

**BAZI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN ARMUT VE ERİK
ÇEŞİTLERİNDE ÇİMLENME VE POLEN TÜPÜ UZUNLUĞUNA ETKİLERİ**

Birsen ZEYBEK* (ORCID: 0009-0004-6086-6567)

Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Tekirdağ, Türkiye

Email: birsen.zeybek@tarimorman.gov.tr

Prof. Dr. Zeliha GÖKBAYRAK (ORCID: 0000-0002-0012-9782)**

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Çanakkale,
Türkiye

Email: zgokbayrak@comu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, bitki büyüme düzenleyicilerin ‘October Sun’ (*Prunus salicina* Lindl.) erik, ‘Marguerite de Marillat’ ve ‘Williams’ (*Pyrus communis* L.) armut çeşitlerinde polen çimlenmesi ve polen tüpü uzunluklarına etkilerini belirlemek için yapılmıştır. Araştırma kapsamında temin edilen çiçek örnekleri 2017 yılının ilkbahar sezonunda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi’ne ait Dardanos yerleşkesinde bulunan deneme ve araştırma bahçesinden toplanmıştır. Polen canlılığının tespitinde kullanılan iyotlu potasyum iyodür (IKI) solüsyonu, 10 ml damıtılmış su içinde 0.5 g iyot ve 1 g potasyum iyodürün çözünmesiyle elde edilmiştir. Armut ve erik polenlerinin ideal besin ortamını bulmak amacıyla besin ortamlarında bulunan sakkarozun miktarı %10, %15, %20 ve %25 olacak şekilde yapılan çimlendirme denemeleri neticesinde; çimlenmeyi en iyi %20 sakkarozun bulunduğu (+ %1 agar + 0.5 ppm borik asit) ortam desteklemiştir. ‘October Sun’ erik polenlerinde en yüksek çimlenme oranı kontrolde gözlemlenmiştir. Yapılan uygulamalar arasında en yüksek sonuç, 5 ppm IBA uygulamasından elde edilmiştir. Bununla birlikte, 5 ppm IBA uygulaması polen tüpü uzunluklarının 200 µm’den uzun olmasını sağladığı gözlemlenmiştir. ‘Williams’ armut polenlerinin en yüksek çimlenme oranı, 0.5 ppm EBR, 1 ppm BAP ve 10 ppm GA₃ uygulamalarında belirlenmiştir. Ayrıca, EBR uygulamalarının bu çeşide ait polen tüplerinin uzunluklarını daha çok arttırdığı gözlemlenmiştir. 25 ppm GA₃ ile IBA ve BAP’ın konsantrasyonu arttıkça polenlerin tüp uzunluğunu daha az arttırdığı belirlenmiştir. ‘Marguerite de Marillat’ armut polenlerinde çimlenme oranı %30’un altında kalmıştır. Kontrol uygulaması haricinde, ‘Marguerite de Marillat’ polen tüplerinin 50-200 µm arasında gelişimini destekleyen uygulamalar 0.5-1 ppm EBR, 5-10 ppm IBA ve 2 ppm BAP olmuştur. Polen tüpü uzunluğunu 200 µm’nin üzerine çıkaran bir uygulama gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme Düzenleyicileri, Çimlenme Oranı, Polen Tüpü Uzaması, Erik, Armut

**THE EFFECTS OF SOME PLANT GROWTH REGULATORS ON GERMINATION
AND POLLEN TUBE LENGTH IN PLUM AND PEARS**

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effects of plant growth regulators on pollen germination and pollen tube lengths in 'October Sun' plum (*Prunus salicina* Lindl.) and 'Marguerite de Marillat' and 'Williams' pear (*Pyrus communis* L.) varieties. Flower samples obtained within the scope of the research were collected from the experimental and research orchard belonging to Çanakkale Onsekiz Mart University during the early spring season of 2017 at the Dardanos campus. The IKI (Iodine-Potassium Iodide) solution used for pollen viability assessment was prepared by adding 1 g of potassium iodide and 0.5 g of iodine to 10 ml of distilled water. In order to find the ideal nutrient medium for pear and plum pollens, germination experiments were conducted with varying amounts of sucrose in nutrient mediums, namely 10%, 15%, 20%, and 25%. The results revealed that the best germination occurred in the medium containing 20% sucrose, supplemented with 1% agar and 0.5 ppm boric acid. The highest germination rate for 'October Sun' plum pollens was observed in the control group. Among the applied treatments, the highest result was obtained from the 5 ppm IBA application. Additionally, it was observed that in the 'October Sun' variety, more pollen had pollen tubes longer than 200 µm, facilitated by the 5 ppm IBA application. The highest germination rate for 'Williams' pear pollens was determined in the 0.5 ppm EBR, 1 ppm BAP, and 10 ppm GA₃ applications. Additionally, it was observed that the application most increasing the pollen tube lengths for 'Williams' was EBR. It was determined that as the concentration of 25 ppm GA₃ and IBA and BAP increased, the tube length of pollen increased less. The germination rate for 'Marguerite de Marillat' pear pollens remained below 30%. Except for the control application, the treatments supporting the development of 'Marguerite de Marillat' pollen tubes in the range of 50-200 µm were 0.5-1 ppm EBR, 5-10 ppm IBA, and 2 ppm BAP.

Keywords: Plant Growth Regulators, Germination Ratio, Pollen Tube Length, Plum, Pear

1. GİRİŞ

Erik ve armut yetiştiriciliği Türkiye'de ekonomik olarak önemli bir tarım faaliyetidir. Ancak iklim değişiklikleri, hastalıklar ve tarım uygulamalarındaki değişiklikler, üretimde çeşitli zorluklar ortaya çıkarabilir. Ayrıca yetiştirilen türde dölleme ve meyve tutumunun yüksek olmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bir meyve türünde meyve tutumunun yüksek olmasında polenlerin miktarı, yapısı, canlılığı ve çimlenme oranı gibi özellikler etkili olmaktadır (Bolat ve Gülerüz, 1994; Altunbaş ve Engin, 2016).

Meyve oluşumu için gerekli olan tozlanma ve dölleme süreçlerinde polen ana unsurdur. Polen canlılığı bitkilerin üreme başarısını, genetik çeşitliliği, tohum ve meyve oluşumunu sağlayarak bitkilerin ekosistemdeki rolünü destekler. Bu nedenle, polen canlılığının çeşitli testler aracılığıyla araştırılması gereklidir (Çetin ve Soylu, 2006). Canlılık özelliği yüksek olan polenlerin çimlenme kabiliyetleri, ortamdaki sakkarozun hatta bitki büyümesini düzenleyici maddelerin miktarına ve çevresel koşullara (sıcaklık, nem vs.) bağlı olarak değişiklik gösterir.

Bitki büyüme düzenleyicileri ilk olarak tohumların çimlenmesi ve çeliklerin köklendirilmesi gibi süreçlerde kullanılırken, daha sonra bitki gelişimini teşvik etmek, çiçeklenmeyi düzenlemek, meyve oluşumunu artırmak ve çevresel streslere karşı direnci artırmak gibi amaçlarla kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca bitkilerin hastalıklara ve zararlılara karşı dayanıklılığını artırmak için de bu düzenleyiciler kullanılmaktadır (Aydoğdu ve Boyraz, 2005). Yapılan *in vitro* çalışmalarda bitki büyüme düzenleyicilerin etkileri tek başlarına ve çeşitli kombinasyonlar yapılarak gözlemlenmiştir.

Brassinosteroidler bitkilerin çeşitli büyüme ve gelişim süreçlerini düzenleyen bir grup bitki hormonudur. Bu bileşenler bitki büyümesini önemli ölçüde teşvik eden bitki büyüme düzenleyicileri olarak araştırmalarda önemli bir yer tutmaktadır (Engin ve Gökbayrak, 2022). Brassinosteroidlerin bu çeşitli fonksiyonları bitkilerin yaşamsal süreçlerini düzenlemede kilit bir rol oynadıklarını gösterir. Brassinosteroidler bitkilerin çeşitli büyüme aşamalarında çevresel streslere karşı adapte olmada ve genel sağlıklarını sürdürmede yardımcı olduğundan önemleri her geçen gün artmaktadır (Katel ve ark., 2022). Polen çimlenmesi bitkilerin üreme sürecinde

kritik bir adımdır. Brassinosteroidlerin genellikle bitki büyüme ve gelişimini düzenlediği bilindiğinden, bu hormonun spesifik olarak polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişimi üzerinde de etkileri olabilir.

Sitokininler hücre bölünmesini ve genel büyümeyi uyarır. Polen tüpünün büyümesi ve polen çimlenmesi sırasında hücre bölünmesi önemli bir rol oynar. Bu nedenle, sitokininlerin uygun düzeyde olması polen çimlenmesini olumlu yönde etkileyebilir. Oksinler bitkilerde hücre büyümesi ve gelişmesini düzenleyen bir diğer önemli hormon grubudur. Polen tüpünün doğru bir şekilde büyümesi için oksinlerin düzenli bir şekilde mevcut olması önemlidir. Giberellinler çiçeklenme ve polen gelişimini etkileyen diğer önemli hormonlardır. Yeterli giberellin düzeyleri polen çimlenmesini teşvik edebilir (Kumlay ve Eryiğit, 2011)

Bu çalışmada kullanılan, 'Marguerite de Marillat' ve 'Williams' armut ile 'October Sun' erik çeşitlerinin polenleri *in vitro* koşullarda çimlendirilmiş ve ideal besin ortamı belirlenmiştir. Ayrıca, bitki büyüme düzenleyicilerinden 24-epibrassinolid (EBR), giberellik asit (GA₃), benzil aminopürin (BAP) ve indol bütirik asit (IBA) farklı konsantrasyonlarda besin ortamına eklenmiş ve bu maddelerin polen çimlenmesi ile polen tüpü gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Araştırmanın uygulanabilmesi için gereken çiçek örnekleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi'ne ait Dardanos yerleşkesinde bulunan deneme ve araştırma bahçesinden 2017 yılının ilkbahar döneminde toplanmıştır. Araştırmada 'Williams' ve 'Marguerite de Marillat' armut (*Pyrus communis* L.) ile 'October Sun' erik (*Prunus salicina* Lindl.) çeşitleri kullanılmıştır.

2.1. Polenlerin Elde Edilmesi

Farklı yükseklik ve yöndeki ağaç dallarından henüz açmamış veya açmak üzere olan çiçekler toplanarak, laboratuvarda anterler çiçek saplarından pens yardımıyla ayrılmıştır. Ayrılan

anterler bir kurulama kağıdı üzerine serilerek oda sıcaklığında 24 saat boyunca kurumaları için bekletilmiştir. Polen çimlendirme çalışması öncesinde polenler, ilk olarak 24 saat boyunca +4°C'de bekletilmiş, ardından petri kapları içinde 26±1°C'de iklim odasında 48 saat boyunca bekletilerek patlamaları sağlanmıştır.

2.2. Polen Canlılık Testi

Polen canlılığının belirlenmesinde kullanılan IKI solüsyonu, 1 g potasyum iyodür ve 0.5 g iyot 10 ml damıtılmış suya eklenerek oluşturulmuştur. Elde edilen solüsyon ile kahverengi renkte boyanan polenler canlı, sarı renkte ve saydam görünen polenler ise cansız olarak iki kategoriye ayrılmıştır (Bolat ve Pırlak, 1999). Her çeşit için IKI testinden 1 saat sonra yapılan sayımlar her bir lamda tesadüfi olarak seçilmiş 4 farklı bölgede en az 100 polenin sayılmasını içermiştir. Mikroskop altında (Olympus CX-41), farklı boyama gruplarına ait polenlerin oranları yüzde (%) olarak belirlenmiştir.

2.3. Besin Ortamındaki Sakkaroz Oranının Belirlenmesi

Polen çimlendirme testleri, Eti (1991) tarafından belirtilen *in vitro* koşullarda agar-petri yöntemiyle belirlenmiştir. İlk çimlendirme denemesi armut ve erik polenlerinin ideal besin ortamını belirlemek amacıyla besin ortamlarındaki sakkaroz oranları (%10, %15, %20, %25) değiştirilerek yapılmıştır.

2.4. Polen Çimlendirme Testleri

Besin ortamındaki ideal sakkaroz konsantrasyonu belirlendikten sonra mikropipet yardımıyla ortama bitki büyüme düzenleyici maddeler eklenmiştir. Brassinosteroid bileşiği olan 24-epibrassinolid (EBR) 0.5, 1 ve 2 ppm, giberellik asit (GA₃) 5, 10 ve 25 ppm, sitokinin bileşiği olan benzil aminopürin (BAP) 1, 2 ve 4 ppm ve son olarak bir oksin bileşiği olan indol bütirik asit (IBA) 5, 10 ve 25 ppm konsantrasyonları hazırlanarak ayrı ayrı besin ortamlarına eklenmişlerdir. Kontrol uygulamasının ortamı 100 ml saf suda 1 g agar ve 20 g sakkarozun çözündürülerek 0.5 ppm borik asit ilave edilmesinden oluşmuştur. Çubuk karıştırıcılar yardımı ile homojen dağılımları sağlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlar petrilere yaklaşık 2 mm kalınlığında

ve boşluk kalmayacak şekilde dökülmüştür. Polenlerin ekimi resim fırçası kullanılarak besin ortamına homojen bir şekilde düşecek şekilde yapılmıştır. Ortam tam katılaşmadan önce petri kapaklarına saf su ile nemlendirilmiş iki kat filtre kağıdı ile kaplanmıştır. Hazırlanan petri kapları polenlerin çimlenmesi ve polen tüpü gelişimini izlemek amacıyla $26\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 24 saat boyunca karanlık bir odada muhafaza edilmiştir. Çimlenme süresince filtre kağıtları kurudukça, saf su ile nemlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. 24 saatlik çimlenme süresinin ardından, her petri kabında çimlenen polenler 10x büyütmeli bir mercek yardımıyla rastgele seçilmiş dört farklı bölgede en az 100 polen sayılarak, tespit edilmiştir. Çimlenen polenlerin oranları yüzde (%) olarak belirlenmiştir. Işık mikroskopunda (Olympus CX-41) 40x büyütmeli mercek ile LC Micro programı kullanılarak fotoğraflama işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.5. Polen Tüpü uzunluğunun belirlenmesi

Polen ekimi işleminden 24 saat sonra, ışık mikroskopunun (Olympus CX-41) 40x büyütmeli merceği kullanılarak polen tüplerinin gelişimi belirlenmiştir. Polen tüpü uzunlukları 50 μm 'den kısa, 50-200 μm arasında ve 200 μm 'den uzun polen tüpleri olmak üzere üç farklı grupta sınıflandırılmış ve çimlenen polenlerin tamamında ölçüm yapılmıştır. Denemeler, dört farklı tekerrür üzerinde gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar yüzde (%) olarak raporlanmıştır.

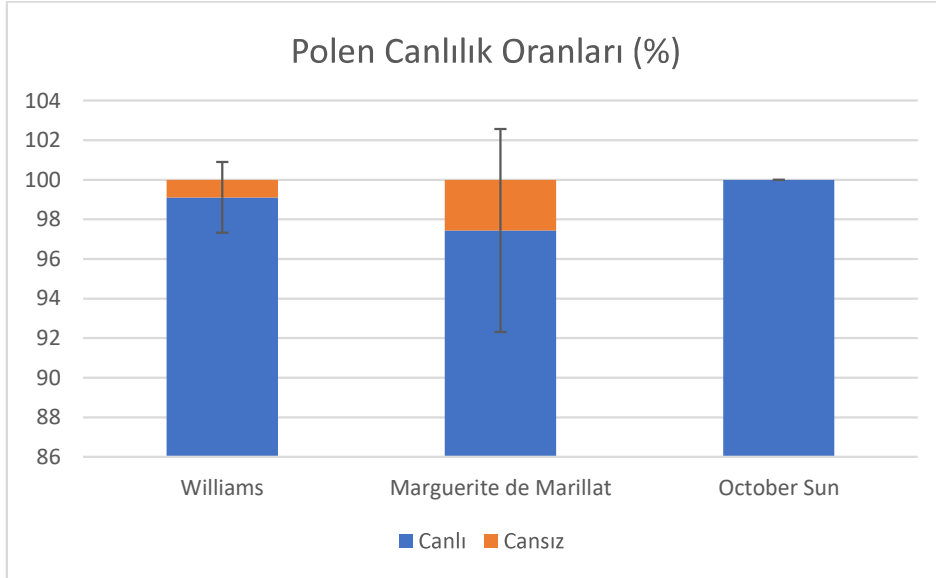
2.6. İstatistiksel Analizler

Besin ortamındaki sakkaroz ve çimlenme oranının tespiti deneme tesadüf parselleri desenine göre dört tekerrürlü yapılmıştır. Tekerrürlerde en az 100 adet polen sayılarak çimlenme oranları belirlenmiştir. Polen tüpü uzunluğunun tespitinde de tesadüf parselleri deseninde dört tekerrürlü bir düzen kullanılmış ve her bir tekerrürde tüm çimlenen polenlerin tüp uzunluğu ölçülerek belirlenmiştir.

Deneme sonuçları, Minitab istatistik programı (versiyon 16.1) kullanılarak varyans analizi ile değerlendirilmiş ve elde edilen verilere göre polen tüpü gelişimine olan etkileri hesaplanmıştır. Gruplar arasındaki farklılıklar ise $p\leq 0.05$ düzeyinde önemli kabul edilen Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

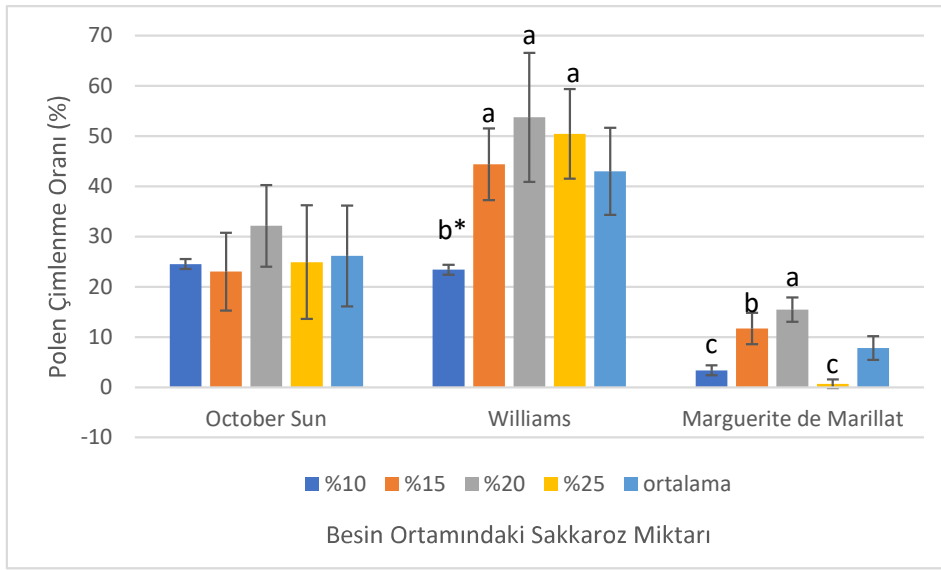
IKI testi sonuçlarına göre, 'October Sun' çeşidinde canlılık oranı %100, 'Williams' çeşidinde %99.01 ve 'Marguerite de Marillat' çeşidinde %97.44 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, her üç çeşidin de canlılık oranlarının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir (Şekil 1). Benzer şekilde Binici ve Dalkılıç (2020) erik çeşitleri üzerinde hem IKI hem de TTC (Triphenyl Tetrazolium Chloride) canlılık testleri yapmış ve sonuçta IKI testinde canlılık oranları daha yüksek olmuştur.



Şekil 1. IKI testi ile belirlenen 'October Sun', 'Williams' ve 'Marguerite de Marillat' çeşitlerindeki polen canlılık oranları (%) (Hata Çubukları = $\pm$ Standart sapma)

Armut ve erik polenleri için en uygun çimlendirme ortamını bulmak amacıyla yapılan ilk deneme sonucunda polen çimlenmesi üzerinde besin ortamındaki sakkaroz oranının önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p=0.01$). Armut polenlerinin çeşitli sakkaroz miktarlarına bağlı olarak polen çimlenme oranları önemli bulunurken, erik için bu fark önemsiz olarak belirlenmiştir ($p=0.592$). Bu oranlar yüzde (%) olarak Şekil 2.'de verilmiştir. Sakkaroz miktarının artmasıyla birlikte, her iki çeşide ait polen çimlenme oranlarının arttığı ve en yüksek çimlenme oranına %20 sakkaroz içeriğinde ulaşıldığı tespit edilmiştir. Ancak, özellikle %25 sakkaroz miktarında 'Marguerite de Marillat' armut polenlerinin çimlenme oranının aniden düştüğü gözlemlenmiştir. Benzer bir eğilim, elma, erik ve vişne çeşitleri ile yapılan bir deneme için de rapor edilmiştir (Dorukoğlu ve Aslantaş, 2013). Bu denemede, sakkaroz konsantrasyonu arttıkça polen

çimlenme oranının arttığı, ancak artan konsantrasyonla beraber ani bir düşüş yaşandığı belirlenmiştir. Ayrıca, Binici ve Dalkılıç (2020) tarafından yapılan bir çalışmada Papaz eriği çeşidinde sırasıyla %15 ve %20 sakkaroz içeriği ortamlarında %34.15 ve %31.63 çimlenme oranları belirlenmiştir. Bu durum, araştırmacılar tarafından besin ortamındaki sakkaroz miktarının artmasıyla polenlerde osmotik basınç ve olası kuraklık stresinin artması olarak açıklanmıştır.



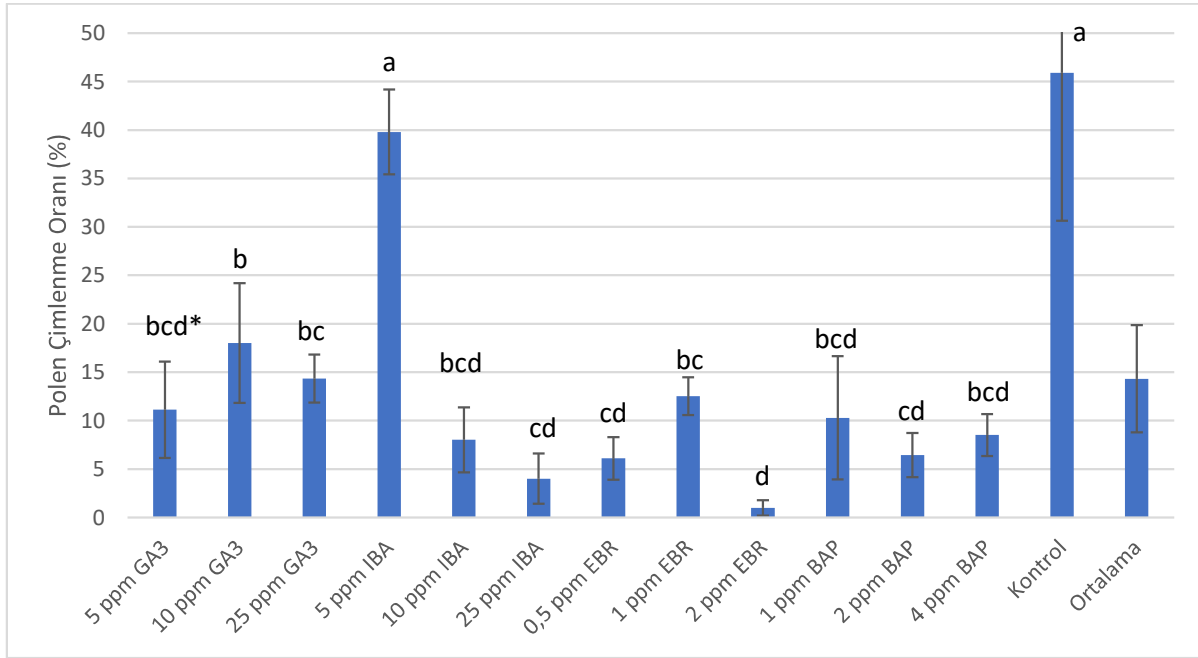
Şekil 2. ‘October Sun’ erik ile ‘Williams’ ve ‘Marguerite de Marillat’ armut çeşitlerine ait polenlerin farklı sakkaroz konsantrasyonlara sahip besin ortamındaki çimlenme oranları (%)
*Farklı harfler gruplar arası farklılığı ifade eder. (Hata Çubukları = ±Standart sapma)

Deneme sonuçlarına göre, ideal besin ortamı olarak %20 sakkaroz konsantrasyonu olarak gözlemlenmiştir. Bu bulgu, daha önce Stanley erik çeşitleri için (Eti, 1991) ve armut çeşitleri için (Eti, 1996) yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir. Polen çimlendirme denemesi sonucunda elde edilen veriler ile uygulama ve konsantrasyonların etkilerinin çeşitlere göre farklılık gösterdiği ve çeşitlerin çimlenme oranları üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir ($p=0.000$).

3.1. ‘October Sun’ Erik Çeşidinde Çimlenme Oranı İle Polen Tüpü Uzunluğunun Tespiti

‘October Sun’ çeşidinde polen çimlendirme denemesi sonucunda farklı konsantrasyonlardaki büyüme düzenleyicilerin etkileri % olarak Şekil 3’te gösterilmiştir. En yüksek çimlenme oranları bitki büyüme düzenleyici kullanılmaksızın hazırlanan kontrol grubunda (%45.91) ve 5

ppm IBA uygulamasında (%39.80) tespit edilmiştir. En düşük çimlenme ise 2 ppm EBR uygulamasında bulunmuştur (%0.96). GA₃, IBA, EBR ve BAP uygulanan ‘October Sun’ polenlerinin çimlenme oranlarının kontrol uygulaması ile kıyaslandığında daha düşük olduğu görülmüştür.



Şekil 3. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan büyüme düzenleyicilerin ‘October Sun’ erik polenlerindeki çimlenme oranı (%). *Farklı harfler gruplar arası farklılığı ifade eder. (Hata Çubukları = ±Standart Sapma)

GA₃ sonuçları içinde en iyi sonucu %18.01 çimlenme oranı ile 10 ppm GA₃ uygulamasının verdiği görülmektedir. GA₃ konsantrasyonu artınca (25 ppm) çimlenme oranı %14.34’e gerilemiştir. Kontrol uygulamasından sonra çimlenmeyi en fazla uyan uygulama 5 ppm IBA olmuştur. IBA konsantrasyonları arttıkça, çimlenme oranlarını düşürerek olumsuz etkilere sebep olmuştur. EBR’nin artan konsantrasyonları başta çimlenmeyi teşvik ederken (1 ppm EBR; -%12.51), sonrasında çimlenme oranını düşürmüştür (2 ppm EBR; -%0.99). Nar çeşitleri ile yapılan bir çalışmada benzer şekilde GA₃ ve EBR uygulamaları çimlenme oranlarını artırırken, oksin bileşiği olan NAA (naftalen asetik asit)’in polen çimlenmesini azaltan bir etkisi olduğu gözlenmiştir (Engin ve ark., 2015). BAP uygulamaları içinde en uygun sonuç 1 ppm BAP (%10.29) konsantrasyonunda elde edilmiştir. Konsantrasyonun artmasıyla birlikte çimlenme oranında başta azalış (%6.44), ardından artış (%8.51) olduğu gözlemlenmiştir.

Polen tüpü uzunlukları, kısa olanlar (50 µm'den kısa), orta uzunluktakiler (50-200 µm arasında), ve uzun olanlar (200 µm'den uzun) olmak üzere üç kategoride incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar yüzde olarak Çizelge 1'de sunulmuştur. 'October Sun' erik çeşidinde, polen tüpü uzunlukları genellikle 50 µm'den kısa ve 50-200 µm arasında değişim göstermektedir (Çizelge 1). Kontrol uygulamasında, Polen tüpü uzunlukları çoğunlukla %49.87 ile 50-200 µm arasında ölçülmüştür. %30.15 ise 50 µm'den kısa polen tüplerini temsil etmektedir.

Çizelge 1. 'October Sun' a ait polen tüplerinin *in vitro* şartlardaki uzunluk sınıflarına göre dağılımı (%)

Büyümeyi düzenleyici	Konsantrasyon (ppm)	>200 µm	<50-200> µm	<50 µm
EBR	0.5	2.78 cd*	6.70 f	90.53 a
	1	0.00 d	46.56 bcd	53.44 bc
	2	0.00 d	0.00 f	100.00 a
GA ₃	5	0.00 d	17.75 ef	82.25 a
	10	15.79 bc	31.02 de	50.92 bcd
	25	11.05 bcd	59.00 abc	29.95 cde
BAP	1	7.04 bcd	46.71 bcd	46.25 bcde
	2	0.00 d	78.30 a	21.70 de
	4	4.17 cd	63.44 ab	32.39 cde
IBA	5	44.19 a	36.26 cde	19.55 e
	10	0.00 d	47.58 bcd	52.42 bc
	25	0.00 d	0.00 f	100.00 a
Kontrol	0	19.98 b	49.87 bcd	30.15 cde
Ortalama		8.08	37.17	52.66

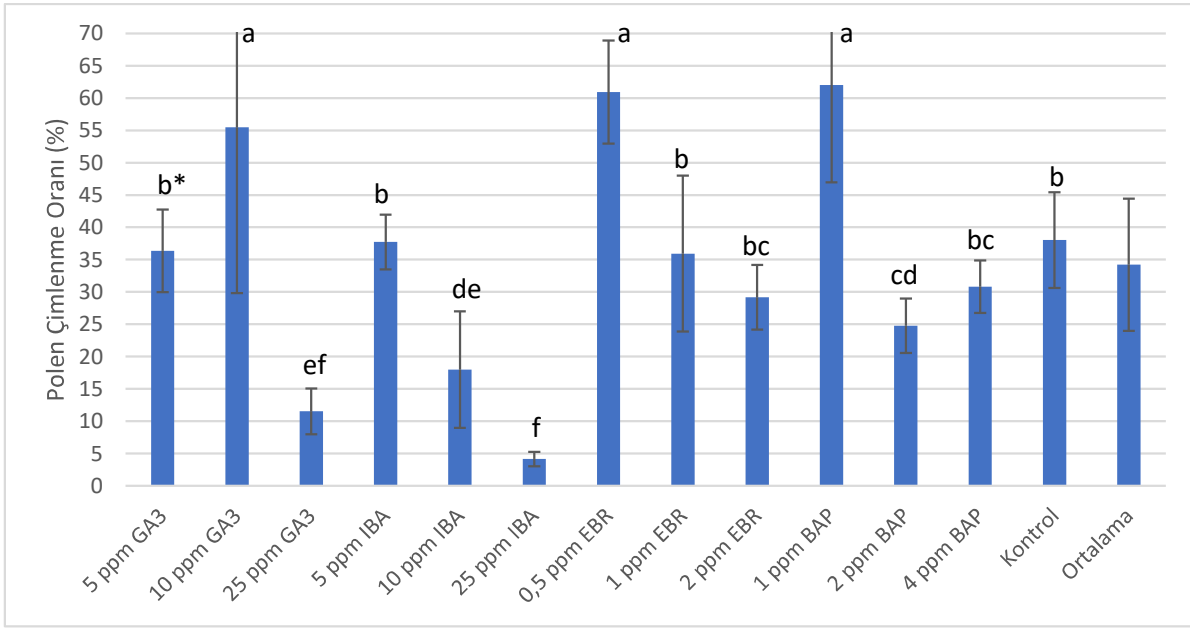
*Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar %5 düzeyinde farklıdır.

GA₃'ün artan konsantrasyonlarının 'October Sun' erik çeşidinde polen tüpü uzamasını arttırdığı gözlemlenmektedir. Bilhassa, 10 ppm GA₃ konsantrasyonunun, 200 µm'den uzun polen tüpü gelişimini diğer konsantrasyonlara göre daha etkili bir şekilde teşvik ettiği görülmüştür (%15.79). 5 ppm IBA uygulaması, diğer IBA konsantrasyonları ve diğer uygulamalar arasında en yüksek oranda (%44.19) 200 µm üzerinde polen tüpü uzunluğunu teşvik eden uygulama olmuştur. Ancak, 10 ppm ve 25 ppm IBA'nın 'October Sun' çeşidinde 200 µm'den uzun polen tüpü oluşumunu teşvik etmediği gözlemlenmiştir. 1 ppm EBR uygulamasında %12.51 çimlenme oranına ulaşılmasına rağmen, bu uygulamada 200 µm'in üzerinde polen tüpüne rastlanmamıştır. Diğer taraftan, %6.1 çimlenme oranına sahip olan 0.5 ppm EBR uygulamasında çimlenen polenlerin %2.78'i 200 µm'den uzun olarak belirlenmiştir. 2 ppm BAP

konsantrasyonu ise polen uzunluğu gelişimini desteklememiştir. Ancak, 1 ppm BAP (%7.04) ve 4 ppm BAP (%4.17) uygulamalarında 200 µm'den uzun polen tüpüne rastlanmıştır.

3.2. 'Williams' Armut Çeşidinde Çimlenme Oranı İle Polen Tüpü Uzunluğunun Tespiti

Büyüme düzenleyicilerin farklı konsantrasyonlardaki 'Williams' a ait polenlerin çimlenme oranlarına etkileri yüzde olarak Şekil 4'te gösterilmiştir. 'Williams' armut çeşidinde, en yüksek çimlenme oranları sırasıyla 1 ppm BAP uygulamasında (%62.00), 0.5 ppm EBR uygulamasında (%60.92) ve 10 ppm GA₃ uygulamasında (%55.46) gözlemlenmiştir. En düşük çimlenme oranı, 25 ppm IBA uygulamasında (%4.13) belirlenmiştir.



Şekil 4. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan büyüme düzenleyicilerin 'Williams' armut polenlerindeki çimlenme oranı (%). *Farklı harfler gruplar arası farklılığı ifade eder. (Hata Çubukları = ±Standart Sapma)

Çimlenme oranı 10 ppm GA₃ (%55.46) konsantrasyonunda kontroldeki (%38.03) çimlenme oranından daha yüksektir, ancak 5 ppm GA₃ (%36.34) kontrolle benzerdir. 25 ppm GA₃ (%11.52) konsantrasyonu ise kontrolle karşılaştırıldığında düşük çimlenme oranına işaret etmektedir. IBA'nın konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranı sırasıyla %37.72, %17.99 ve %4.13'e düşmüştür. 5 ppm IBA istatistiksel olarak kontrolle benzerken, 10 ve 25 ppm'lik konsantrasyonları kontrolle karşılaştırıldığında daha düşük çimlenme oranına sahiptir.

EBR uygulamasına odaklandığımızda, en iyi sonuç 0.5 ppm EBR konsantrasyonunda rastlanılmıştır (%60.92). 1 ppm EBR (%35.93) ile karşılaştırıldığında yakın bir sonuç elde edilmiş, ancak 2 ppm EBR (%29.18) kontrol grubunun gerisinde kalmıştır. Kocayemiş ile yapılan bir çalışmada, polenlerin çimlenmesini teşvik eden en iyi uygulamalar sırasıyla; 0.01 ile 0.001 ppm homobrassinolid (HBL), 0.001 ppm EBR, 25 ppm GA₃ ve 0.1 ppm EBR olarak belirlenmiştir (Gökbayrak ve ark., 2020). Çalışmamız, benzer şekilde GA₃'ün artan konsantrasyonlarında çimlenmenin azaldığını, EBR'nin ise GA₃ ile karşılaştırıldığında çimlenmeyi daha fazla teşvik ettiğini göstermektedir. Araştırmacılara göre, bu durumun polenlere uygulanan konsantrasyonla yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir.

BAP'ın konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranı başta azalırken sonrasında artmıştır. Özellikle 1 ppm BAP konsantrasyonu, %62'lik çimlenme oranıyla kontrol ve diğer uygulamalara kıyasla en yüksek çimlenme oranına sahiptir.

Çizelge 2. ‘Williams’ çeşidine ait polen tüplerinin *in vitro* şartlardaki uzunluk sınıflarına göre dağılımı (%)

Büyümeyi düzenleyici	Konsantrasyon (ppm)	>200 µm	<50-200> µm	<50 µm
EBR	0.5	100.00 a*	0.00 f	0.00 b
	1	93.31 a	6.69 ef	0.00 b
	2	95.17 a	4.83 ef	0.00 b
GA ₃	5	67.70 b	28.69 cd	3.61 b
	10	94.17 a	5.83 ef	0.00 b
	25	0.00 d	95.00 a	5.00 b
BAP	1	51.04 c	48.96 bc	0.00 b
	2	0.00 d	63.12 b	36.88 a
	4	0.00 d	100.00 a	0.00 b
IBA	5	93.70 a	3.52 ef	2.78 b
	10	0.00 d	96.97 a	3.03 b
	25	0.00 d	100.00 a	0.00 b
Kontrol	0	68.38 b	24.76 de	6.86 b
Ortalama		51.04	44.49	4.74

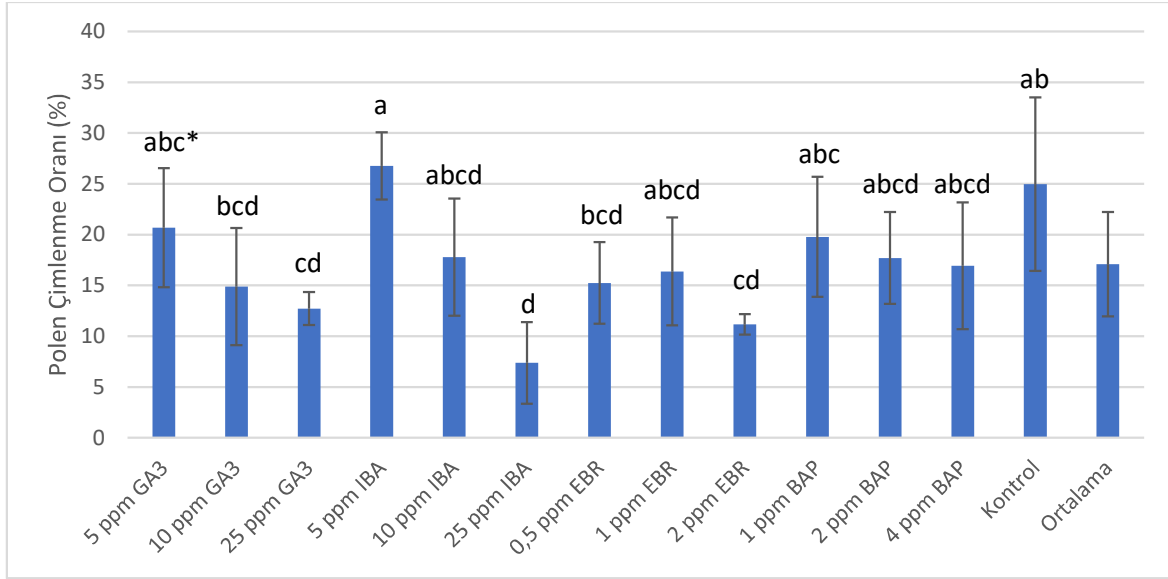
*Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar %5 düzeyinde farklıdır.

‘Williams’ armut çeşidindeki polen tüpü uzunlukları yüzdelik oranlarla Çizelge 2’de verilmiştir. ‘Williams’ armut çeşidinde GA₃’ün düşük konsantrasyonlu uygulamalarının polen

tüpü uzunluğunu 200 µm üzerine çıkardığı, ancak artan konsantrasyonların polen tüpü uzunluklarını 50-200 µm arasında sınırladığı gözlemlenmiştir. En etkili sonuç 10 ppm GA₃ uygulamasında (%94.17) elde edilmiştir. Aynı şekilde, IBA ve BAP uygulamalarının düşük konsantrasyonları da polen tüpü uzunluğunu olumlu yönde etkilemiştir. Örneğin, 5 ppm IBA uygulaması, çimlenen polenlerdeki polen tüplerinin %93.70'inin 200 µm'den uzun olmasını teşvik etmiştir. EBR'nin farklı konsantrasyonları da 'Williams' polen tüplerinin uzunluğunu artırmıştır 0.5 ppm EBR uygulaması (%100), 1 ppm EBR uygulaması (%93.31) ve 2 ppm EBR uygulaması (%95.17) ile, bu çeşide ait polen tüplerinin 200 µm'den uzun oluşumunu teşvik edilmiştir. Kontrol grubu bakıldığında, polen tüpü uzunluklarının 200 µm'nin üzerinde olduğu görülmüştür (%68.38). 'Williams' armut çeşidinde yapılan uygulamaların genel olarak polen tüpü uzamasını teşvik ettiği gözlemlenmiştir.

3.3. ‘Marguerite De Marillat’ Armut Çeşidinde Çimlenme Oranı İle Polen Tüpü Uzunluğunun Tespiti

'Marguerite de Marillat' çeşidinde ideal çimlenme oranları 5 ppm IBA uygulamasında (%26.76), kontrolde (%24.97), 5 ppm GA₃ uygulamasında (%20.67) ve 1 ppm BAP uygulamasında (%19.78) belirlenmiştir (Şekil 5). İstatistiki olarak diğer uygulamalara göre önemli olsalar dahi, 'Marguerite de Marillat'ın polen çimlenme oranı %30'un altında kalmıştır. GA₃, IBA ve BAP uygulamalarının düşük konsantrasyonları polen çimlenmesine etkisi olmuş fakat konsantrasyonlar arttıkça çimlenme oranının düştüğü gözlenmiştir. Benzer bir sonucu Zhou ve Zhang (2010) armut üzerinde yaptıkları çalışmada düşük konsantrasyonlu GA₃ 'ün çimlenme ve polen tüpü gelişimini pozitif etkilerken, konsantrasyon arttıkça bu gelişimin gerilediğini bildirmişlerdir.



Şekil 5. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan büyüme düzenleyicilerin ‘Marguerite de Marillat’ polenlerindeki çimlenme oranı (%). *Farklı harfler gruplar arası farklılığı ifade eder. (Hata Çubukları = $\pm$ Standart Sapma)

EBR uygulamaları arasında en iyi sonuç %16.38 ile 1 ppm EBR olmuştur. Kontrol (%24.97) ile kıyaslandığında diğer uygulamaların çimlenme oranı kontrolden daha düşükken, 5 ppm IBA uygulamasının çimlenme oranı %26.76 ile yüksek bulunmuştur.

Armut çeşitlerinde, büyüme düzenleyicilerine olan tepkiler çeşide özgün bir şekilde görülmüştür. Özellikle EBR, 'Williams' çeşidinde etkili olmasına karşın, 'Marguerite de Marillat' çeşidinde bu etkinin kısıtlı ve özellikle yapılan uygulamanın dozuna bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, 'Marguerite de Marillat'ın triploid çeşit özelliklerinden kaynaklanabileceği gibi, iklim ve toprak şartları, ağacın yaş, bakım ve beslenmesi ile polenlerin ne zaman ve nasıl bir yöntem ile alındığıyla da ilişkili olabilir. Ayrıca, 'Marguerite de Marillat' ve 'October Sun' çeşitlerinin normal şartlarda da çimlenme oranının 'Williams' çeşidine göre düşük olduğu göz önüne alındığında, büyüme düzenleyicilerinin etkilerinin sınırlı kalabileceği bir durum ortaya çıkabilir. Gökbayrak ve Engin (2017)'in İtalya ve Cardinal üzüm çeşitlerinde yaptıkları çalışmada Bitki büyümeyi düzenleyicilerin etkilerinin genotipe bağlı olduğunu ve Cardinal çeşidinde belirgin farklar gözlenmediğini rapor etmiştir. 2016 yılında yaptıkları bir başka çalışmada ise, EBR, NAA ve GA₃'ün bazı sofralık üzüm çeşitlerinin in vitro polen çimlenmesi üzerine uyarıcı etkilerinin çeşitlere özgü olduğunu ve genel olarak GA₃'ün en çok

teşvik edici olduğunu, EBR'in ise zayıf etkilere sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. (Gökbayrak ve Engin, 2016).

‘Marguerite de Marillat’ a ait polen tüpü uzunlukları Çizelge 3.’te incelenmiştir. ‘Marguerite de Marillat’ polenlerinde, GA₃’ün 5, 10 ve 25 ppm konsantrasyonları uzun polen tüpü gelişimini desteklememiştir. Ayrıca, IBA ve EBR düşük konsantrasyonda uygulandığında polen tüpü uzunluğunu artırdığı gözlenmiştir. Ancak, BAP’ın etkisi kararsızdır; 1 ppm ve 4 ppm konsantrasyonlarında 50-200 µm arasında bulunan tüp sayısını artırırken, 2 ppm konsantrasyonunda kısa polen tüplerinin oluştuğu gözlenmiştir. 5 ppm IBA (%92.11), 10 ppm IBA (%91.67), 0.5 ppm EBR (%95.24), 1 ppm EBR (%93) ve 2 ppm BAP (%95) uygulamalarının istatistiksel olarak anlamlı etkileri tespit edilmiştir. Bu uygulamaların çoğunlukla 50-200 µm aralığında polen tüpü uzamasını teşvik ettiği belirlenmiştir. 1 ppm BAP uygulamasında çimlenme oranı %19.78 olarak belirlenmiş olup, bu uygulamada çimlenen polenlerin sadece %5.83’ü 50 µm’den uzun ölçülmüştür. Diğer yandan, 2 ppm BAP uygulamasıyla elde edilen %17.7 çimlenme oranına sahip polenlerin %95’i 50-200 µm aralığında tespit edilmiştir. Bu durum, 2 ppm BAP konsantrasyonunun polen tüpü uzamasını daha etkili bir şekilde teşvik ettiğini göstermektedir.

Çizelge 3. ‘Marguerite de Marillat’ a ait polen tüplerinin *in vitro* şartlardaki uzunluk sınıflarına göre dağılımı (%)

Büyümeyi düzenleyici	Konsantrasyon (ppm)	>200 µm	<50-200> µm	<50 µm
EBR	0.5	0.00	95.24 a*	4.76 c
	1	0.00	93.00 a	7.00 c
	2	0.00	0.00 c	100.0 a
GA ₃	5	0.00	6.62 c	93.38 a
	10	0.00	3.26 c	96.74 a
	25	0.00	0.00 c	100.00 a
BAP	1	0.00	5.83 c	94.17 a
	2	0.00	95.00 a	5.00 c
	4	0.00	7.02 c	92.98 a
IBA	5	0.00	92.11 a	7.89 c
	10	0.00	91.67 a	8.33 c
	25	0.00	9.40 c	90.60 a
Kontrol	0	0.00	62.46 b	53.17 b
Ortalama		0.00	43.20	58.00

*Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar %5 düzeyinde farklıdır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırma, 'Williams', 'Marguerite de Marillat' ve 'October Sun' çeşitlerinin polen canlılıklarını, çimlenme yeteneklerini ve polen tüpü gelişimini belirlemeyi amaçlamaktadır. Bu sonuçlar, dölleme biyolojisi çalışmalarına önemli katkılarda bulunmayı hedeflemektedir.

Polen canlılığı sonuçlarına göre, üç çeşidin de canlılığı yüksek tespit edilmiş olmasına rağmen, polen çimlenme oranlarının düşük olmasının muhtemel nedeni yapılan İKI testinden kaynaklanabilir. Çünkü çimlenen her polenin canlı olmasına rağmen, canlılık testinde boyanan her polenin gerçekten canlı olmayabileceği bir durum söz konusu olabilir. İlerleyen çalışmalarda, diğer polen canlılık test yöntemlerinin de kullanılması ve sonuçların karşılaştırılması önemli olacaktır.

Bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı genellikle bitki türüne, çevresel koşullara ve uygulama dozlarına bağlı olarak değişmektedir. Bitki büyüme düzenleyicilerinin polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için daha fazla bilimsel araştırmaya ihtiyaç vardır. Araştırmamızdaki *in vitro* sonuçları *in vivo* şartlara yansıtmak için arazi koşullarında uyarlanması faydalı olacaktır.

Not: Bu makale Ziraat Mühendisi Birsen Zeybek'in 'Yüksek Lisans' tezinden derlenmiştir.

5. KAYNAKLAR

- Altunbaş, D., Engin, H. (2016). Brassinostreoid ve Gibberellik Asit Uygulamalarının *in vitro*'da Kirazlarda (*Prunus avium* L.) Polen Çimlenmesi ve Canlılığı Üzerine Etkileri. Çomü Zir. Fak. Derg. 99-103.
- Aydoğdu, M., Boyraz, N. (2005). Bitki Büyüme Düzenleyicileri (Hormon) Ve Hastalıklara Dayanıklılık (Derleme), Bitkisel Araştırma Dergisi (2005) 1: 35–40
- Binici, S., Günver Dalkılıç, G. (2020). Aydın Ekolojisinde Yetiştirilen Bazı Erik Çeşitlerinde Çiçek Tozu Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17 (2), 263-270.
- Bolat, İ., Güleriyüz, M. (1994). Bazı Kayısı Çeşitlerinde Polen Canlılık ve Çimlenme Düzeyleri ile Bunlar Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 25(4), 344-353.
- Bolat, I., Pırlak, L. (1999). An Investigation on Pollen Viability, Germination and Tube Growth in Some Stone Fruits. Journal of Agriculture and Forestry, 23: 383-388.
- Çetin, M., Soylu, A. (2006). Standart Ayva Çeşitlerinin Döllenme Biyolojisi Üzerinde Araştırmalar, Bahçe 35(1-2):83-95.
- Dorukoğlu, E., Aslantaş, R. (2013). Erzurum Şartlarında Yetiştirilen Bazı Meyve Tür/Çeşitlerinin Polen Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 44(2): 111-119.
- Engin, H., Gökbayrak, Z., Altunbaş, D. (2015). Epibrassinolid, Gibberellik Asit ve Naftalen Asetik Asit'in Bazı Nar Çeşitlerinde Çiçek Tozu Çimlenme Oranlarına Etkisi. ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 3 (2), 19-25.
- Engin, H., Gökbayrak, Z. (2022). Brassinosteroid Uygulamalarının 'Chandler' Ceviz Çeşidinin Çiçek Cinsiyet Dağılımına Etkisi. *Yüzüncü Yıl University Journal Of Agricultural Sciences*, 2022, 32.3: 548-554.
- Eti, S. (1991). Bazı Meyve Tür Ve Çeşitlerinde Değişik *in vitro* Testler Yardımıyla Polen Canlılık ve Çimlenme Yeteneklerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 6(1), 69-80.
- Eti, S. (1996). Yabancı Kökenli Bazı Armut Çeşitlerinin Döllenme Biyolojileri Üzerinde Araştırmalar, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 25(1-2):11-19.

**13th INTERNATIONAL CONFERENCE ON AGRICULTURE, ANIMAL
SCIENCE AND RURAL DEVELOPMENT**
November 28-29, 2023 Uşak / Türkiye

- Gökbayrak, Z., Engin, H. (2015). Effect of plant growth regulators on in vitro pollen germination of grapevine cultivars. In *III Balkan Symposium on Fruit Growing 1139* (pp. 405-408).
- Gökbayrak, Z., Engin, H. (2017). Brassinosteroids and gibberellic acid: effects on in vitro pollen germination in grapevine. *OENO One*, 51(3), 303-303.
- Gökbayrak, Z., Engin, H., Akçal, A., Kiraz, H. (2020). Pollen of *Arbutus unedo*: Effects of plant growth regulators. *Botanica Serbica*, 44(1), 55-59.
- Katel, S., Yadav, S. P. S., Sharma, B. (2022). Impacts of plant growth regulators in strawberry plant: A review. *Heliyon* 8 (2022) e11959.
- Kumlay, A. M., Eryiğit, T. (2011). Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. *Journal Of The Institute Of Science And Technology*, 1(2), 47-56.
- Zhou, R., Zhang, C. (2010). Effect of Gibberelin and Paclobutrazol on Pollen Germination and Tube Growth in Pear. *Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition)*. Issue 2; 44-46.