklarda kontrole göre her kimyasalda yüksek oranda çıktığını gözlemişlerdir.

ÇELİKEL ve REID, (2008), süs bitkilerinde 1-MCP'yi kullanmışlar. 1-MCP'nin etkisini anlamak için karanfilleri model olarak seçmişlerdir. İlk zamanlarda ticari olarak kullanılan 1-MCP, etilene duyarlı kesme çiçekler ve saksı bitkilerini korumaya yönelik yapılan çalışmalarda üretilen stratejilerle hala tercih edilmektedir. Bu çalışmada kullanılan karanfil petallerinde sürekli rekabet halinde olan, kararlı olmayan bazı tepkilerin 1-MCP ile engellendiğini görmüşlerdir. 1-MCP bantlarının bağlandığı yerlerin, allosterik değişimler esnasında açılmakta olduğunu ve etilen yokluğunda 1-MCP bağlayıcı bölgelerin enzimatik aktivitelerle etkileşime girebildiğini gözlemişlerdir.

2.2. Etilen Biyosentezi İle İlgili Çalışmalar

ABADI ve ark., (2009) 1-MCP'nin etilen hareketini baskılayıcı bir gaz olduğunu belirtmiş ve kesme karanfilde (*Dianthus caryophyllus* L.) solmayı geciktirmek için 1-MCP konsantrasyonlarının, zaman ve sıcaklığa bağlı olarak etkilerini araştırmışlardır. Etilene karşı duyarlı 'Tempo' karanfil çeşidini kullanarak yapmış oldukları çalışmada, 0, 20, 40, 60, 80 ve 100 nl/l 1-MCP uygulamışlar ve zaman periyodu olarak 3, 6 ve 9 saatte, vazo ömrü, yaş ağırlık kaybı ve klorofil indeksi sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Sonuçta, 1-MCP konsantrasyonlarının ve zamanla olan interaksyonunun vazo ömrü, su alımı, kayıp klorofil indeksi, yaş ağırlık kaybı, %1 önemli bulunmuştur. Klorofil indeks kaybı ve yaş ağırlık kaybı üzerine zaman periyodunun etkisi %5 önem derecesinde ve su alımını da %1 önemli olarak saptanmıştır. 60 nl/l 1-MCP' nin 3 saat uygulanması ile vazo ömrü 16.47 gün, yaş ağırlık 2.57 ml/g, su alımını 2.41 ml/g ve klorofil indeks kaybı 2.667 olarak bulunmuş ve bu sonucun uygulamalar arasındaki en iyi sonuç olduğu bildirilmiştir.

SON ve ark., (2003), karanfilin petal yapraklarında 1-MCP'nin etilen biyosentezine etkisini incelemişlerdir. ACC oksidaz ve etilen üretimi için 1-MCP'nin güçlü bir inhibitör olarak işlev gördüğünü fakat ACC sentaz aktivitesi ve ACC

bileşenleri için aynı etkinin olmadığını bildirmişlerdir. Başlangıçta ACC oksidaz aktivitesindeki artış sebebiyle petallerin uyarılmakta olduğunu gözlemlemişlerdir. 1-MCP uygulamasından sonra A23187 ile petallerle muamele edilmesi ve petallere yalnızca 1-MCP uygulamasını karşılaştırmışlardır. Bunun sonucunda sıralı olarak dizilen petallerde ACC oksidaz aktivitesindeki az miktarda olan artış gözlemlenmiştir. Bu sonuçların tümünde karanfil petallerindeki etilen aktivitesi ve biyosentezinin, etkili olarak 1-MCP tarafından inhibasyonu ile gerçekleştiği bildirilmiştir.

YOL ve ark., (2004) torenia ACC oksidaz geninin bir kısmını ters-yönlü ve anlamlı yönde *Agrobacterium* tütün (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun) bitkisine aktarmış ve transgenik bitkilerin etilen üretimindeki etkilerini analiz etmişlerdir. Altı ters yönde ve yedi anlamlı yönde gen taşıyan T aday transgenik bitkiler elde edilmiştir. Kontrol ve transgenik bitkilerde seçici ortamda (75 mg/l) uygulanan yaprak diski testi ve klorofenol kırmızısı testleri, transgenik bitkilerin kontrol bitkilere nazaran pozitif sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur. Tüm aday transgenik bitkilerden T döllerinde elde edilmiştir. PCR analizi ve Northern Blot Hibridizasyonu da T döllerinin transgenik yapısını desteklemiştir. Ayrıca kontrol ve transgenik bitkilerin çiçeklerinin ürettiği etilen miktarı gaz kromatografisi yardımı ile ölçülmüş, bu da yabancı çiçeklerle karşılaştırıldığında S7 transgenik hattındaki etilen üretiminin %77 A1 transgenik hattındaki etilen üretiminin %72 oranında azaldığını göstermiştir. Bu sonuçlar, torenia ACC oksidaz genini ters-yönde ve anlamlı yönde taşıyan transgenik tütün bitkilerinin daha az etilen ürettiklerini ve bunun da çiçek ömrünün uzatılmasına olanak sağlayabileceğini göstermektedir.

YIXUN ve MANZHU, (2004), yapılan çalışmada antisens ACC oksidaz geninin transformasyonu aracılığıyla karanfil bitkilerinin vazo ömrünü uzatmayı incelemişlerdir. eksplant olarak kullanmış karanfillerin genç yaprakları, etilen sentezinin anahtar enzimi olan ACC oksidazın genomik DNA'sıyla, *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla CaMV 35S promotörü öncülüğünde transformasyon gerçekleştirilmiştir. Karanfil genomunun Southern Blot ve PCR analizleri sonucunda aktarılan genlerle entegre olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca gözlem sonucunda seleksiyon ortamındaki farklılaşmanın sebebinde yaprak yaşı ve asetosiringon

faktörü olduğu ortaya çıkmıştır. Seçilen yaprak eksplantlarının 2 defa rejenerasyonu ile transgenik eldesinin (chimaera) etkisinin azaldığı görülmüştür. Transgenik bitkiler, izole edilen sera koşullarına ve toprağa aktararak çoğaltılmıştır. Sonuç olarak transgenik bitkilerin vazo ömrünün 25°C altındaki kontrol bitkilerinden 4 gün daha uzun olduğu kaydedilmiştir.

VERES ve ark., (2005), karanfilin ekonomik özelliklerinde etilen biyosentezinin inhibe edilmesinin etkilerini incelemişler. İki karanfil kültür bitkisinin dış etkenli olan antisens ACS (ACC sentaz)'ın aktarılmasıyla oluşan transgenik rejenerasyonların saksılarda sera koşullarına ve vazoya aktarmışlardır. Bitkilerin çiçeklenme zamanında etilen üretimindeki azalmada ACC sentazın etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Bitkilerin vazo ömrünün 4-6 günde olsa uzadığı görülmüştür. Etilen üretiminin etkileri altında, transgenik bitkilerin gövde genişliği kaydedilmiştir. Sonuç olarak bu transgenik bitkilerde gövde genişliğinin artmasındaki sebeplerin yeterince açık olmadığını bildirmişlerdir.

DAL CIN ve ark., (2006), yapmış oldukları çalışmada, şeftali (*Prunus persica* L. Batsch cv. 'Summer Rich') ve elma'ya (*Malus x domestica* L. Borkh cv. 'Golden Delicious') 1-MCP (1µl/l)'yi 20°C de, 24 saat boyunca uygulamış ve solunum oranı, etilen üretimi ve meyve sertliği ile birlikte ACC sentaz, ACC oksidaz, *ETR1*, *ERS1* ve *CTR1* gen ekspresyon örneklerini hasat sonrası dönemde değerlendirmişlerdir. 1-MCP uygulaması elmada olgunlaşmayı geciktirmede etkili olurken, şeftalide bu kimyasalın sınırlı bir etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Etilen biyosentezini baskılamak ve ACS gen ekspresyonunu teşvik etme, elmada 1-MCP uygulaması ile sağlanmış, fakat 1-MCP uygulanmamış kapağı kapalı hava içeren kavanozdaki iki kontrol uygulaması arasında şeftalide farklılık gözlenmemiştir. Elmada, *Md-ETR1* ve *Md-ERS1* gen ekspresyonu, 1-MCP uygulamasının başlangıcından sonuna kadar azalma gösterirken, *Md-CTR*'in son safhada 1-MCP tarafından negatif etkilendiği gözlemlenmiştir. Şeftali'de, *Pp-ETR1*, *Pp-ERS1* ve *Pp-CTR1* genlerinin transkripsiyonu 1-MCP uygulamasından etkilenmemiştir. Kontrol meyvesindeki reseptör transkript 1-MCP uygulanmamış kavanozda ve 1-MCP uygulanmış kavanozda değerlendirildiğinde farklılığın devam ettiği ve bunun şeftalinin olgunlaşmasında CO₂'nin hızla birikmesinin bir etkisi olabileceğini

belirtmişlerdir. Sonuçlar elma ve şeftalide 1- MCP uygulamasına karşı verdikleri cevabın farklı olduğunu göstermiş, bu farklılığın zaman oranı, etilen reseptörünün dönüşmesi ve/veya ekspresyon örnekleri ile ilgili olabileceğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Tez çalışması 2009 yılı içerisinde Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Derim Sonrası Fizyolojisi Laboratuvarı ve Adana Veterinerlik Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde yürütülmüştür. Çalışmada, kesme çiçek olan karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.)'in spreylere 'Natila' ve 'Amelia' çeşitleri kullanılmıştır. Bitki materyalleri, 17 Ocak 2009 döneminde Yalıtır A.Ş.'den temin edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Karanfillerin serada görünümü

3.1.1. Kullanılan Bitki Materyallerin Özellikleri

Dianthus caryophyllus L. Caryophyllaceae familyasına ait süs bitkisidir. Vatanı, Güney ve Doğu Avrupa'dır. İki çenekliler sınıfının, karanfilgiller familyasından; karşılıklı ensiz sivri yapraklı, düğüm düğüm ince saplı, 300 kadar

çeşidi bulunan, otsu bir süs bitkisidir. Dalcıkların ucunda tek tek ya da topluca bulunan çiçekleri pembe, beyaz ve kırmızı renklidir.

3.1.1.1. Çalışmada Kullanılan Bitki Çeşitleri

Tez çalışmasında detayları aşağıda belirtilmiş olan iki adet karanfil çeşidi kullanılmıştır. Bu çeşitler yaprakları ensiz sivri ve yeşil renkte, yaprak kenarları düz spreyciğektir. 'Amelia' çeşidinin petalleri beyaz, 'Natila' çeşidinin petalleri pembe renktedir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. A) Sera Koşullarında *Dianthus caryophyllus* 'Amelia', B) 'Natila' Çeşitlerinin Görünümü

3.2. Metod

3.2.1. Bitki Materyalinin Hazırlanması

Denemelerde kullanılan 'Natila' ve 'Amelia' çeşitleri normal ticari evrede 17.01.2009 tarihinde hasat edilmiştir. Hasat edilen çiçekler bir saat içerisinde laboratuvara getirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Karanfillerin hasattan sonraki görünümü

3.2.2. Çiçek Örneklerinin Alınması

Hasadı yapılan karanfil çiçekleri, Ç.Ü.Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Derim Sonrası Fizyolojisi Laboratuvarına getirilmiştir. Ön seçimle aynı boyda ve görünümde olanlar seçilmiştir. Çiçek sapından iletim demetine hava girişi tıkanmaya yol açtığından çalışmanın ilk aşamasında sap dipleri su içerisinde 2-3 cm kesilerek çıkarılmıştır.

Denemede yaş depolama için iki grup karanfillere, Kontrol, 500 nl/L 1-MCP ve 1000 nl/L 1-MCP uygulamaları yapılmıştır. Her uygulama, 3 yineleme ve her yinelemede 5 çiçek olacak şekilde yapılmıştır. Ayrıca vazo ömrü tespiti amacıyla her uygulamadan 3 yinelemeli ve her yinelemede 5'er çiçek kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Karanfil çiçeklerinin gruplara ayrılması

Deneme kapsamında 1-MCP'nin 2 farklı dozu (500 nl/l ve 1000 nl/l) uygulanmış ve uygulama sonrasında tüm gözlemlerin alındığı yaş depolama 3 hafta sürmüş ve periyodik olarak her 7 günde bir fiziksel analizler yapılmıştır. Yaş depolamada çiçekler, içerisinde vazo solüsyonu bulunan vazolara yerleştirilmiş, vazo suyunda %1 sakkaroz çözeltisi kullanılmış ve çiçekler 4°C sıcaklık ve %75 oransal nem içeren koşullarda depolanmıştır. Ayrıca 1-MCP'nin farklı dozları uygulanmış ve uygulanmamış kontrol çiçekler kağıt veya nem tutan ambalajlara sarılarak içerisinde vazo solüsyonu bulunan beherlere dikey olarak yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Yaş depolama yapılan çiçeklerin suyu haftada bir kez suda yeniden kesim yapılarak değiştirilmiştir. Yeniden kesimden sonra çiçeklerin ağırlığı alınmıştır.



Şekil 3.5. Kesme çiçeklerin gruplanması

Haftada 1 kez gerçekleştirilen vazo suyu değişimi sırasında çiçeklerin ve vazo suyunun ağırlıkları alınmış, pH değerleri ölçülmüş ve alınan ölçümler sonrasında elde edilen pH değeri 3.5-5'e asetik asit kullanılarak ayarlanmıştır. Tüm vazo suyu saf su ile hazırlanmış ve mikrobiyal bozulmayı önlemek amacıyla 1 lt vazo suyuna 5 ml sodyum hipoklorit konulmuştur. Vazo solüsyonunun uçmaması için vazoların ağzı alüminyum folyo ile kaplanıp ortasından çiçek sapının genişliği kadar açıklık bırakılmıştır (Kazaz ve ark., 2003).

3.2.3. Karanfil Çeşitlerine 1-MCP Uygulanması

Laboratuvara getirilen karanfil çiçeklerinden tomurcuk halinde olanlar ayrılmış, bu seçim sonrasında geriye kalanlar su içerisinde konularak sapları 2-3 cm kadar kesilerek kısaltılmıştır. ve yeniden kesimleri yapılmıştır. Karanfiller demetler halinde alınarak 1-MCP uygulaması için 1m³ hacimde kapalı sızdırmaz bir plastik sistem içerisine yerleştirilmiştir. Bu plastik sistem içinde 500 nl/l ve 1000 nl/l olmak üzere iki farklı 1-MCP gazı 20 °C sıcaklıkta 24 saat süre özel solüsyonla çiçeklere uygulanmıştır. Kapalı sistem içindeki hava sirkülasyonu pille çalışan küçük bir

vantilatör vasıtası ile sağlanmıştır (Şekil 3.6). Kontrol amaçlı kullanılan karanfillerde aynı koşullar altında denemeye alınmıştır.



Şekil 3.6. Plastik sistem içerisinde karanfile 1-MCP uygulanması

Tez kapsamında kullanılan plastik sistemlerin hacmi olan 100 lt için 1-MCP 500 nl/l ve 1000 nl/l' lik konsantrasyonlarda 1-MCP hazırlanmıştır. 1-MCP'den 500 nl/l uygulaması için 16g, 1000 nl/l uygulaması için ise 32 g tartılmış ve 20 ml su içerisinde çözülerek plastik sistem içerisine yerleştirilmiş ve sistemlerin ağzı kapatılmıştır.

24 saatlik süreç sonrasında bitkiler plastik sistemden çıkarılarak bitkilerin ilk ağırlıkları ölçülmüş ve plastik kasalara alınıp, + 5 °C ye ayarlanmış soğuk hava deposunda muhafaza edilmiştir. Soğuk hava deposunda muhafazası sağlanan karanfil bitkilerinin petal ve yapraklarının zarar görmemesi için uygulama gruplarının etrafları ince bir kâğıtla sarılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Bitkilerin soğuk hava deposunda muhafazası

3.2.4. Fiziksel Analizler

1-MCP uygulamasından sonra 12. saat, 24. saat, 3. gün, 6. gün, 10. gün, 15. gün ve 21. gün zaman dilimlerinde bitkiler derim sonrası fizyoloji laboratuvarına getirilerek, bitkilerin fiziksel özellikleri incelenmiştir. İncelenen fiziksel özellikler aşağıda açıklanmıştır.

3.2.4.1. Oransal Taze Ağırlık

Soğuk hava deposunda gerçekleştirilen yaş depolama süresince karanfillerde taze ağırlıkların saptanabilmesi amacı ile çiçekler numaralandırılarak 0,1 g'a duyarlı dijital terazi ile teker teker tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Oransal taze ağırlık belirtilen formüle göre hesaplanmıştır: $OTA (\%) = (At/At=0).100$; $At = t$ zamanda gövdenin ağırlığı = günler 0, 3, 6, 10 vb. ve $At= 0, 0.$ günde aynı gövdenin ağırlığı (Chamani ve ark., 2005).

3.2.4.2. Vazo Suyu Alınımı

Yaş depolama süresince su çektirme işleminden sonra karanfillerde solüsyon alınımı (ml/gün.g taze ağırlık)= $(St-1-St)/Wt=0$ formülü ile hesaplanmıştır. Burada, St= t'de solüsyon ağırlığı (g) = günler 3, 6, 10 vb. St-1 = önceki gündeki solüsyon ağırlığı ve Wt= 0: 0.günde gövde ağırlığıdır (Chamani ve ark. 2005).

3.2.4.3. Çiçek Yaprak Rengi

Minolta CR-300 renk ölçer cihazı ile her çiçeğin yaprağından 3 farklı okuma şeklinde L*, a*, b* değerleri saptanarak, renk tonunda oluşan değişimler açı değeri olan derece (h°) cinsinden ifade edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Karanfillerde yaprakta renk okuma (Minolta CR-300 renk ölçer)

3.2.4.4. Çiçek Taç Yaprak Rengi

Minolta CR-300 renk ölçer ile her çiçeğin petallerinden iç ve dış yüzeyinden dıştan içe doğru 3 farklı okuma şeklinde L^* , a^* , b^* değerleri saptanarak, renk tonunda oluşan değişimler açı değeri olan derece (h°) cinsinden ifade edilmiştir (Şekil 3. 9).



Şekil 3.9. Karanfillerde taç yaprakta renk okuma (Minolta CR-300 renk ölçer)

3.2.4.5. Çiçek Çanak Yaprak Rengi

Minolta CR-300 renk ölçer ile her çiçeğin petallerinden iç ve dış yüzeyinden dıştan içe doğru 3 farklı okuma şeklinde L^* , a^* , b^* değerleri saptanarak, renk tonunda oluşan değişimler açı değeri olan derece (h°) cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.4.6. Solunum Hızı

Karanfillerin depolanması süresince solunum hızının belirlenmesi amacıyla çiçekler kapalı kavanozlar içine konularak, ortamda biriken CO₂ ml CO₂ /kg/h olarak hesaplanmıştır.

Solunum hızlarının belirlenmesi amacıyla çiçeklerin ağırlıkları alınmış ve 700 ml' lik kavanozlara yerleştirilmiştir (Şekil 3.10). Kavanozlar 20 °C de bekletilip çiçeklerin tüketmiş oldukları O₂ ve üretmiş oldukları CO₂ miktarlarını belirlemek amacı ile cam kavanozun kapakları yarım saat süre ile kapalı tutulmuş ve kavanoz içerisindeki %O₂ ve %CO₂ konsantrasyonları Isocell marka gaz ölçerle ölçülmüştür.



Şekil 3.10. Karanfillerin solunum hızı ve etilen ölçümleri

3.2.4.7. Etilen Üretimi

Karanfillerin depolanması süresince çiçekte etilen üretim miktarı Shimadzu 14 A Gaz Kromotografi ile ölçülmüştür. Çiçekler tartılıp 700 ml hacimdeki ağzı gaz sızdırmaz silikon ile kapatılarak cam kavanozda yarım saat bekletilmiş (Şekil 3.10),

ve bu süre sonunda silikonun içinden gaz sızdırmaz bir şırınga ile çekilen 1ml hava Gaz Kromotografisine enjekte edilmiş ve analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen pikler 100 ppm saf etilen standardından elde edilen pikler ile karşılaştırılmış ve hesaplamalar ppm olarak Agilent marka Interface yardımı ile bilgisayar ortamında yapılmıştır.

3.2.4.8. Koku ve Görsel Kalite

Karanfillerin depolanması süresince çiçek ve kısımlarında meydana gelmiş zararlanmalar gözlemlenerek 1-5 skalasına (5: çok iyi, 4: iyi, 3: orta, 2: kötü, 1: çok kötü) göre değerlendirilmiştir. Koku değerlendirilmesi de aynı şekilde, bütün çiçekler incelenerek 0-6 koku skalasına (6: dayanılmaz, 5: çok kuvvetli, 4: kuvvetli, 3: belirgin, 2: zayıf, 1: çok zayıf, 0: kokusuz) göre değerlendirilmiştir.

3.2.4.9. Kumpas İle Ölçüm

Karanfillerin depolanması süresince gerçekleştirilen tüm analizlerin sonunda petal en ve boy (Şekil 3.11 A-B), gonca en ve boy (Şekil 3.11 C-D) ve çiçek çapı (Şekil 3.11 E) mm cinsinden kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Ölçümler sonrası elde edilen sayısal değerlerin ortalaması alınarak değerlendirilmiştir.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Deneme deseni tesadüf parsellerinde faktöriyel düzendir. Her uygulamada 3 tekerrür ve 5'er çiçekli gruplar kullanılmıştır. Veriler SPSS'de analiz edilerek, Tukey testi ile %5 önem seviyesinde gruplandırılmıştır.



Şekil 3.11. Kumpas ile, A) Petal boy, B) Petal en, C) Gonca boy, D) Gonca en, E) Çiçek çapı ölçümü

3.2. 6. Moleküler Çalışmalar

Tez kapsamında kullanılan karanfil çeşitlerinde olgunlaşma zamanlarını uzatmak amacı ile uygulanan 1-MCP'nin, etilen biyosentezinden sorumlu olan CTR1 ve ETR1 genlerinin ifadesinde kantitatif olarak bir değişiklik meydana getirip getirmediğinin belirlenmesi amacıyla Real Time PCR analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.1. RNA İzolasyonu

Real-Time PCR analizleri için kullanılmak üzere deneme süresince 1-MCP uygulamalarını takiben her iki çeşidin her uygulamasından belirli aralıklarda (12.

saat, 24. saat, 3. gün, 6. gün, 10. gün, 15. gün, 21. gün) karanfillerin petal kısımlarından 3'er örnek alınmış ve örnekler alimünyum folyolar ile sarılarak, sıvı azota (-198 °C) batırılmıştır. Örnekler bu işlemlerin ardından RNA izolasyonu gerçekleştirilen saate kadar - 85 °C 'de saklanmıştır.

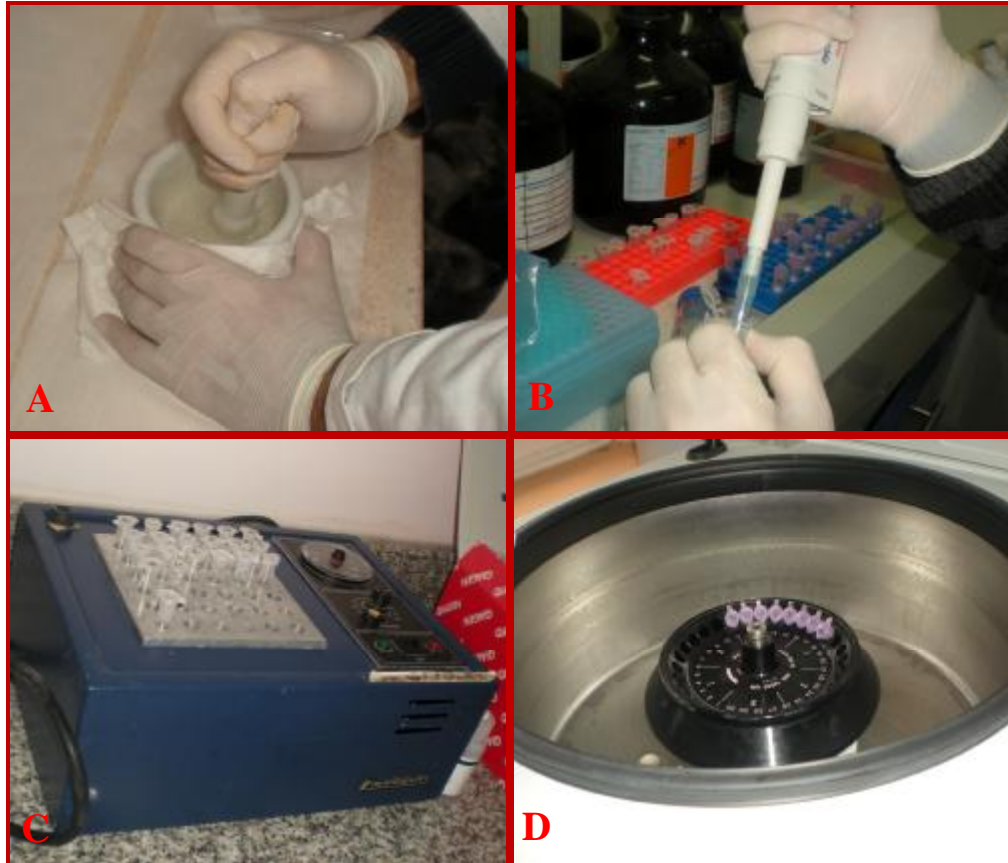
RNA izolasyonu gerçekleştirmek amacıyla alınan bitkisel materyaller porselen havanlar içerisinde sıvı azot ile öğütülmüştür. Öğütülen bitkisel materyaller 0.1 gr olacak şekilde 1.5 ml'lik tüplere yerleştirilmiş ve RNA izolasyonu aşamalarına geçilmiştir. Bu çalışmada Rneasy Protect Mini Kitine ait protokol takip edilmiştir.

3.2.6.2. Total RNA İzolasyon Aşamaları

RNA izolasyonu aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.12).

1. Öğütme sonrası tüpler içerisindeki bitkisel materyalin üstüne 450 µl buffer RLT eklenerek, vorteks yapılmıştır. Tüpler 56 C'de 1 ile 3 dakika arası inkübasyona bırakılmıştır.
2. Karışım 2 ml lik lila tüplere transfer edilmiş. 2 dakika 14.000 devirde santrifüj yapılmıştır. Dikkatli bir şekilde süpernatant kısım yeni mikrosantrifüj tüplere aktarılmıştır.
3. Karışıma 200 µl etanol eklenmiş, pipetaj yardımı ile karıştırılmıştır. Bu kısımda santrifüj yapılmamıştır.
4. Karışım 2 ml' lik filtrelili pembe tüplere aktarılmış, 10.000 devirde 15 saniye santrifüj yapılarak, alttaki süpernatant kısım dökülmüştür.
5. Karışıma 700 µl buffer RW1 eklenmiş 10.000 devirde 15 saniye santrifüj yapılarak, alttaki süpernatant kısım dökülmüştür.
6. Karışıma 500 µl buffer RPE eklenmiş. 10.000 devirde 15 saniye santrifüj yapılarak, tüpün altında kalan kısım sıvısı ile birlikte atılmıştır.
7. Karışıma 500 µl buffer RPE eklenmiş, 2 dakika 10.000 devirde santrifüj yapılarak tüpün altında kalan kısım sıvısı ile birlikte atılır.
8. Filtrelili kısım 2 ml'lik yeni tüpe aktarılmış, 1 dakika 14.000 devirde santrifüj yapılmıştır.

9. Filtreli kısım 1.5 ml'lik yeni tüpe yerleştirilmiş, 30 µl Rnase-free ddH₂O eklenmiş ve 1 dakika 10.000 devirde santrifüj yapılmıştır.
10. Örnekler -20 °C de saklanmıştır.



Şekil 3.12. A) Yaprakların sıvı azotta öğütülmesi, B) Tüplerin üzerine solüsyonların Eklenmesi, C) Öğütülmüş bitkisel materyalin 56 °C'de bekletilmesi, D) Santrifüj işlemi

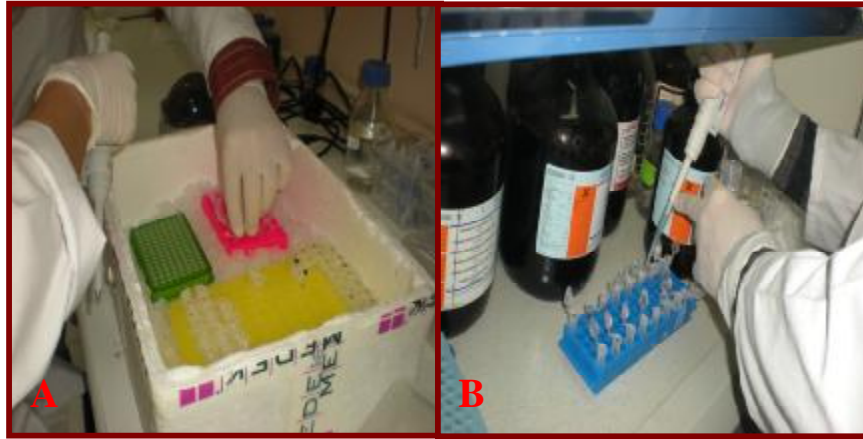
3.2.6.3. RNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen RNA'ların kalitesi ve miktarları spektrofotometre ile (NanoDrop ND 100) ölçümler yapılarak belirlenmiştir. Ölçümleri gerçekleştirilen RNA'lar ile ilgili hesaplamalar yapılmış ve RNA miktarları aynı olacak şekilde seyreltilmiştir.

3.2.6.4. cDNA (Komplementer DNA) Sentezi

Bu çalışmada izole edilen toplam RNA'dan tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi için Roche firmasına ait Transcriptor First Strand cDNA Synthesis kiti kullanılmıştır. (Şekil 3.13). Aşamalar aşağıdaki gibidir;

1. Kimyasallar kullanılmadan önce eritilmiş, kısa bir süre santrifüj yapılmış ve bütün kimyasallar çalışma süresince buz üzerinde tutulmuştur.
2. 20 µl Template-primer mixture hazırlanmıştır. Template-Primer Mix (1 reaksiyon için) : 1 µl toplam RNA, 1 µl oligo (dT) 18 primer, 4,5 µl water, PCR-grade.
3. Örnekler 10 dakika 65 °C'de PCR'a konulmuştur.
4. 20 µl RT mix karışımı hazırlanmıştır. RT Mix: 4 µl Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer, 0,5 µl Protector Rnase Inhibitor, 2 µl Deoxynucleotide Mix, 0,5 µl Transcriptor Reverse transcriptase.
5. Tüpün içerisindeki kimyasalların karışması için kısa bir santrifüf yapılmıştır.
6. Örnekler 30 dakika 55 °C'de inkübasyona tabi tutulmuştur.
7. Örnekler buz üzerinde soğutularak 10.000 rpm'de 10 sn santrifüj edilerek sentezlenen cDNA'nın tüpün dip kısmında toplanması sağlanmıştır.
8. Örnekler – 20 °C de saklanmıştır.



Şekil 3.13. A) Kimyasalların buz üzerinde tutulması, B) Karışımların hazırlanması

3.2.6.5. Real Time PCR Reaksiyonu

Bu çalışmada kullanılan Real-Time PCR yönteminde yalnızca çift sarmallı DNA'ya bağlandıklarında floresan ışımaya veren bir boya olan Syber Green kullanılmıştır. PCR analizlerinde elma ve şeftali'ye ait CTR1 ve ETR1 genlerinin sekanslarından dizayn edilmiş olan spesifik PCR primerleri kullanılmıştır (Dan Cin ve ark., 2006). Ayrıca PCR analizlerinde pozitif kontrol amaçlı ribozomal RNA'ya ait bir primer çifti kullanılmıştır. Tez kapsamında kullanılan primer çiftlerine ait sekanslar Çizelge 3.1'de sunulmuştur. Real Time PCR analiz aşamalarını gösteren resimler ise Şekil 3.15'te gösterilmiştir. Real Time PCR analizlerine ait aşamalar aşağıdaki gibidir;

1. 18 µl Real Time PCR Karışımı (Çizelge 3.2) her bir Lightcycle kapiller içerisine pipet ile konulmuştur.
2. Üzerine 2 µl DNA template konulmuş, her bir kapillerin ağzı kapatılarak isimlendirilmiştir.
3. 3000 devirde 5 sn santrifüj yapılmıştır.
4. Real Time PCR için Döngü Parametresi uygulanmıştır (Çizelge 3.4).



Şekil 3.14. A) Real Time PCR reaksiyonu hazırlanması, B) Santrifüj aşaması
C) Real Time PCR hazırlığı

Çizelge 3.1. Real-Time PCR analizlerinde kullanılan primer dizileri

Primer	Sekans (5' – 3')
r18S (forward)	GTTACTTTTAGGACTCCGCC
r18S (reverse)	TTCCTTTAAGTTTCAGCCTTG
Md-ETR1 (forward)	TTGGCCTGTGAAGAGCAGT
Md-ETR1 (reverse)	TGCAAACCATGTAGAGCCAT
Pp-ETR1 (forward)	ATGATAACGGGTCAGTGACT
Pp-ETR1 (reverse)	AAATAACGTGCAAGAACTCATC
Md-CTR1 (forward)	ACAAGATTTTCATGCCGAAC
Md-CTR1 (reverse)	TATGGACAAGTTTGGAGGCT
Pp-CTR1 (forward)	GCAAGACTTTTCATGCCGAAC
Pp-CTR1 (reverse)	TATGGACAAGTTTGGGGGCT

Çizelge 3.2. Real Time PCR reaksiyonu için kullanılan kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar
ddH ₂ O	11,4 µl
MgCl ₂ (50 mM)	1,6 µl
Forward primer (10 µM)	1 µl
Reverse primer (10 µM)	1 µl
SYBR Green	2 µl
cDNA	3 µl
TOPLAM	20 µl

Çizelge 3.3. Real Time PCR için Döngü Parametresi

Analiz modu	Döngü	Bölüm	sıcaklık	zaman
İlk denatürasyon	1		95 °C	10 dk
Amplifikasyon aşaması				
	45	Denatürasyon	95 °C	10 sn
		Bağlanma	60 °C	30 sn
		Uzama	72 °C	1 sn
Melting Döngüsü	1	Denatürasyon	95 °C	0 sn
		Bağlanma	65 °C	15 sn
		Melting	95 °C	0 sn

3.2.5.6. Real Time PCR'da Kullanılan Örnekler

Pozitif kontrol olarak r18S, negatif kontrol olarak H₂O, Md-ETR1 ve Md-CTR1 primerleri kullanılmıştır.

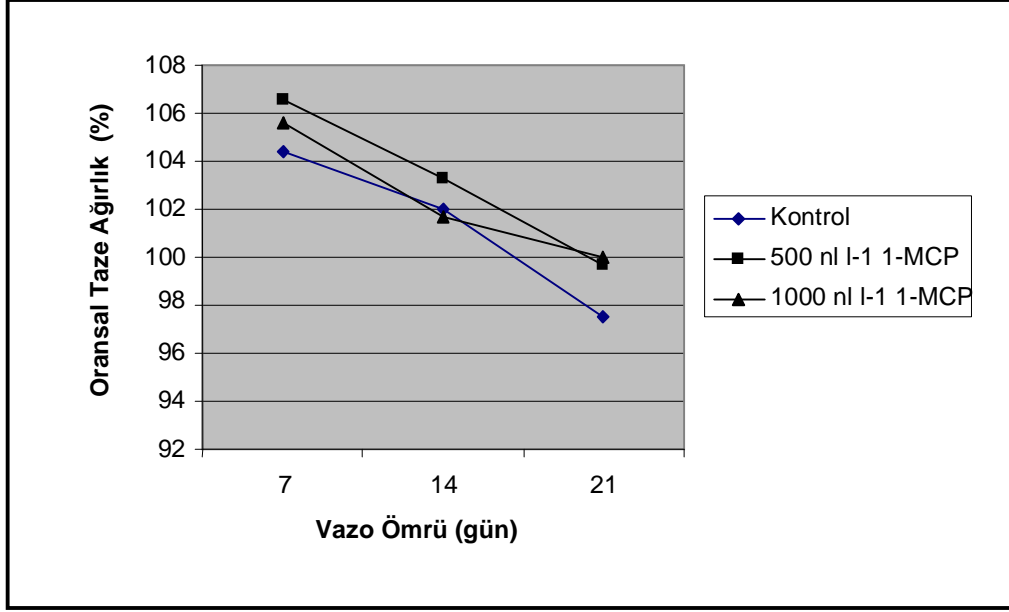
4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Fiziksel Analizler

4.1.1. Oransal Taze Ağırlık Miktarındaki Değişimler

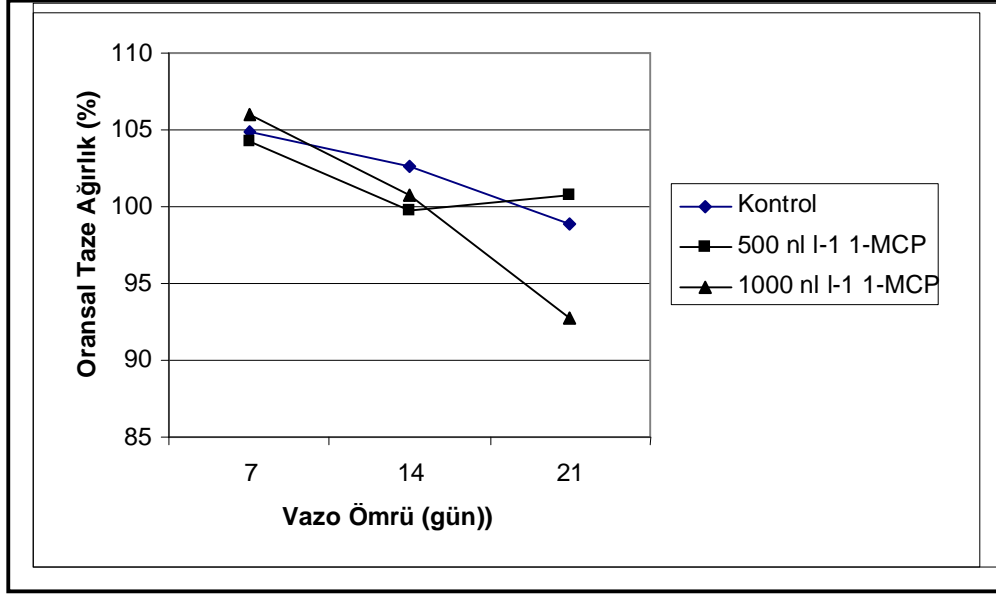
Farklı 1-MCP dozu uygulanmış, ardından soğuk hava deposunda yaş depolanması gerçekleştirilmiş karanfillerde muhafaza sırasında tüm uygulamalarda oransal taze ağırlık değişimleri 7. gün, 14. gün, 21. gün olmak üzere 3 hafta boyunca takip edilmiştir.

Şekil 4.1' de *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' çeşidinin üç farklı 1-MCP uygulamasında oransal taze ağırlık değişimleri verilmiştir. Yaş depolama sırasında tüm uygulamalarda oransal taze ağırlık (%) değerinde azalma olduğu gözlenmiştir. 21. gün yaş depolama süresince oransal taze ağırlıkta, 500 nl/l 1-MCP uygulaması ve kontrol sürekli azalan değer alırken, 1000 nl/l 1-MCP grubunda da sürekli bir azalma olmasına rağmen diğer iki uygulama grubuna göre artış olduğu görülmüştür.



Şekil 4.1. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza sırasında oransal taze ağırlık (%) değişimleri

Şekil 4.2'de *Dianthus caryophyllus* 'Natila' çeşidinin üç farklı 1-MCP uygulamasında oransal taze ağırlık değişimleri verilmiştir. Yaş depolama sırasında oransal taze ağırlık (%) değerinde, kontrol ve 1000nl/l 1-MCP gruplarında sürekli azalma olduğu gözlemlenmiştir. 500 nl/l 1-MCP grubunda ise 21. güne kadar bir azalma gözlenirken, 21. günden itibaren artış görülmüştür.



Şekil 4. 2. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza sırasında oransal taze ağırlık (%) değişimleri

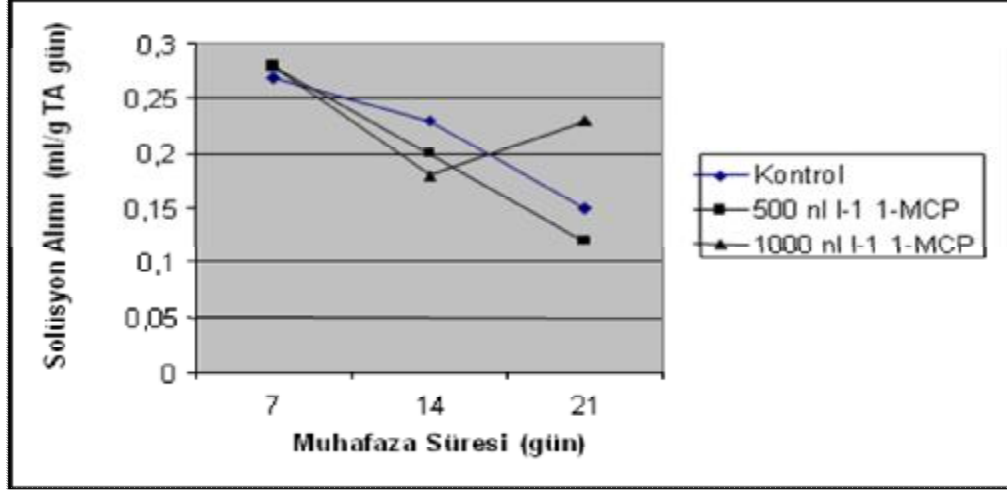
Demircioğlu, (2010) gül bitkisine 1-MCP uygulaması yaptığı çalışmasında 1-MCP nin farklı dozlarının uygulanması sonucunda elde edilen oransal taze ağırlık verilerinde sürekli bir azalış olduğunu belirtmiştir. Hassan ve ark., (2005) kesme karanfillere 1-MCP'nin farklı dozlarını uygulamışlar, taze ağırlık oranında kontrole göre artış gözlemişler. En iyi sonuç 0.5 gm l MCP 6 saatlik muamelede bulmuşlardır. Yapılan bu çalışmada genel olarak oransal taze ağırlık verilerinde benzer şekilde azalışlar gözlenirken yalnızca 'Natila' çeşidinin 500 nl/l 1-MCP uygulamasında belli bir oranda artış görülmüştür. Bu sonuçların genel olarak her iki çalışmada da paralel olduğu gözlenmiştir.

4.1.2. Vazo Suyu Alınımındaki Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış karanfillerde muhafaza sırasında tüm uygulamalarda solüsyon alımı 7. gün, 15. gün, 21.gün olmak üzere 3 hafta boyunca takip edilmiştir.

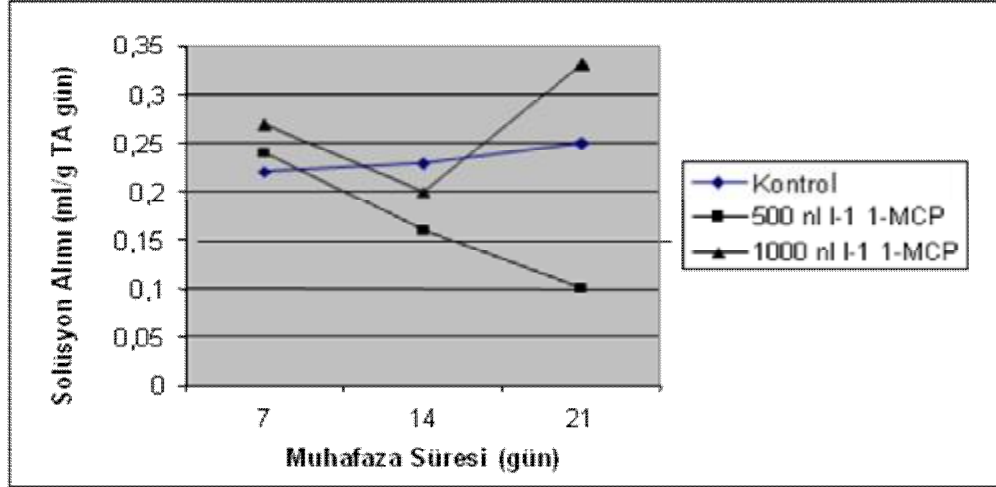
Şekil 4.3'de *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' çeşidinin üç farklı 1-MCP uygulamasında solüsyon alımına ait grafik verilmiştir. Yaş depolama sırasında

solüsyon alımı değerlerinde kontrol ve 500 nl/l 1-MCP gruplarında azalma gözlenirken, 1000nl/l 1-MCP grubu 14. günden itibaren artış göstermiştir.



Şekil 4.3. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza süresi içinde solüsyon alımı (ml/gün.g taze ağırlık) değişimleri

Şekil 4.4'de *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da üç farklı 1-MCP uygulamasında solüsyon alımı verilmiştir. Yaş depolama solüsyon alımı değerlerinde 500 nl/l 1-MCP gruplarında azalma gözlenmişken, diğer iki grupta ise sürekli bir artış gözlemlenmiştir. 1000 nl/l 1-MCP grubunda 14. günden itibaren, kontrole göre daha çok artış gözlenmiştir.



Şekil 4.4. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza süresi içinde solüsyon alımı (ml/gün.g taze ağırlık) değişimleri

Bu çalışmada vazo suyu alımı verileri incelendiğinde her iki çeşitte de 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında ciddi oranlarda artışlar olduğu gözlenmiştir. Ancak diğer doz ve kontrol gruplarında düzenli bir düşüşün olduğu gözlemlenmiştir. Demircioğlu, (2010) yaptığı çalışmasında gül bitkisine farklı dozlarda 1-MCP uygulamış ve 3 haftalık periyot süresince vazo suyu alınımında düzenli bir düşüşün olduğunu bildirmiştir. Chamani, (2006) yaptığı çalışmada kesme gül bitkisine 5 µl 1-MCP uygulamasında vazo suyu alımının kontrole göre arttığını bildirmiştir. Obsuwan ve ark, (2007), yaptıkları çalışmada kontrol, 250, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP dozu uygulamışlar, solüsyon alımının kontrol haricinde yüksek çıktığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar yapılan bu çalışma ile kısmen uyumlu çıkmıştır.

4.1.3. Çiçek Yaprak Rengindeki Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış karanfillerde muhafaza sonunda yaprak rengi 12. saat, 24. saat, 3. gün, 6. gün, 10. gün, 15. gün, 21. gün olmak üzere yedi zaman diliminde ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.1'de *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da yaprak rengi değişim sonuçları verilmiştir. Ortalamalara bakıldığında 500 nl/l 1-MCP'de yaprak renginin en iyi düzeyde olduğu gözlenmiştir.

'Amelia' çeşidinde çiçek yaprağı için yapılan renk ölçümleri muhafaza süresi açısından %5 önem seviyesinde farklılık göstermezken, kontrol, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki olarak farklılık bulunmuştur (kontrol(**ab**), 500 nl/l(**a**), 1000nl/l(**b**)). Yaprak rengi, uygulamalar arasında 500nl/l 1-MCP uygulamasında yeşil rengin korunduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da yaprak rengi değişim sonuçları (h^o)

Uygulama	12.saat	24.saat	3.gün	6.gün	10.gün	15.gün	21.gün	Ort.
Kontrol	45,48	48,61	48,68	47,01	44,21	43,69	47,54	46,46
500 nl/l 1-MCP	47,28	48,68	49,01	41,02	44,91	47,33	47,08	46,47
1000 nl/l 1-MCP	43,49	45,26	47,78	47,74	47,20	43,63	45,88	45,85

Çizelge 4.2'de *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da yaprak rengi değişim sonuçları verilmiştir. Ortalamalara bakıldığında 1000 nl/l 1-MCP'de yaprak renginin en iyi düzeyde olduğu saptanmıştır.

'Natila' çeşidinde çiçek yaprağı için yapılan renk ölçümlerinde muhafaza süresi ve 1-MCP uygulamaları açısından %5 önem seviyesinde farklılık bulunmamıştır. . Demircioğlu (2010) yaş depolama yapmış olduğu güllerde, yaprak renk değişiminde uygulama ve muhafaza süresi farklılıklarını istatistiksel olarak önemli bulmamıştır.

Çizelge 4.2. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da yaprak rengi değişim sonuçları (h^o)

Uygulama	12.saat	24.saat	3.gün	6.gün	10.gün	15.gün	21.gün	Ort.
Kontrol	48,87	49,86	49,50	52,70	48,90	48,90	50,80	49,93
500 nl/l 1-MCP	51,02	50,62	50,30	48,40	49,00	47,00	50,10	49,49
1000 nl/l 1-MCP	48,78	50,00	48,70	51,40	52,00	50,10	49,90	50,13

Çalışma kapsamında çiçek yaprak renginin belirlenmesine yönelik yapılan analizler sonucundaki veriler değerlendirildiğinde, değerlerin her 3 uygulamada ve 3

haftalık muhafaza periyodu boyunca da birbirine çok yakın olduğu tespit edilmiş ve bu sonuçların muhafaza açısından olumlu olduğu düşünülmüştür. JIANG ve ark., (2002) kişniş bitkisine 100 ve 1000 nl/l 1-MCP dozları uygulamışlar. Yaprak renginde her iki grupta önemli bir artışın olmadığını gözlemişlerdir. Bu sonuçlar yapılan bu çalışma ile kısmen uyumlu çıkmıştır.

4.1.4. Çiçek Taç Yaprak Rengindeki Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış karanfillerde muhafaza sonunda yaprak rengi 12. saat, 24. saat, 3. gün, 6. gün, 10. gün, 15. gün, 21. gün olmak üzere yedi zaman diliminde ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.3’de *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’da taç yaprak rengi değişim sonuçları verilmiştir. Ortalamalara bakıldığında 500 nl/l 1-MCP’de taç yaprak renginin en iyi düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da taç yaprak rengi değişim sonuçları (h^o)

Uygulama	12.saat	24.saat	3.gün	6.gün	10.gün	15.gün	21.gün	Ort.
Kontrol	46,13	46,30	46,41	46,47	46,33	46,62	46,43	46,38
500 nl/l 1-MCP	46,21	46,22	46,78	46,61	46,63	46,53	46,56	46,51
1000 nl/l 1-MCP	46,23	46,35	46,38	46,45	46,38	46,70	46,46	46,42

Bu çalışmada ‘Amelia’ çeşidinin çiçek taç yaprak renk ölçümleri sonucunda elde edilen değerleri, farklı 1-MCP dozu uygulamaları açısından istatistiki olarak %5 önem seviyesinde farklılık göstermezken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**b**), 24.saat(**ab**), 3.gün(**a**), 6.gün(**a**), 10.gün(**a**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 12. ve 24.saat hariç diğer zamanlarda taç yaprak renk değişimi değerleri aynı grupta yer almıştır. Demircioğlu (2010) yaş depolama yapmış olduğu güllerde taç yaprak rengi değeri üzerine yapılan

uygulamaların etkileri önemli bulunmazken, muhafaza zamanının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.4’de *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da taç yaprak rengi değişim sonuçları verilmiştir. Ortalamalara bakıldığında 1000 nl/l 1-MCP’de taç yaprak renginin en iyi düzeyde olduğu gözlemlenmiştir.

‘Natila’ çeşidinde çiçek taç yaprağı için yapılan renk ölçümlerinde muhafaza süresi ve 1-MCP uygulamaları açısından %5 önem seviyesinde farklılık bulunamamıştır.

Çizelge 4.4. *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da taç yaprak rengi değişim sonuçları (h°)

Uygulama	12.saat	24.saat	3.gün	6.gün	10.gün	15.gün	21.gün	Ort.
Kontrol	44,19	44,6	43,80	43,90	44,30	44,07	43,75	44,09
500 nl/l 1-MCP	44,03	43,00	46,70	43,60	43,71	43,91	43,90	44,12
1000 nl/l 1-MCP	44,05	44,5	43,80	44,16	46,38	44,09	44,31	44,47

Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin muhafaza süresi boyunca yapılan taç yaprak renginin belirlenmesi analizleri sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde, bu değerlerin her iki çeşit içinde ve her uygulama arasında 3 haftalık muhafaza süresi boyunca çok benzer çıktıkları görülmüştür. Bu sonuçlarla 3 haftalık muhafaza süresinin taç yapraklarda herhangi bir deformasyona yol açmadığı saptanmıştır.

4.1.5. Çiçek Çanak Yaprak Rengindeki Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış karanfillerde muhafaza sonunda yaprak rengi 12. saat, 24. saat, 3. gün, 6.gün, 10.gün, 15.gün, 21. gün olmak üzere yedi zaman diliminde ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.5’de *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da çanak yaprak rengi değişim sonuçları verilmiştir. Ortalamalara

bakıldığında 500 n/l 1-MCP’de çanak yaprak renginin en iyi düzeyde olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.5. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da çanak yaprak rengi değişim sonuçları (h°)

Uygulama	12.saat	24.saat	3.gün	6.gün	10.gün	15.gün	21.gün	Ort.
Kontrol	53,70	53,60	53,95	53,52	53,54	53,53	53,40	53,61
500 n/l/1-MCP	53,71	53,82	57,7	54,04	53,01	53,61	53,42	54,19
1000 n/l/1-MCP	46,13	53,83	53,67	53,78	53,54	53,63	53,39	52,57

‘Amelia’ çeşidinin çiçek çanak yaprak renk ölçümleri sonucunda farklı 1-MCP dozu uygulamaları açısından istatistiki olarak %5 önem seviyesinde farklılık göstermezken, muhafaza süresi açısından istatistiki olarak farklılık tespit edilmiştir (12.saat(**b**), 24.saat(**a**), 3.gün(**a**), 6.gün(**a**), 10.gün(**a**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 12.saat hariç diğer zamanlarda çanak yaprak renk değişimi değerleri aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 4.6’da *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da çanak yaprak rengi değişim sonuçları verilmiştir. Ortalamalara bakıldığında kontrol grubunda çanak yaprak renginin en iyi düzeyde olduğu saptanmıştır.

‘Natila’ çeşidinde çiçek çanak yaprağı için yapılan renk ölçümlerinde muhafaza süresi ve 1-MCP uygulamaları açısından %5 önem seviyesinde farklılık bulunamamıştır.

Çizelge 4.6. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da çanak yaprak rengi değişim sonuçları (h^o)

Uygulama	12.saat	24.saat	3.gün	6.gün	10.gün	15.gün	21.gün	Ort.
Kontrol	54,08	49,9	54,16	54,18	54,00	59,56	54,05	54,28
500 nl/l 1-MCP	53,90	53,90	54,08	54,04	53,90	53,90	54,10	54,00
1000 nl/l 1-MCP	54,13	54,18	54,00	54,24	54,00	53,45	53,80	54,00

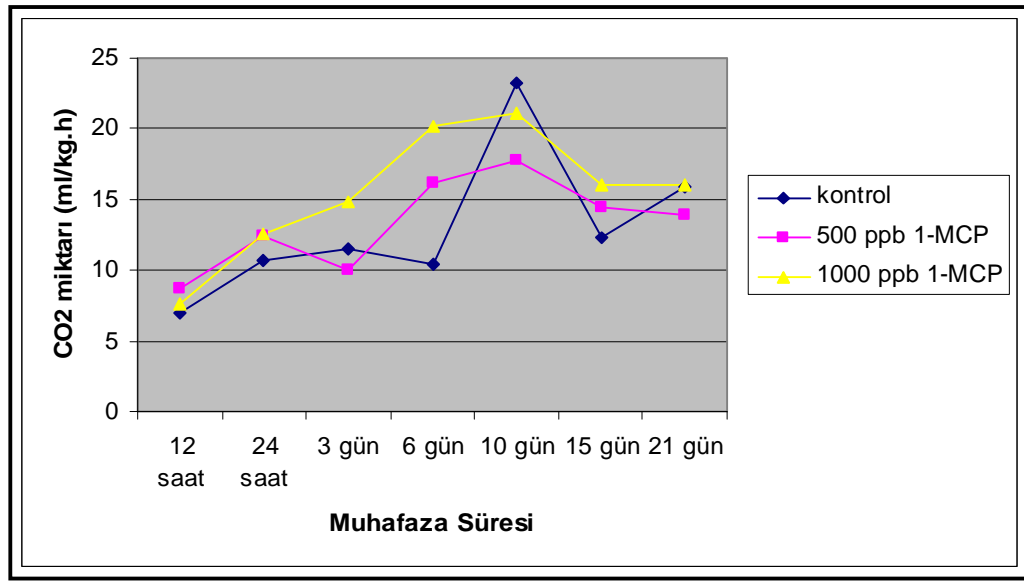
Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin muhafaza süresi boyunca yapılan çanak yaprak renginin belirlenmesi analizleri sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde, bu değerlerin her iki çeşit içinde ve her uygulama arasında 3 haftalık muhafaza süresi boyunca çok benzer çıktıkları görülmüştür. Bu sonuçlarla 3 haftalık muhafaza süresinin çanak yapraklarda herhangi bir soruna yol açmadığı belirlenmiştir.

4.1.6. Solunum Hızındaki Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış karanfillerde muhafaza sonunda solunum hızı 12. saat, 24. saat, 3. gün, 6.gün, 10.gün, 15.gün, 21. gün olmak üzere yedi zaman diliminde ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.7'de *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza süresi sonunda solunum hızı değerleri verilmiştir. 10. ve 21. günlerde solunum hızında artış değer alınırken, 12. ve 24. saatlerde solunum hızı diğer muhafaza sürelerine göre azalan değer almıştır. 1000 nl/l 1-MCP grubunda, kontrol ve 500 nl/l 1-MCP grubuna göre solunum hızı artmıştır (Şekil 4.5). Uygulamalar ve muhafaza zamanları arasında istatistiksel olarak farklılıklar önemli bulunmuştur. Muhafaza zamanı istatistiki olarak incelendiğinde; 12.saat(**d**), 24.saat(**c**), 3.gün(**c**), 6.gün(**b**), 10.gün(**a**), 15.gün(**bc**), 21.gün(**b**) şeklinde bulunmuştur. Uygulamalar ise kontrol(**b**), 500 nl/l(**b**), 1000 nl/l(**a**) şeklindedir. İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde kontrol ve 500 nl/l 1-MCP uygulaması aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 4.7.Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (%)

Amelia	Muhafaza Süresi (Gün)							Ortalama
	12 saat	24 saat	3 gün	6 gün	10 gün	15 gün	21 gün	
Uygulama Kontrol	7,00	10,73	11,50	10,39	23,23	12,37	15,85	13,01
500 ppb 1-MCP	8,68	12,40	9,99	16,12	17,82	14,42	13,93	13,34
1000 ppb 1-MCP	7,67	12,58	14,82	20,22	21,10	16,07	16,08	15,51



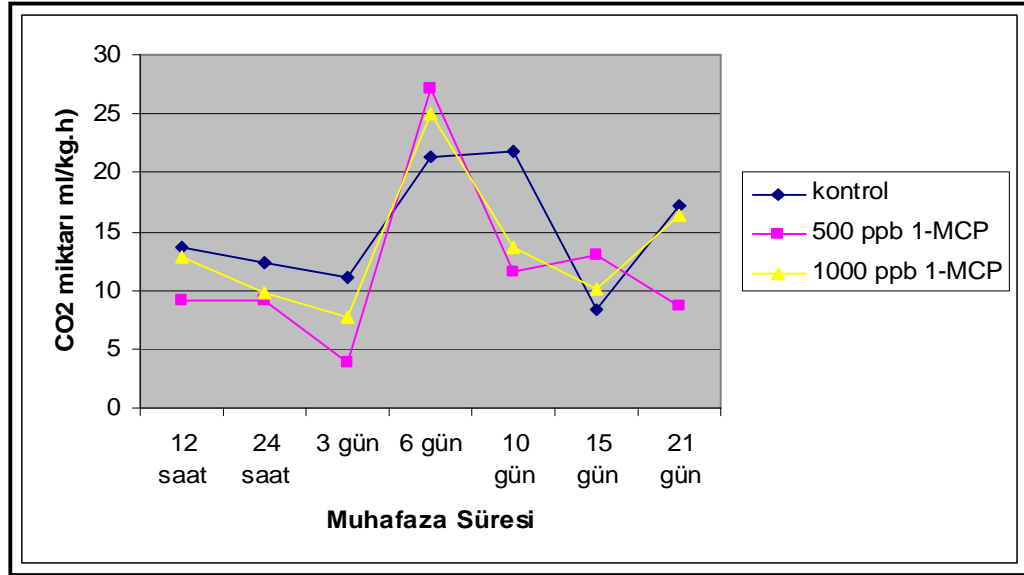
Şekil 4.5. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (CO₂ miktarı ml/kg.h) değişimleri

Çizelge 4.8'de *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza süresi sonunda solunum hızı değerleri verilmiştir. 6. günde solunum hızında artış olurken, 24. saat ve 3. günde solunum hızı diğer muhafaza sürelerine göre azalan değer almıştır. Kontrol grubunda, 500 nl/l 1-MCP ve 1000 nl/l 1-MCP grubuna göre solunum hızı daha çok artış göstermiştir (Şekil 4.6). Uygulamalar ve muhafaza zamanları arasında istatistiksel olarak farklılıklar önemli bulunmuştur. Muhafaza zamanı istatistiki olarak incelendiğinde; 12.saat(**cd**), 24.saat(**d**), 3.gün(**e**), 6.gün(**a**), 10.gün(**b**), 15.gün(**d**), 21.gün(**bc**) şeklinde bulunmuştur. Uygulamalar ise kontrol(**a**), 500 nl/l(**a**),

1000 nl/l(b) şeklindedir. İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde kontrol ve 500 nl/l 1-MCP uygulamasında aynı grupta yer alırken, zamanlar farklı grupta yer almıştır.

Çizelge 4.8.Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (%)

Natila Uygulama	Muhafaza Süresi (Gün)							Ortalama
	12 saat	24 saat	3 gün	6 gün	10 gün	15 gün	21 gün	
Kontrol	13,58	12,31	11,12	21,30	21,79	8,30	17,17	15,08
500 ppb 1-MCP	9,18	9,16	3,93	27,05	11,58	12,94	8,67	11,78
1000 ppb 1-MCP	12,84	9,78	7,74	25,07	13,58	10,18	16,38	13,65
Ortalama	11,87	10,41	7,59	24,47	15,65	10,47	14,07	



Şekil 4.6. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan solunum hızı (CO₂ miktarı ml/kg.h) değişimleri

Bu çalışmada solunum hızına ait veriler irdelendiğinde her iki çeşitte de yaş depolama süresince farklılıklar olduğu herhangi bir doğrusal düşüş ya da artışın gözlenmediği belirlenmiştir. Çelikel ve Reid (2002), yaptıkları çalışmalarında bu çalışmada elde edilen bulguların aksine günebakan ve gerbera kesme çiçeklerinde solunum hızının muhafaza süresine paralel olarak artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

4.1.7. Etilen Üretimindeki Değişimler

Çiçek etilen üretim miktarı için çiçekler tartılıp 700 mL hacimdeki ağzı gaz sızdırmaz silikon ile kapatılan cam kavanozda yarım saat bekletilerek, süre sonunda silikonun içinden gaz sızdırmaz bir şırınga ile çekilen 1 mL hava Gaz Kromotografisine enjekte edilmiştir. Elde edilen pikler, 100 ppm saf etilen standardından elde edilen piklerle karşılaştırılmış ve hesaplamalar ppm olarak Agilent marka Interface yardımı ile bilgisayar ortamında yapılmıştır. Ancak farklı 1-MCP dozu uygulanmış yaş depolanmış karanfillerde depolama sonrası ve vazo ömrü sonunda etilen üretimi saptanamamıştır.

Bu çalışmada karanfil örneklerinin içerisinde bulunduğu kavanozlardan örneklenen havada etilen üretiminin saptanamamasının nedenleri arasında, yarım saat bekleme süresinin yetersiz olması, örnek miktarının azlığı ve ilgili genlerin proteine dönüşüm miktarlarının gaz kromotografisinde gözlenemeyecek kadar az olması sayılabilir. Demircioğlu, (2010) yaptığı çalışmada güllere 1-MCP uygulamış ve uygulama sonucunda yaptığı analizlerde herhangi bir etilen üretiminin olmadığını gaz kromotografi analizleri ile göstermiştir. Son ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada karanfil bitkilerine 1-MCP uygulamışlar ve 1-MCP'nin etilen biyosentezinden sorumlu olan ACC-oksidad enziminin inhibitörü olarak görev yaptığını belirtmişler ve etilen biyosentezinin özellikle petallerde gerçekleşmediğini bildirmişlerdir.

4.1.8. Koku ve Görsel Kalitedeki Değişimler

Koku ve görsel kalitedeki değişimlere ait veriler, farklı 1-MCP dozu uygulanmış yaş depolanmış karanfil bitkilerinde, muhafaza süresince ve vazo ömründe gözlemlenmiştir. Depolama sürecince ve sonrası vazo ömründe tüm uygulamalarda görsel kalite ve kokunun haftalar bazında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.9'da farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza süresince görsel kalitede 21. gün sonunda çok iyi durumda (5) olduğu gözlenmiştir (Şekil

Çizelge 4.9. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan görsel kalite değişimleri

Amelia	Muhafaza Süresi							Ortalama
Uygulama	12 saat	24 saat	3 gün	6 gün	10 gün	15 gün	21 gün	
Kontrol	5,00	5,00	5,00	4,00	4,00	4,00	5,00	4.60
500 n/l 1-MCP	5,00	5,00	5,00	4,00	4,00	4,00	5,00	4.60
1000 n/l 1-MCP	5,00	5,00	5,00	4,00	5,00	3,00	5,00	4.60
Ortalama	5,00	5,00	5,00	4,00	4.33	3.70	5,00	

Çizelge 4.10'da farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza süresince koku değişiminde 21. gün sonunda (0) kokusuz olarak kalmıştır. En belirgin koku 12 saatlik muhafaza süresinde elde edilmiştir.

Çizelge 4.10. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da muhafaza sonunda saptanan koku değişimleri

Amelia	Muhafaza Süresi							Ortalama
Uygulama	12 saat	24 saat	3 gün	6 gün	10 gün	15 gün	21 gün	
Kontrol	4,00	3,00	3,00	0	0	0	0	3.34
500 n/l 1-MCP	4,00	3,00	4,00	0	0	0	0	3.70
1000 n/l 1-MCP	4,00	3,00	3,00	3,00	0	0	0	4.33
Ortalama	4,00	3,00	3.34	1,00	0	0	0	



Şekil 4.7. *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da A, B, C)12.saat, D, E, F) 24.saat, G, H, 3.gün, J, K, L) 6.gün, M, N, O) 10.gün, P, R, S) 15.gün, T, U, V) 21.gün sonunda saptanan görsel kalite değişimleri

Çizelge 4.11’de farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza süresince görsel kalitede (5) çok iyi durumdan 24. saatte görsel kalite (4) iyi, 3. ve 6. günde görsel kalite (3) orta durumda kalmıştır. 21. günde görsel kalite (4) iyi durumda kalmıştır. Birçok araştırmacı 20-25 °C arasında ve 12-24 saat arasında 1-MCP’nin etkili olacağını saptamışlardır (Blankenship 2001, Nell ve ark., 2000) Bu çalışmada 20 °C’de 24 saat uygulanan 1-MCP, muhafaza süresi sonunda karanfiller için herhangi olumsuz bir durumun oluşmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.11. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan görsel kalite değişimleri

Natila	Muhafaza Süresi							Ortalama
	12 saat	24 saat	3 gün	6 gün	10 gün	15 gün	21 gün	
Uygulama								
Kontrol	5,00	4,00	3,00	3,00	4,00	4,00	4,00	3.90
500 nl/l 1-MCP	5,00	4,00	3,00	3,00	5,00	5,00	4,00	4.11
1000 nl/l 1-MCP	5,00	4,00	3,00	3,00	4,00	4,00	4,00	3.90
Ortalama	5,00	4,00	3,00	3,00	4.33	4.33	4,00	

Çizelge 4.12 de farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza süresince muhafaza süresince koku değişiminde 21. günde 500 nl/l 1-MCP ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında (2) zayıf, kontrol uygulamasında (0) kokusuz olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8).

Çizelge 4.12. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da muhafaza sonunda saptanan koku değişimleri

Natila	Muhafaza Süresi							Ortalama
	12 saat	24 saat	3 gün	6 gün	10 gün	15 gün	21 gün	
Uygulama								
Kontrol	4,00	3,00	3,00	3,00	0	0	0	1.86
500 nl/l 1-MCP	4,00	3,00	3,00	3,00	2,00	2,00	2,00	2.71
1000 nl/l 1-MCP	4,00	3,00	3,00	3,00	2,00	2,00	2,00	2.71
Ortalama	4,00	3,00	3,00	3,00	1.44	1.44	1.44	



Şekil 4.8. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da A, B, C)12.saat, D, E, F) 24.saat, G, H, I) 3.gün, J, K, L) 6.gün, M, N, O) 10.gün, P, R, S) 15.gün, T, U, V) 21.gün sonunda saptanan görsel kalite değişimleri

4.1.9. Vazo Ömründe Koku ve Görsel Kalitedeki Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış yaş depolanmış karanfillerde vazo ömründe görsel kalite değişimi *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da Çizelge 4.13'de verilmiştir. Görsel kalitenin vazo ömründe azaldığı gözlemlenmiştir. 9. günde kontrol (2) kötü, 500 nl/l ve 1000nl/l 1-MCP uygulamalarında (3) orta durumunda kalmıştır.

Çizelge 4.13. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da vazo ömründe görsel kalite değişimi

Amelia	Vazo Ömrü (gün)			Ortalama
	3	6	9	
Uygulamalar	3	6	9	
Kontrol	3,00	3,00	2,00	2.70
500 nl/l 1-MCP	4,00	4,00	3,00	3.70
1000 nl/l 1-MCP	5,00	4,00	3,00	4,00
Ortalama	4,00	3.70	2.70	

Çizelge 4.14'de farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da vazo ömründe koku değişimi 9. günde 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında (2) zayıf, kontrol ve 500 nl/l 1-MCP uygulamasında (0) kokusuz olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.14. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da vazo ömründe koku değişimi

Amelia	Vazo Ömrü (gün)			Ortalama
	3	6	9	
Uygulamalar	3	6	9	
Kontrol	0	0	0	0
500 nl/l 1-MCP	1,00	1,00	0	0.70
1000 nl/l 1-MCP	3,00	3,00	2,00	2.70
Ortalama	1.33	1.33	0.70	

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış yaş depolanmış karanfillerde vazo ömründe görsel kalite değişimi *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da Çizelge 4.15' de verilmiştir. 9. gün sonunda kontrol ve 500 nl/l 1-MCP uygulamasında (3) orta, 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında (2) kötü durumda kalmıştır.

Çizelge 4.15. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da vazo ömründe görsel kalite değişimi

Natila Uygulamalar	Vazo Ömrü (gün)			Ortalama
	3	6	9	
Kontrol	4,00	4,00	3,00	3.70
500 n/l 1-MCP	4,00	4,00	3,00	3.70
1000 n/l 1-MCP	3,00	3,00	2,00	2.70
Ortalama	3.70	3.70	2.70	

Çizelge 4.16'de farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* L.'in sprej 'Natila' çeşidinde vazo ömründe en iyi koku değişimi 3. günde 1000 n/l 1-MCP uygulamasında gözlenmiştir. 9. gün sonunda tüm uygulamalarda 1: çok zayıf durumunda kalmıştır.

Çizelge 4.16. Farklı 1-MCP dozu uygulanmış ve yaş depolanmış *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da vazo ömründe koku değişimi

Natila Uygulamalar	Vazo Ömrü (gün)			Ortalama
	3	6	9	
Kontrol	3,00	2,00	1,00	2,00
500 n/l 1-MCP	3,00	2,00	1,00	2,00
1000 n/l 1-MCP	4,00	2,00	1,00	2.30
Ortalama	3.33	2,00	1,00	

Tez kapsamında kullanılan her iki karanfil çeşidi için görsel kalite ve koku kriterleri sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, görsel kalitede uygulama sonunda herhangi bir kayıp yaşanmadığı ancak kokuda azalmalar meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak karanfil bitkilerinde 1-MCP uygulaması sonucunda görsel kalitede 3 haftaya varan sürede herhangi bir sorun oluşmadığı belirlenmiş olup, bu sonucun ticari anlamda olumlu olabileceği düşünülmüştür. Davood ve ark., (2000) karanfilde yaptıkları çalışmada vazo ömrüne 1-MCP'nin konsantrasyon etkisinin, uygulama süresine göre daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışma bu sonuç ile benzerlik göstermektedir.

4.1.10. Kumpas ile Yapılan Ölçümlerde Gözlenen Değişimler

Farklı 1-MCP dozu uygulanmış yaş depolanmış karanfiller tek tek incelenerek depolama sürecince ve sonrası kumpas ile petal en ve boy, gonca en ve boy, çiçek çapı ölçümleri saptanmıştır. Aşağıdaki Çizelelerde değerler sunulmuştur.

Dianthus caryophyllus 'Amelia' da kontrol uygulamasında kumpas ölçüm sonuçlarında petal en ve boy son uygulama zamanına kadar artmış, 21. günde en yüksek değerde, gonca en ve boy azalma ve artış gözlenmiş, en iyi sonuç 3. gün ve 24. saatte, çiçek çapı son uygulama zamanına kadar artmış 21. günde en yüksek değerde bulunmuştur.

Dianthus caryophyllus 'Amelia' da 500 nl/l 1-MCP uygulamasında kumpas ölçüm sonuçlarında en iyi sonuçlar petal en ve boy ölçümlerinde 10. gün ve 15. günde, çiçek çapı 15. günde gözlenmiştir. Gruplardan rastgele seçim yapıldığı için son uygulama zamanına kadar artıp azalan gonca en ve boy ölçümlerinde 3. gün ve 15. günde en iyi sonuçlar gözlenmiştir.

Dianthus caryophyllus 'Amelia' da 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında kumpas ölçüm sonuçlarında petal en-boy ve çiçek çapı ölçüm değerleri son uygulama zamanına kadar artmış, 21. günde en yüksek değere, ulaşmıştır. Gonca en ve boy ölçüm değerleri uygulama sonunda azalma gözlenmiştir.

Dianthus caryophyllus 'Amelia' da tüm uygulamaların ortalamalarına bakıldığında petal en ölçümü 15. günde, petal boy ölçümü 15. günde, gonca en ölçümü 12. saatte, gonca boy ölçümü 15. günde, çiçek çapı ölçümü 21. günde en yüksek değerde saptanmıştır.

Çizelge 4.17. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 12. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	19,89	41,83	16,19	40,66	35,22
500 n/l/ 1-MCP	20,78	38,56	16,56	40,61	27,75
1000 n/l/ 1-MCP	21,52	41,62	15,20	43,92	37,47
Ortalama	20,73	40,70	16,00	41,73	33,50

Çizelge 4.18. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 24. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	21,78	43,38	15,77	42,3	26,31
500 n/l/ 1-MCP	19,87	34,60	16,81	34,26	22,03
1000 n/l/ 1-MCP	19,53	38,71	15,86	39,86	25,63
Ortalama	20,40	39,00	16,15	38,81	21,32

Çizelge 4.19. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 3. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	20,41	39,59	17,33	38,53	31,20
500 n/l/ 1-MCP	21,05	38,54	18,12	39,67	23,80
1000 n/l/ 1-MCP	20,94	38,92	17,28	38,34	25,81
Ortalama	20,80	30,01	17,58	38,85	26,94

Çizelge 4.20. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 6. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	23,63	47,34	16,9	38,24	37,11
500 n/l/ 1-MCP	20,95	42,51	16,36	39,54	33,20
1000 n/l/ 1-MCP	21,80	43,00	14,50	41,28	39,25
Ortalama	22,13	44,28	15,92	39,69	48,89

Çizelge 4.21. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 10. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	21,00	43,93	14,57	39,76	32,02
500 n/l/ 1-MCP	26,08	50,66	16,51	44,47	39,13
1000 n/l/ 1-MCP	24,00	45,81	15,30	41,00	42,00
Ortalama	23,70	46,80	15,46	41,74	42,01

Çizelge 4.22. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 15. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni(mm)	Petal Boyu(mm)	Gonca Eni(mm)	Gonca Boyu(mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	26,11	47,55	16,22	40,72	49,01
500 n/l/ 1-MCP	28,13	53,57	16,94	44,54	56,31
1000 n/l/ 1-MCP	25,04	51,00	19,22	42,81	51,12
Ortalama	26,43	50,71	17,46	42,69	52,15

Çizelge 4.23. *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da 21. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	26,18	51,10	15,44	38,03	60,86
500 n/l 1-MCP	25,42	47,27	15,93	40,83	49,00
1000 n/l 1-MCP	26,18	51,13	16,60	39,20	54,20
Ortalama	25,93	49,83	15,99	39,35	54,69

‘Amelia’ çeşidinde petal en ölçümlerinde kontrol, 500 ve 1000 n/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**b**), 24.saat(**b**), 3.gün(**b**), 6.gün(**b**), 10.gün(**ab**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 15. ve 21. gün aynı grupta yer almıştır.

‘Amelia’ çeşidinde petal boy ölçümlerinde kontrol, 500 ve 1000 n/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**cd**), 24.saat(**d**), 3.gün(**d**), 6.gün(**bc**), 10.gün(**ab**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 15. ve 21. gün aynı grupta yer almıştır.

‘Amelia’ çeşidinde gonca en ölçümlerinde kontrol, 500 ve 1000 n/l 1-MCP uygulamalar arasında ve muhafaza süreleri açısından %5 önem seviyesinde istatistiki olarak bir fark tespit edilememiştir.

‘Amelia’ çeşidinde gonca boy ölçümlerinde de kontrol, 500 ve 1000 n/l 1-MCP uygulamalar arasında ve muhafaza süreleri açısından %5 önem seviyesinde istatistiki olarak bir fark saptanamamıştır.

‘Amelia’ çeşidinin çiçek çapı ölçümleri, kontrol, 500 ve 1000 n/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**bc**), 24.saat(**c**), 3.gün(**bc**), 6.gün(**b**), 10.gün(**b**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 15. ve 21. gün aynı grupta yer almıştır.

Dianthus caryophyllus ‘Natila’ da kontrol uygulamasında kumpas ölçüm sonuçlarında petal en ve boy son uygulama zamanına kadar artmış, 21. günde en yüksek değere ulaşmış, gonca en ve boyda en iyi sonuç 3. gün ve 15. günde sağlanmış, çiçek çapı ise son uygulama zamanına kadar artmış, 21. günde en yüksek değere ulaşmıştır.

Dianthus caryophyllus ‘Natila’ da 500 nl/l 1-MCP uygulamasında kumpas ölçüm sonuçlarında petal en ve boy son uygulama zamanına kadar artmış, 15. günde en yüksek değere ulaşmış, gonca en ve boyda azalma ve artış gözlenmiş en iyi sonuç 3. gün ve 15.günde sağlanmış, çiçek çapı son uygulama zamanına kadar artmış, 15. günde en yüksek değerde bulunmuştur.

Dianthus caryophyllus ‘Natila’ da 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında kumpas ölçüm sonuçlarında petal en ve boy son uygulama zamanına kadar artmış, 21. günde en yüksek değere ulaşmış, gonca en ve boyda azalma ve artış gözlenmiş, en iyi sonuç 15. gün ve 12. saatte sağlanmış, çiçek çapı son uygulama zamanına kadar artmış, 21. günde en yüksek değerde bulunmuştur.

Dianthus caryophyllus ‘Natila’ da tüm uygulamaların ortalamalarına bakıldığında, petal en 21. günde, petal boy 15.günde, gonca en 3. günde, gonca boy 15. günde, çiçek çapı 21. günde en yüksek değerde saptanmıştır.

Çizelge 4.24. *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da 12. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	19,90	41,83	16,20	40,70	35,22
500 nl/l 1-MCP	20,80	38,60	16,60	40,61	27,80
1000 nl/l 1-MCP	21,52	41,63	15,20	43,92	37,45
Ortalama	20,73	40,70	16,00	41,73	33,50

Çizelge 4.25. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da 24. saat uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	21,80	43,40	15,80	42,40	26,31
500 nl/l 1-MCP	19,90	34,60	16,81	34,30	22,03
1000 nl/l 1-MCP	19,53	38,71	15,90	39,90	25,63
Ortalama	20,40	38,90	27,10	38,90	21,32

Çizelge 4.26. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da 3. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	20,41	39,6	17,33	38,53	31,20
500 nl/l 1-MCP	21,05	38,53	18,12	39,70	23,80
1000 nl/l 1-MCP	20,93	38,92	17,23	38,34	25,81
Ortalama	20,8	39,01	17,60	38,90	26,93

Çizelge 4.27. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da 6. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	23,63	47,34	16,90	38,24	37,11
500 nl/l 1-MCP	21,00	42,51	16,40	39,54	33,20
1000 nl/l 1-MCP	21,80	43,00	14,50	41,28	39,25
Ortalama	22,13	44,30	15,90	39,70	36,52

Çizelge 4.28. *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da 10. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	21,00	43,93	14,60	39,80	32,02
500 nl/l 1-MCP	26,08	50,70	16,51	44,50	39,13
1000 nl/l 1-MCP	24,00	48,81	15,30	41,00	42,00
Ortalama	23,70	47,80	15,50	41,74	37,72

Çizelge 4.29. *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da 15. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	26,10	47,60	16,22	40,72	49,01
500 nl/l 1-MCP	28,13	53,60	16,94	44,54	56,31
1000 nl/l 1-MCP	25,04	51,00	19,22	42,81	51,12
Ortalama	26,42	50,71	17,50	42,70	52,20

Çizelge 4.30. *Dianthus caryophyllus* ‘Natila’ da 21. gün uygulamasında kumpas ölçüm sonuçları

Uygulamalar	Petal Eni (mm)	Petal Boyu (mm)	Gonca Eni (mm)	Gonca Boyu (mm)	Çiçek Çapı (mm)
Kontrol	26,20	51,10	15,50	38,03	61,00
500 nl/l 1-MCP	25,42	47,30	15,93	40,83	49,00
1000 nl/l 1-MCP	26,20	51,13	16,60	39,20	54,20
Ortalama	25,93	49,83	16,00	39,35	54,70

‘Natila’ çeşidinin petal en ölçümleri kontrol, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**b**), 24.saat(**b**), 3.gün(**b**), 6.gün(**b**), 10.gün(**ab**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 15. ve 21. gün aynı grupta yer almıştır.

'Natila' çeşidinin petal boy ölçümleri de, kontrol, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**cd**), 24.saat(**d**), 3.gün(**d**), 6.gün(**cd**), 10.gün(**ab**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 15. ve 21. gün aynı grupta yer almıştır.

Natila' çeşidinin gonca en ölçümleri, kontrol, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**ab**), 24.saat(**ab**), 3.gün(**a**), 6.gün(**ab**), 10.gün(**b**), 15.gün(**ab**), 21.gün(**ab**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 3. gün diğer zamanlardan farklı grupta yer almıştır.

'Natila' çeşidinin gonca boy ölçümlerinde, kontrol, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamaları ve muhafaza süreleri açısından %5 önem seviyesinde istatistiki olarak bir fark tespit edilememiştir.

'Natila' çeşidinin çiçek çapı ölçümleri ise kontrol, 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında istatistiki açıdan önemli bulunmazken, muhafaza süresi açısından önemli bulunmuştur (12.saat(**bc**), 24.saat(**c**), 3.gün(**bc**), 6.gün(**b**), 10.gün(**b**), 15.gün(**a**), 21.gün(**a**)). İstatistiksel olarak %5 önem seviyesinde 15. ve 21. gün aynı grupta yer almıştır.

4.2. Moleküler Çalışmalar

4.2.1. Real Time PCR Analizi Sonuçunda Elde Edilen Veriler

Hasat sonrası, birçok kesme çiçeğin etilen salgılanmasından dolayı ömrü kısalmır (Reid ve Wu, 1992). Kesme karanfiller etilene karşı oldukça duyarlıdır (Wolthering ve Van Doorn, 1998). Süs bitkilerinde etilen inhibitörü olarak son yıllarda 1-MCP kullanılmaktadır. 1-MCP, etilenin bağlanma noktalarına bağlanarak, etilenin etkisini azaltmaktadır (Blankenship ve Dole, 2003; Watkins, 2006).

Etilen yüksek yapıllı bitkilerdeki tüm dokularda L-metiyonin'den sentezlenir. Etilen biyosentezindeki iki anahtar enzim ACC sentaz ve ACC oksidaz' dır. Etilen

sentezi sırasında belirli aşamalarda ETR1, ERS1, CTR1, EIN3 gibi pozitif ve negatif gen reseptörleri aktif olmaktadır. ETR1 reseptör ailesi, etilenin olmadığı durumlarda direkt olarak CTR1 ile interaksiyona girerek onu aktif hale getirir. Aktive olmuş CTR1 ise etilen cevabını ortadan kaldırır. CTR1 etilen cevabına negatif regülatördür (Kieber ve ark., 1993).

Dianthus caryophyllus ‘Amelia’ ve ‘Natila’ da farklı dozlardaki 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 ve ETR1 genlerinin ifadesinin miktarı Real Time PCR analizleri sonucunda belirlenmiş ve aşağıdaki Çizelgelerde bu değerler sunulmuştur.

Çizelge 4.31’de *Dianthus caryophyllus* ‘Amelia’ da farklı dozlardaki 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 gen ifadesinin miktarı, muhafaza süresince saat ve günler arasında farklılıklar göstermiştir. Kontrol gruplarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $6,7 \times 10^3$ kop/ml olarak 24. saatte, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $1,1 \times 10^4$ kop/ml olarak 12. saatte bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $85,16 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 3.günde, en düşük ise $77,53 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 6.günde saptanmıştır. Kontrol grubunda CTR1 gen ifadesinin her uygulama zamanında gerçekleştiği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

‘Amelia’ çeşidinin 500 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $7,7 \times 10^4$ kop/ml olarak 24. saatte, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar 1×10^2 kop/ml olarak 10.günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $86,42 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 21.günde, en düşük ise $76,68 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 15.günde saptanmıştır. 500 nl/l 1-MCP uygulamasında CTR1 gen ifadesinin 12. saatte gerçekleşmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

Amelia’ çeşidinin 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar 6×10^0 kop/ml olarak 3. günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $1,8 \times 10^3$ kop/ml olarak 21.günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $82,66 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 6.günde, en düşük ise $77,12 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 3.günde saptanmıştır. 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında CTR1 gen ifadesinin 24. saatte gerçekleşmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

Amelia' çeşidinin kontrol grubunda 12. saatte gen miktarı olduğu halde 12 saatte 500 n/l 1-MCP uygulaması ile 24. saatte 1000 n/l 1-MCP uygulamasında gen miktarı bulunamamıştır.

Çizelge 4.31. *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 geninin ifadesinin miktarı

CTR1 Geni	<i>Dianthus caryophyllus</i> L. in sprej 'Amelia' çeşidinin ekspresyon düzeyleri kop/ml	Sıcaklık (°C) Tm1 değeri
12. saat kontrol	1,1x 10 ⁴	77,61
12. saat 500 n/l 1-MCP	negatif	-
12. saat 1000 n/l 1-MCP	4x 10 ⁴	80,84
24. saat kontrol	6,7x 10 ³	77,63
24. saat 500 n/l 1-MCP	7,7x 10 ⁴	78,64
24. saat 1000 n/l 1-MCP	negatif	-
3. gün kontrol	3,4x 10 ²	85,16
3. gün 500 n/l 1-MCP	4,2x 10 ²	77,28
3.gün 1000 n/l 1-MCP	6x 10 ⁰	77,12
6.gün kontrol	7x 10 ²	77,53
6.gün 500 n/l 1-MCP	5x 10 ¹	76,92
6.gün 1000 n/l 1-MCP	4x 10 ³	82,66
10. gün kontrol	5,7x 10 ³	77,68
10. gün 500 n/l 1-MCP	1x 10 ²	79,03
10. gün 1000 n/l 1-MCP	2,6x 10 ³	77,73
15.gün kontrol	5,6x 10 ⁰	77,69
15. gün 500 n/l 1-MCP	1,2x 10 ²	76,68
15. gün 1000 n/l 1-MCP	2,3x 10 ³	78,2
21. gün kontrol	6,1x 10 ³	78,58
21. gün 500 n/l 1-MCP	2,2x 10 ³	86,42
21. gün 1000 n/l 1-MCP	1,8x 10 ³	78,11

Çizelge 4.32'de *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da farklı dozlardaki 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu ETR1 gen ifadesinin miktarı, muhafaza süresince saat ve günler arasında farklılıklar göstermiştir. Kontrol gruplarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar 9,9 x 10¹ kop/ml olarak 21. günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar 9 x 10³ kop/ml olarak 12. saatte

bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek 81,98 °C ile 21.günde, en düşük ise 77,89 °C ile 12.saatte saptanmıştır. Kontrol grubunda ETR1 gen ifadesi sadece 12.saate ve 21.günde Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

'Amelia' çeşidinin 500 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $9,8 \times 10^1$ kop/ml olarak 6.günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $1,3 \times 10^4$ kop/ml olarak 12.saatte bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek 85,19 °C ile 6.günde, en düşük ise 81,88 °C ile 12.saatte saptanmıştır. 500 nl/l 1-MCP uygulamasında ETR1 gen ifadesi 3.günde, 10.günde, 15.günde, ve 21.günde gerçekleştirmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

Amelia' çeşidinin 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $6,7 \times 10^2$ kop/ml olarak 15. günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $1,7 \times 10^4$ kop/ml olarak 3.günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek 88,14 °C ile 12.saate, en düşük ise 76,48 °C ile 21.günde saptanmıştır.1000 nl/l 1-MCP uygulamasında ETR1 gen ifadesinin 24. saate ve 10.günde gerçekleştirmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir

Amelia' çeşidinde 24.saatin kontrol ve 1000 nl/l 1-MCP grubunda, 3.günün kontrol ve 500 nl/l 1-MCP uygulamasında, 10.günün tüm uygulamalarında,15.günün kontrol ve 500 nl/l 1-MCP uygulamasında, 21.günün 500 nl/l 1-MCP uygulamasında gen miktarı bulunamamıştır.

Çizelge 4.32. *Dianthus caryophyllus* 'Amelia' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu ETR1 geninin ifadesinin miktarı

ETR1	<i>Dianthus caryophyllus</i> L.'in sprey 'Amelia' çeşidinin ekspresyon düzeyleri kop/ml	Sıcaklık (°C) Tm1 değeri
12. saat kontrol	9x 10 ³	77,89
12. saat 500 n/l 1-MCP	1,3x 10 ⁴	81,88
12. saat 1000 n/l 1-MCP	2,2x 10 ²	88,14
24. saat kontrol	negatif	negatif
24. saat 500 n/l 1-MCP	3,4x 10 ³	83,28
24. saat 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif
3. gün kontrol	negatif	negatif
3. gün 500 n/l 1-MCP	negatif	negatif
3.gün 1000 n/l 1-MCP	1,7x 10 ⁴	82,16
6.gün kontrol	negatif	negatif
6.gün 500 n/l 1-MCP	9,8x 10 ¹	85,19
6.gün 1000 n/l 1-MCP	1,9x 10 ³	80,98
10. gün kontrol	negatif	negatif
10. gün 500 n/l 1-MCP	negatif	negatif
10. gün 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif
15.gün kontrol	negatif	negatif
15. gün 500 n/l 1-MCP	negatif	negatif
15. gün 1000 n/l 1-MCP	6,7x 10 ²	84,01
21. gün kontrol	9,9x 10 ¹	81,98
21. gün 500 n/l 1-MCP	negatif	negatif
21. gün 1000 n/l 1-MCP	3,2x 10 ²	76,48

Çizelge 4.33'de *Dianthus caryophyllus* 'Natile' da farklı dozlardaki 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 gen ifadesinin miktarı, muhafaza süresince saat ve günler arasında farklılıklar göstermiştir. Kontrol gruplarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar 9,9 x 10² kop/ml olarak 12.saatte, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar 1,3 x 10³ kop/ml olarak 6. günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek 78,29 °C ile 6.günde, en düşük ise 77,08 °C ile 12.saatte saptanmıştır. Kontrol

grubunda CTR1 gen ifadesi sadece 21.günde Real Time PCR analizlerinde bulunamamıştır.

'Natila' çeşidinin 500 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $8,9 \times 10^1$ kop/ml olarak 12.saatte, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $1,3 \times 10^4$ kop/ml olarak 15.günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $88,83$ °C ile 3.günde, en düşük ise $77,58$ °C ile 15.günde saptanmıştır. 500 nl/l 1-MCP uygulamasında CTR1 gen ifadesi 21.günde gerçekleşmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

'Natila' çeşidinin 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $9,6 \times 10^3$ kop/ml olarak 24.saatte, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar 1×10^3 kop/ml olarak 12.saatte bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $88,47$ °C ile 6.günde, en düşük ise $77,44$ °C ile 3.günde saptanmıştır 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında CTR1 gen ifadesinin 21.günde gerçekleşmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir

'Natila' çeşidinde 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen miktarı bulunamamıştır.

Çizelge 4.33. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 geninin ifadesinin miktarı

CTR1 Geni	<i>Dianthus caryophyllus</i> L.'in sprej 'Natila' çeşidinin ekspresyon düzeyleri kop/ml	Temperature (°C) Tm1 değeri
12. saat kontrol	9,9x 10 ²	77,08
12. saat 500 n/l 1-MCP	8,9x 10 ¹	82,92
12. saat 1000 n/l 1-MCP	1x 10 ³	88,46
24. saat kontrol	4,6x 10 ³	77,98
24. saat 500 n/l 1-MCP	6,7x 10 ⁴	77,72
24. saat 1000 n/l 1-MCP	9,6x 10 ³	78,43
3. gün kontrol	3,8x 10 ¹	77,15
3. gün 500 n/l 1-MCP	4,4x 10 ³	88,83
3.gün 1000 n/l 1-MCP	2,6x 10 ²	77,44
6.gün kontrol	1,3x 10 ³	78,29
6.gün 500 n/l 1-MCP	6,9x 10 ³	88,19
6.gün 1000 n/l 1-MCP	1,9x 10 ²	88,47
10. gün kontrol	7,3x 10 ²	78,04
10. gün 500 n/l 1-MCP	2,1x 10 ³	77,76
10. gün 1000 n/l 1-MCP	1,5x 10 ³	82,89
15.gün kontrol	1,5x 10 ³	77,61
15. gün 500 n/l 1-MCP	1,3x 10 ³	77,58
15. gün 1000 n/l 1-MCP	7,5x 10 ²	77,62
21. gün kontrol	negatif	negatif
21. gün 500 n/l 1-MCP	negatif	negatif
21. gün 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif

Çizelge 4.34'de *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da farklı dozlardaki 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu ETR1 gen ifadesinin miktarı, muhafaza süresince saat ve günler arasında farklılıklar göstermiştir. Kontrol gruplarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar 4,1 x 10³ kop/ml olarak 10.günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar 1,1 x 10⁴ kop/ml olarak 3.günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek 86,92 °C ile 24.saatte, en düşük ise 81,53 °C ile 15.günde saptanmıştır. Kontrol grubunda CTR1 gen ifadesi sadece 6.günde ve 21.günde Real Time PCR analizlerinde bulunamamıştır.

'Natila' çeşidinin 500 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $6,9 \times 10^2$ kop/ml olarak 3.günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $1,3 \times 10^4$ kop/ml olarak 24.saatte bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $85,42 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 24.saatte, en düşük ise $79,35 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 12.saatte saptanmıştır. 500 nl/l 1-MCP uygulamasında CTR1 gen ifadesi 21.günde gerçekleşmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir.

'Natila' çeşidinin 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen ifadesinin en yüksek olduğu miktar $4,8 \times 10^2$ kop/ml olarak 3.günde, gen ifadesinin en düşük olduğu miktar $2,1 \times 10^3$ kop/ml olarak 6.günde bulunmuştur. Tm1 sıcaklık değeri saatler ve günler arasında artıp azalarak en yüksek $87,07 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 6.günde, en düşük ise $85,18 \text{ }^\circ\text{C}$ ile 3.günde saptanmıştır 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında CTR1 gen ifadesinin 12.saatte, 10.günde, 15.günde ve 21.günde gerçekleşmediği Real Time PCR analizlerinde gözlenmiştir

'Natila' çeşidinde 1000 nl/l 1-MCP uygulamalarında gen miktarı bulunamamıştır.

Çizelge 4.34. *Dianthus caryophyllus* 'Natila' da farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu ETR1 geninin ifadesinin miktarı

ETR1 Geni	<i>Dianthus caryophyllus</i> L.'ın sprej 'Natila' çeşidinin ekspresyon düzeyleri kop/ml	Temperature (°C) Tm1 değeri
12. saat kontrol	3,4x 10 ²	81,83
12. saat 500 n/l 1-MCP	4,3x 10 ²	79,35
12. saat 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif
24. saat kontrol	3,1x 10 ⁴	86,92
24. saat 500 n/l 1-MCP	1,3x 10 ²	85,42
24. saat 1000 n/l 1-MCP	2,2x 10 ³	87,04
3. gün kontrol	1,1x 10 ⁴	82,5
3. gün 500 n/l 1-MCP	6,9x 10 ²	85,41
3.gün 1000 n/l 1-MCP	4,8x 10 ²	85,18
6.gün kontrol	negatif	negatif
6.gün 500 n/l 1-MCP	3,2x 10 ³	83,6
6.gün 1000 n/l 1-MCP	2,1x 10 ³	87,07
10. gün kontrol	4,1x 10 ³	86,9
10. gün 500 n/l 1-MCP	4,2x 10 ⁴	81,75
10. gün 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif
15.gün kontrol	3,1x 10 ⁴	81,53
15. gün 500 n/l 1-MCP	2x 10 ³	83,11
15. gün 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif
21. gün kontrol	negatif	negatif
21. gün 500 n/l 1-MCP	negatif	negatif
21. gün 1000 n/l 1-MCP	negatif	negatif

Bu çalışmada kullanılan Real-Time PCR yönteminde yalnızca çift sarmallı DNA'ya bağlandıklarında floresan ışımalar veren bir boya olan Syber Green kullanılmıştır. Syber Green sadece çift sarmallı DNA'ya bağlanıp amplifikasyon olduğu sürece floresan ışımalar yaymaktadır. Fakat bazı çalışmalarda kontaminasyon ya da istenmeyen bağlanmalardan kaynaklanan amplifikasyonlar ortaya çıkmaktadır. Syber Green bu bağlanmaları da amplifikasyon olarak verdiği için bazen yanlış sonuçlara neden olmaktadır. Bu çalışmada yanlış bağlanmadan ya da kontaminasyondan kaynaklanan amplifikasyon olup olmadığından emin olmak için

örneklerin *Tm* değerlerine de bakılmıştır. CTR1 ve ETR1 için spesifik olan *Tm* değerleri yanlış bağlanmalar sonucu oluşan hedef dışı amplifikasyonların olup olmadığının tespitinde önemlidir. ‘Amelia’ çeşidinde CTR1’e ait ortalama melting değeri 79,03 °C, ETR1’de ise bu değer 82,2 °C’dir. ‘Natila’ çeşidinde CTR1’e ait ortalama melting değeri ise 80,7 °C, ETR1’de bu değer 84,11 °C ‘dir. Tez kapsamında 1-MCP nin farklı dozlarının karanfil bitkilerine uygulanması sonucunda bitkisel materyallerden 3 haftalık muhafaza süresince farklı saat ve günlerde petal örnekleri alınmış ve bu dokularda etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 ve ETR1 genlerine ait ifade miktarları Real Time PCR analizleri ile belirlenmiştir. Analizler sonucunda CTR1 genine ait ifade miktarı genel olarak ETR1 geninin ifade miktar değerlerinden daha yüksek bulunmuştur. DAL CIN ve ark., (2006)’nın yapmış oldukları çalışmada, şeftali (*Prunus persica* L. Batsch cv. ‘Summer Rich’) ve elmaya (*Malus x domestica* L. Borkh cv. ‘Golden Delicious’) 1-MCP’yi (1 μ LL⁻¹) 20 °C’de, 24 saat boyunca uygulamış ve solunum oranı, etilen üretimi ve meyve sertliği ile birlikte ACC sentaz, ACC oksidaz, *ETRI*, *ERS1* ve *CTR1* gen ekspresyon örneklerini hasat sonrası dönemde değerlendirmişlerdir. 1-MCP uygulaması elmada olgunlaşmayı geciktirmede etkili olurken, şeftalide bu kimyasalın sınırlı bir etkisi olduğunu gözlemişlerdir. Etilen biyosentezini baskılamak ve ACS gen ekspresyonunu teşvik etme, elmada 1-MCP uygulaması ile sağlanmış, fakat 1-MCP uygulanmamış kapağı kapalı hava içeren kavanozdaki iki kontrol uygulaması arasında şeftalide farklılık gözlenmemiştir. Yapılan bu tez çalışmasında ise 1-MCP’in farklı dozları karanfil bitkilerine uygulanmış, uygulama sonrasında morfolojik ve moleküler olarak yapılan incelemelerde muhafaza süresince tüm uygulamalardaki karanfil bitkilerinin herhangi bir zarar görmediği ve 21 günlük muhafaza sonunda karanfil bitkilerinin canlılıklarını ve ticari olarak satılabilecek durumlarını korudukları görülmüştür. Bu sonuçlara dayanarak 21 günlük muhafaza süresince 1-MCP uygulamasının çok büyük bir oranda etkili olmadığı görülmüş ve 1-MCP’nin etkilerini görebilmek için muhafaza süresinin daha da uzatılabileceği anlaşılmıştır. Aynı şekilde moleküler düzeyde yapılan incelemelerde ETR1 ve CTR1 genlerinin ifade durumlarında da çok büyük farklılıklar olmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle karanfil bitkilerinde muhafaza süresinin uzatılması durumunda 1-MCP’nin

olası etkileri 21 günlük muhafaza süresinden daha uzun zaman dilimlerinde incelenmelidir. DAL CIN ve ark., (2006) yaptıkları çalışmalarında şeftali bitkilerine uyguladıkları 1-MCP'nin kontrol ve uygulama gruplarında bir farklılık yaratmadığını belirtmişlerdir. Bu durum yapılan bu tez çalışmasında benzerlik göstermektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada karanfil türüne ait ‘Amelia’ ve ‘Natila’ ticari çeşitlerine 1-MCP’nin iki farklı dozu uygulanmış ve bu uygulamalara ek olarak herhangi muamelenin yapılmadığı kontrol grubu da oluşturulmuştur. Denemenin kurulmasının ardından 12. ve 24. saatlerde 3., 6., 10., 15. ve 21. günlerde karanfil bitkilerinden petal örnekleri alınarak Real-Time PCR analizleri için saklanmıştır. Muhafaza sonrasında tüm uygulamaların fiziksel analizleri gerçekleştirilmiştir. Oransal taze ağırlıkta, muhafaza süresi ilerledikçe yaş depolanmış karanfillerde vazo ömründe genel olarak azalan değerler gözlenmiştir. Vazo ömrü sırasında oransal taze ağırlığın ‘Amelia’ çeşidinin ‘Natila’ çeşidine göre daha az oranda olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalara bakıldığında oransal taze ağırlık açısından en önemli artış ‘Natila’ ve ‘Amelia’ çeşitlerinde 500 n/l 1-MCP uygulamasında olduğu görülmüştür.

Vazo suyu alınımı değerleri incelendiğinde, yaş depolanmış karanfillerde muhafaza sırasında ve muhafaza sonrası vazo ömründe genel olarak azalan değerlerin varlığı tespit edilmiştir. Depolama öncesi ve sonrası vazo ömrü ve vazo suyu alınım değerinde her iki çeşitte 14. günden itibaren 1000 n/l 1-MCP grubunda, kontrol grubuna göre daha çok artış olduğu gözlenmiştir.

Yaprak renginin, farklı 1-MCP dozu uygulanmış karanfillerde depolama sonrasında ve vazo ömründe tüm uygulamalarda muhafaza ilerledikçe azalan değerler aldığı görülmüştür. 1-MCP uygulamalarında ‘Amelia’ çeşidinde ‘Natila’ çeşidine göre daha çok renk kaybı olduğu görülmüştür.

Taç yaprak renginin depolama sonrasında ve vazo ömründe tüm uygulamalar açısından, muhafaza ilerledikçe azalan değerler aldığı görülmüştür. Muhafaza sonunda ‘Amelia’ çeşidinde ‘Natila’ çeşidine göre daha az renk kaybı olduğu belirlenmiştir.

Çanak yaprak renginin, depolama sonrasında ve vazo ömründe tüm uygulamalarda muhafaza ilerledikçe ilk günkü renginden farklı olmadığı tespit edilmiştir. Muhafaza sonunda ‘Natila’ çeşidinde ‘Amelia’ çeşidine göre renk değerlerine dayalı olarak renklenenin daha canlı olduğu gözlenmiştir.

Solunum hızının, depolama sonrasında ve vazo ömründe tüm uygulamalarda muhafaza ilerledikçe artan değerler aldığı görülmüştür. 1-MCP'nin tüm uygulamalarında kontrol gruplarına göre solunum hızının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Muhafaza sonunda 'Amelia' ve 'Natila' çeşidinde 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında, 500 nl/l 1-MCP uygulamasına göre solunum hızı artmıştır.

1-MCP'nin farklı dozlarının uygulandığı karanfil bitkilerinde depolama sonrasında ve vazo ömründe herhangi bir etilen üretiminin gerçekleşmediği gaz kromatografi yöntemiyle belirlenmiştir,

Koku ve görsel kalite değerlerinde ise depolama sonrasında ve vazo ömründe tüm uygulamalarda muhafaza ilerledikçe değişkenlikler belirlenmiştir. 'Amelia' çeşidinde vazo ömründe tüm uygulamalarda baştaki vazo ömrünün devamı olarak görsel kalite ilk günkü görünümünde olmasına rağmen, vazo ömründe tüm uygulamalarda baştaki vazo ömrünün devamı olarak kokuda azalmalar olduğu görülmüş ve muhafaza sonunda hiç koku kalmadığı anlaşılmıştır. 'Natila' çeşidinde vazo ömründe tüm uygulamalarda baştaki vazo ömrünün devamı olarak görsel kalitede ve kokuda azalmalar olduğu görülmüştür. Muhafaza sonunda 500 ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında az da olsa kokunun varlığı belirlenmiştir.

Vazo ömründe koku ve görsel kalitedeki depolama sonrası tüm uygulamalarda muhafaza ilerledikçe azalmalar olduğu tespit edilmiştir. Koku ve görsel kalitedeki en iyi sonuç 'Amelia' çeşidinde 1000 nl/l 1-MCP uygulamasında görülmüştür.

Kumpas ile yapılan ölçümlerde, depolama sonrası tüm uygulamalarda muhafaza ilerledikçe değişkenliklerin olduğu gözlenmiştir.

Dianthus caryophyllus 'Amelia' ve 'Natila' çeşidinde farklı 1-MCP uygulamasından sonra etilen biyosentezinden sorumlu CTR1 ve ETR1 genlerinin ifadesinin miktarı değişkenlik göstermiştir. Muhafaza sonunda Real Time PCR ile yapılan çalışmada her iki çeşitte etilen biyosentezinden sorumlu negatif regülatör CTR1 gen miktarı, pozitif regülatör ETR1 gen miktarından daha çok bulunmuştur.

Üç haftalık muhafaza süresince *Dianthus caryophyllus* L.'in sprej 'Amelia' ve 'Natila' çeşidinde 500 nl/l 1-MCP ve 1000 nl/l 1-MCP uygulamasının yaş depolama süresince vazo ömründe çok büyük bir farklılık yaratmadığı görülmüştür.

Farklı 1-MCP uygulanmış ‘Amelia’ ve ‘Natila’ çeşitlerinde 21 gün yaş depolama yapılabileceği bulunmuş ve bu gün sayısının daha da arttırılabileceği belirlenmiştir.

Sonuç olarak uygulamalar arasında çok büyük farklılıkların olmadığı sonucuna dayanarak, kullanılan 1-MCP dozlarının yüksek değerler olabileceği ve bu değerlerin düşürülerek yeni denemelerin kurulabileceği düşünülmektedir. Sisler ve ark.’ları 1996 yılında yaptıkları çalışmada 2.5 n/l 1-MCP’nin yeterli olduğunu savunmuşlardır. Çalışma sonucunda karanfil bitkilerinin canlılıklarını koruması sebebi ile 21 günlük muhafaza süresinin uzatılabileceği ve bu süre içerisinde aynı analizlerin yapılmasının gerekli olduğu fikrine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- ABADI, D.H., KAVIANI, B., HOOR, S.S., TORKASHVAND, A.M., ZAREI, R.
2009. Quality management of cut carnation 'Tempo' with 1-MCP.
African Journal of Biotechnology Vol. 8 (20).
- ALAGÖZ, Z., ALAGÖZ, F. ve YILMAZ, E. 2006. Antalya Bölgesinde Karanfil Yetiştirilen Sera Topraklarının Bazı Verimlilik Özelliklerinin Belirlenmesi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2006, 19 (1), 123-129.
- ANONİM, 2005. EU Market Survey Cut Flowers and Foliage, Centre For Promotion Of Imports from Developing Countries. <http://www.cbi.nl>
- ANONİM, 2004. Türkiye'de Kesme Çiçek Üretimi, Sorunları ve Çözüm Yolları CD'si, Dr. Savaş TİTİZ.
- BESEMER, S.T., 1980. Carnations. In: Introduction to Floriculture, Editor: Roy A.Larson Academic Press. Inc. New York.
- BLANKENSHIP, S (2001). Ethylene effects and the benefits of 1-MCP. Perishables Handling Quarterly, 108: 2-4.
- BLANKENSHIP, S.M. and DOLE, J.M., 2003. 1-Methycyclopropene: a review. Postharvest Biyolog and Technology, 28, 1-25.
- BOZTOK, Ş., GÜNEY, A., ÇOKUYSAL, B., 1996. Çin karanfil'inin Farklı Yetiştirme Ortamlarında Vegetatif ve Generatif Gelişimi Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33 (1), 71-75, İzmir.
- CHAMANI, E., KHALIGHI, A., JOYCE, D. C., IRVING, D.E., ZAMANI, Z. A., MOSTOFI, Y. and KAFI, M. 2005. Ethylene and anti-ethylene treatment effects on cut First Red rose. Journal of Applied Horticulture, 7 1: 3-7.
- CHAMANI, E., 2006. Effect of TDZ, 1-MCP NO₂, STS and ethylene on physiochemical characteristics of cut rose First Red, Ph.D. thesis, Dept. Horticult. Sci. Univ. Of Tehran, Iran
- CHANG, C. and STADLER, R., 2001. Ethylene hormone receptor action in Arabidopsis. Bioessays 23, 619-627.

- ÇELİKEL, F.G. and REİD, M.S., 2002. Storage temperature affects the quality of cut flowers from the Asteraceae. HortScience, 37 (1), 148-150.
- ÇELİKEL, F.G. and REİD, M.S., 2008. Use of 1-Methylcyclopropene in Ornamentals: Carnations as a Model System for Understanding Mode of Action. Hortscience Vol. 43(1) February 2008
- DAL CIN, V., RIZZINI, F.M., BOTTON, A., TONUTTI, P. 2006. The ethylene biosynthetic and signal transduction pathways are differently affected by 1-MCP in apple and peach fruit. Department of Environmental Agronomy and Crop Science, University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro, Padova, Italy. Postharvest Biology and Technology 42 (2006) 125-133.
- DEMİRCİOĞLU, H. 2010. Kesme Gülde (*Rosa hybrida* First Red) Farklı 1-MCP Dozu Uygulamalarının ve Farklı Depolama Koşullarının Vazo Ömrü Üzerinde Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi..
- HADAS, S., GOLAN, O., POSENBERGER, I., SALIM, S., KOCHANNEK, B., MEIR, S. 2003. Efficiency of 1-MCP in neutralizing ethylene effects in cut flowers and potted plants following simultaneous or sequential application. ISHS Acta Horticulturae 669: VIII International Symposium on Postharvest Physiology of Ornamental Plants.
- HASSAN, F. SCHMIDT, G. ANKUSH, J., DOROGI, Z. 2005. Use of silver thiosulphate (STS) and 1-methylcyclopropene (1-MCP) to improve the shelf life of miniature potted rose cv. Amore. Acta Agronomica Hungarica. Volume 52, Number 4. Pages 343-350
- HUANG, Y., LI, H., HUTCHISON, C.E., LASKEY, J., KIEBER, J., J., 2003. Biochemical functional analysis of CTR1, a protein kinase that negatively regulates ethylene signaling in Arabidopsis. The Plant Journal 2003;33:221-233.
- IN, B.C., SON, K.C. And SE, O.H., 2002. Effect of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on the Retardation of Senescence of Cut Carnation Flower. Journal-Korean Society For Horticultural Science.

- JIANG, W., SHENG, Q., ZHOU, X. 2002. Regulation of detached coriander leaf senescence by 1-methylcyclopropene and ethylene. *Postharvest Biol. Technol.* 26: 339-345
- KAZAZ, S., AŞKIN, M.A. ve TEKİNTAŞ, F.E., 2003. Kesme Çiçeklerde Hasat Sonrası Ömrü Arttıran Uygulamalar. IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi- Antalya.
- KAZAZ, S., 2006. Farklı Dikim Sistemleri ve Sıklıklarının Yaz Karanfil Üretiminde Verim ve Kalite Üzerine Etkileri. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Aydın.
- KEPENEK, K. 2002. Karanfil Yetiştiriciliği. Süs Bitkileri Yetiştiriciliği Ders Notları. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Isparta.
- KIEBER, J.J., ROTHENBERG, M., ROMAN, G., FELDMAN, K.A. and ECKER, J.R., 1993. CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in Arabidopsis, encodes a member of the Raf family of protein kinase. *Cell* 72, 427-441.
- KOCABAŞ, I., ÇITAK, S., ÖKTÜREN ASRİ, F., SÖNMEZ, S. ve KAPLANI, M. 2008. Depolanmayan ve Depolanmayan Karanfil Çeliklerine Yapıpraktan Uygulanan Fe-EDTA Gübrelemesinin Karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) Bitkisinin Beslenmesi Üzerine Etkisi OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 23(2):83-91
- NELL, TA., SUZUKI, A., LEONARD, RT. 2000. Developing protocols for cut flower longevity. www.endowment.org/protect/2000/nell99.htm.
- OBSUWAN, K., UTHAIRATANAKIJ, A. 2007. The responses of different cut inflorescence of orchid hybrids to various 1-MCP concentrations. *Acta Hort.* 755: 465-470.
- PHILOSOPH-HADAS, S., GOLAN, O., ROSENBERGER, I., SALIM, S., KOCHANNEK, B. and MEIR, S. 2005. Efficiency of 1-MCP in Neutralizing Ethylene Effects in Cut Flowers and Potted Plants Following Simultaneous or Sequential Application. *Acta Hort. (ISHS)* 669:321-328.

- REID, M., ÇELİKEL, F., MCKAY, A., and HUNTER, D. 2008. Use of 1-MCP on Floral Products. Department of Environmental Horticulture, UC Davis. Issue No.108: 7-9.
- REID, MS. and ÇELİKEL, F.G. 2008. Use of 1-Methylcyclopropene in Ornamentals: Carnations as a Model System for Understanding Mode of Action. HortScience Vol. 43(1) : 95-98.
- REID, MS., WU, M. (1992). Ethylene and flower senescence. Plant Growth Regul. 11: 37-43
- SEREK, M., SISLER, E.C. and REID, M.S. 1994. 1-methylcyclopropene, a Novel Gaseous Inhibitor Of Ethylene Action, Improves The Life Of Fruits, Cut Flowers And Potted Plants. ISHS Acta Horticulturae 394: Plant Bioregulators in Horticulture
- SISLER, E.C., DUPILLE, E. and SEREK, M. 2004. Effect of 1-Methylcyclopropene and Methylenecyclopropane on Ethylene Binding and Ethylene Action on Cut Carnations. Plant Growth Regulation, 18: 79-86.
- SON, KC., IN, BC. and SE, OH. 2003. Effects of 1-Methylcyclopropene on Ethylene Biosynthesis in Carnation Petals Journal-Korean Society For Horticultural Science, FAO. org
- VERES, A., KISS, E., TOTH, A., TOTH, E. and HESZKY, L. 2005. Effect of the Inhibition of Ethylene Biosynthesis on Several Economically Important Traits of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) Journal Article Volume: 37 : 53-61.
- YIXUN, Y. and MANZHU, B. 2004. Carnation Flower Vase Life Prolonged by Transformation with Antisense ACC Oxidase Gene. Acta Horticulturae Sinica, 31: 633-636.
- WATKINGS, C.B. 2006. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. Biotechnology Advances, 24, 389-409
- WOLTHERING, EJ., VAN DOORN, WG. 1998. Role of ethylene in senescence of petals morphological and taxonomical. J. Exp. Bot. 39: 1605-1616

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Kayseri’de doğdu. İlkokul eğitimini Ahmet Baldöktü İlköğretim okulunda, orta ve lise eğitimini TED Kayseri Koleji’nde tamamladı. 2007 yılında Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2008 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.