

## Borik Asit ve Sukrozun *Papaver* Türlerinde Çiçek Tozlarının *In Vitro* Gelişimine Etkisi\*

Vural DENİZ<sup>1</sup> Satı ÇÖÇÜ<sup>1</sup> Iskender PARMAKSIZ<sup>2</sup> Khalid Mahmood KHAWAR<sup>1</sup> Sabahattin ÖZCAN<sup>1</sup>

Geliş Tarihi: 31.03.2004

**Özet:** Bu çalışma, *Papaver orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* türlerine ait çiçek tozlarının *in vitro* çimlenme ve gelişimini etkileyen bazı abiotik faktörleri belirlemek amacıyla yürütülmüştür. En fazla çim borusu oluşturma oranı *P. orientale* ve *P. bracteatum*'da sukroz içermeyen, *P. pseudo-orientale*, *P. somniferum*'da 50 mg/l sukroz içeren ortamdan elde edilmiştir. Genel olarak, 150 mg/l borik asit ilave edilen çimlendirme ortamı test edilen bütün türlerde *in vitro* çiçek tozu gelişimini artırmıştır. Bu uygulamalar sonucunda, en fazla çim borusu oluşturma oranı %73 ile *P. bracteatum*'dan elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Papaver orientale*, *Papaver pseudo-orientale*, *Papaver bracteatum*, *Papaver somniferum*, çim borusu oluşturma oranı, çim borusu uzunluğu

### Effect of Sucrose and Boric Acid on *In Vitro* Pollen Development in *Papaver* Species

**Abstract:** In this study, effects of abiotic factors on *in vitro* pollen germination and development in *Papaver orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* were investigated. The highest pollen tube growth rate was obtained in the sucrose-free germination medium for *Papaver orientale* and *Papaver bracteatum* and 50 mg/l boric acid for *Papaver pseudo-orientale*, *Papaver somniferum*. In general, germination medium supplemented with 150 mg/l boric acid increased pollen development in all species. In this treatment, the highest pollen tube growth rate was achieved at a frequency of 73 % from *P. bracteatum*.

**Key Words:** *Papaver orientale*, *Papaver pseudo-orientale*, *Papaver bracteatum*, *Papaver somniferum*, pollen germination rate, pollen tube length

### Giriş

*Papaver* cinsi *Papaveraceae* familyasına dahildir. Dünyada bu cins içerisinde 110 (Hosokawa 2003) civarındaki türden 40 kadarı ülkemizde doğal olarak bulunmaktadır (Şenol 1998, Seçmen ark. 1995). Türler içerisinde en çok araştırılan *Papaver somniferum*, *P. bracteatum*, *P. orientale* ve *P. pseudo-orientale*'dir. Yabani haşhaş türlerinden *P. bracteatum*, *P. orientale* ve *P. pseudo-orientale*; Kafkasya, İran ve Türkiye'de bulunmaktadır. *P. bracteatum*, *P. orientale* ve *P. pseudo-orientale* çok yıllık olup birbirlerine yakın akraba bitkilerdir (Parmaksız 2004). *P. bracteatum* diploid  $2n=14$ , *P. orientale* tetraploid  $2n=28$  ve *P. pseudo-orientale* heksaploid  $2n=42$  ploidi seviyesine sahiptir. (Milo 1988, Carolan 2002).

Haşhaş afyonu başta morfin olmak üzere kodein, tebain, narsein, narkotin ve papaverin gibi alkaloidler içermektedir. Haşhaşta çeşitli alkaloidlerin bulunması, morfinin alışkanlık yapması ve kötü amaçlarda kullanımı araştırmacıları *Papaver* cinsine dahil diğer alkaloid türleri üzerinde çalışmaya sevk etmiştir. *P. bracteatum* bu grubun tebain ve morfin içeriği bakımından en önemli bitkisidir. *P. bracteatum* tebain yanında, alpinigenin, kodein, protopin gibi bazı alkaloidleri de az miktarda bulundurmaktadır (Nyman ve Bruhn 1979, Meshulam ve Lavie 1980, Sarıyar 2002). *P. pseudo-orientale*'de isotebain

(ana alkaloid olarak) ve markanthalin, *P. orientale*'de salutaridin bulunmaktadır (Bernath 1998). Bu bitkilerde morfin tipi alkaloidler çok az miktarda bulunmaktadır.

Haşhaş ülkemiz açısından olduğu kadar diğer ülkeler açısından da büyük öneme sahiptir (Işıkhana 1957). Özellikle dünyanın yasal alkaloidin, ihtiyacının karşılanabilmesi için, bu pazara ham madde veren haşhaş üreticisi ülkeler arasında rekabet koşulları içerisinde yer alabilmek ve bu yeri muhafaza edebilmek, en az işçilik ve girdi kullanarak birim alandan en yüksek ve kaliteli ürün almak ile mümkün olmaktadır (Gümüştü 2001). Kültür bitkilerinde çok yüksek orandaki ürün ve kalite artışı, son 50 yıl içinde ıslah yöntemlerinin gelişmesi ve tarımsal metotların modern teknoloji ile birleşmesi sonucunda olmuştur. Özellikle yabani akrabalar ıslah çalışmalarında önemli bir yere sahiptir. Bitkinin çiçek tozu canlılıklarının belirlenmesi, tohum tutma ve melezleme çalışmaları açısından oldukça önemlidir. *Papaver* türlerinin çiçeklenme zamanlarında önemli farklılıklar gözlenmekte olup, bu ise farklı türler arasındaki melezleme imkanlarını azaltmaktadır. *Papaver* türleri için uygun bir *in vitro* çiçek tozu çimlendirme yöntemi geliştirildiği takdirde farklı türlerin çiçek tozu canlılıkları kolaylıkla belirlenerek, geliştirilen yöntem çiçek tozlarının kısa süreli muhafazası için uygun şartlar ortaya konulmasına yardımcı olacaktır.

\* Yüksek Lisans Tezi'nden hazırlanmıştır.

<sup>1</sup> Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü-Ankara

<sup>2</sup> Gaziosmanpaşa Üniv. Fen Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü-Tokat

Ayrıca son yıllarda *in vitro* çimlenmekte olan çiçek tozu hücrelerine plazmid aktarımı yapılarak, istenilen özelliklere sahip transgenik bitkilerin elde edilmesine yönelik çalışmalar da yapılmaktadır (Hess 1987). Bu çalışmalar başarılı olduğu takdirde gen aktarımında doku kültürü çalışmalarına gerek kalmayacak ve hemen tüm bitkilere gen aktarımı yapılabilecektir.

Ancak çimlenmekte olan çiçek tozları aracılığıyla gen aktarımına başlamadan önce, gen aktarımı yapılacak olan bitki türü için yüksek oranda bir *in vitro* çiçek tozu çimlendirme ve çim borusu oluşturma yönteminin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada da, farklı borik asit ve sukroz dozlarının 4 farklı *Papaver* türünün çiçek tozlarının *in vitro* çimlenmesi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Yöntem

Araştırma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Sitoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

**Bitki materyali:** Araştırmada, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasında yetişen *P. somniferum*, *P. bracteatum*, *P. orientale* ve *P. pseudo-orientale* türlerine ait çiçek tozları kullanılmıştır. Çiçek tozları, anterler yeni patladığı ve çiçek tozlarının halen yumak halinde anterlerin üzerinde bulunduğu devrede sabah saat 6:00-7:00 arasında bir pens yardımıyla toplanarak laboratuara getirilmiştir.

**Çiçek tozu çimlendirme ortamı:** Daha önce *Capsicum annum* (Mercado ve ark. 1994), *Hellianthus annuus* (Murthy ve ark. 1994) ve *Onobrychis viciifolia*'da (Sancak ve ark. 2003) yapılan çalışmalarda sukroz, borik asit ( $H_3BO_3$ ), potasyum nitrat ( $KNO_3$ ), kalsiyum nitrat ( $Ca(NO_3)_2$ ), magnezyum sülfat ( $MgSO_4$ ) ve polietilenglikol (PEG) ün çimlenmeyi olumlu etkilediği belirtilmiştir. Bu nedenle çimlendirme ortamında 200 mg/l  $MgSO_4$ , 150 mg/l  $Ca(NO_3)_2$ , 200 mg/l  $KNO_3$ , 200 mg/l PEG sabit tutulmuş olup, ortama değişen oranlarda borik asit ve sukroz ilave edilmiştir. Çimlendirme ortamlarının hazırlanmasında bidistile su kullanılmış olup, ortamların pH' sı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5.6'ya ayarlanmıştır.

**Preparatların hazırlanışı ve çimlendirme:** *Papaver* türlerine ait tesadüfen belirlenen bitkilerden alınan çiçek tozları laboratuara getirilerek, iklim odasında %80 nemde ve  $27\pm 2^\circ C$ ' de 20 dakika ön inkübasyona tabi tutulmuştur. Preparatların hazırlanmasında asili damla yöntemi kullanılmıştır. Bunun için, lamel üzerine bir damla çimlendirme ortamı damlatılmış ve daha sonra ön inkübasyona tabi tutulan çiçek tozları fırça ile serpilerek homojen bir dağılım sağlandıktan sonra lamel bir pens yardımıyla çukur lam üzerine kapatılmıştır. Çimlendirme ortamının su kaybetmesini engellemek için lam ve lamel arasına vazelin sürülmüştür. Hazırlanan bütün kültürler %80 nemde ve  $27\pm 2^\circ C$ ' de inkübe edilerek, inkübasyondan 2 saat sonra her tekrürde çim borusu oluşturma oranı (çiçek tozlarının büyüklüğünde çim

borusu oluşturan çiçek tozu oranı) ve çim borusu uzunluğu tespit edilmiştir.

**İstatistiksel değerlendirme:** Deneme tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre dört tekrürü olarak yürütülmüştür. Her tekrürde 25 adet çiçek tozunda ölçüm ve sayım yapılmıştır. Elde edilen veriler "SPSS 11.0 for Windows" programı yardımıyla varyans analizine tabi tutulmuş olup, muameleleri karşılaştırmak amacıyla MSTAT-C bilgisayar programı kullanılarak Duncan testi uygulanmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran 1967).

### Bulgular ve Tartışma

**Farklı sukroz dozlarının *In Vitro* çiçek tozu gelişimi üzerine etkisi:** *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* türlerine ait polenler farklı sukroz dozları içeren ortamlarda inkübe edilmiştir. Varyans analizi sonucunda sukroz dozlarının, türlerin ve sukroz dozu x tür interaksiyonunun çim borusu oluşturma oranı ve çim borusu uzunluğuna etkisi 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çizelge 1'de farklı sukroz dozlarının *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* çiçek tozlarında çim borusu oluşturma oranına ve çim borusu uzunluğuna etkisine ait değerler görülmektedir. Test edilen 4 türde de 150, 200, 250 ve 300 g/l sukroz içeren ortamlarda çimlenme olmamıştır. Çim borusu oluşturma oranı incelendiğinde ise *P. orientale* ve *P. bracteatum*' da en yüksek değerler sukroz içermeyen ortamdaki, *P. pseudo-orientale*' de 100 mg/l sukroz içeren ortamdaki, *P. somniferum* ise 50 mg/l sukroz içeren ortamdaki elde edilmiştir. Ancak, 4 türde de en fazla çim borusu uzunluğu sukroz içermeyen çimlendirme ortamından elde edilmiştir (Şekil 1).

Çiçek tozu çimlendirme çalışmalarında çeşitli yoğunlukta sukroz içeren ortamların kullanılabileceği değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Visser ve Tillekeratne (1958), çay çiçek tozlarının %5 - 25'lik sukroz eriyiklerinde iyi bir çimlenme gösterdiğini vurgulamışlardır. Benoit (1961), aynı bitkinin çiçek tozlarının %10 sukroz içeren ortamlarda en yüksek oranda çimlendiğini saptamıştır. Ahmed ve Chakroborty (1964), %10'luk sukroz eriyiğinde Çin tipi, Assam ve Manipuru tipli çaylarda sırasıyla %73,7, 37,6 ve 29,2 oranında çimlenme elde etmişlerdir. Layne ve Hagedorn (1964) bezelye çiçek tozlarında %20'lik sukroz ortamında en iyi sonuca ulaşmışlardır. Murthy ve ark. (1994), ayçiçeğinde yapmış oldukları çalışmada 250 g/l sukroz dozunda en iyi sonucu elde etmişlerdir. Ünsal (1999), ise yine ayçiçeğinde en yüksek çiçek tozu çimlenme ve çim borusu oluşumunu 100 g/l sukroz içeren ortamdaki elde etmiştir. Tahir ve ark. (1996) optimum çiçek tozu çimlenmesi için her türün özel şeker konsantrasyonu istediğini bildirmişlerdir. Tandon ve ark. (1999), Tuinstra ve Wedel (2000) ve Adhikari ve Campbell (1998) yaptıkları çalışmalarda sukrozun iyi bir osmotik dengeleyici olduğunu ve ortamda fazla ya da az bulunmasının osmotik dengesi bozarak çiçek tozlarının

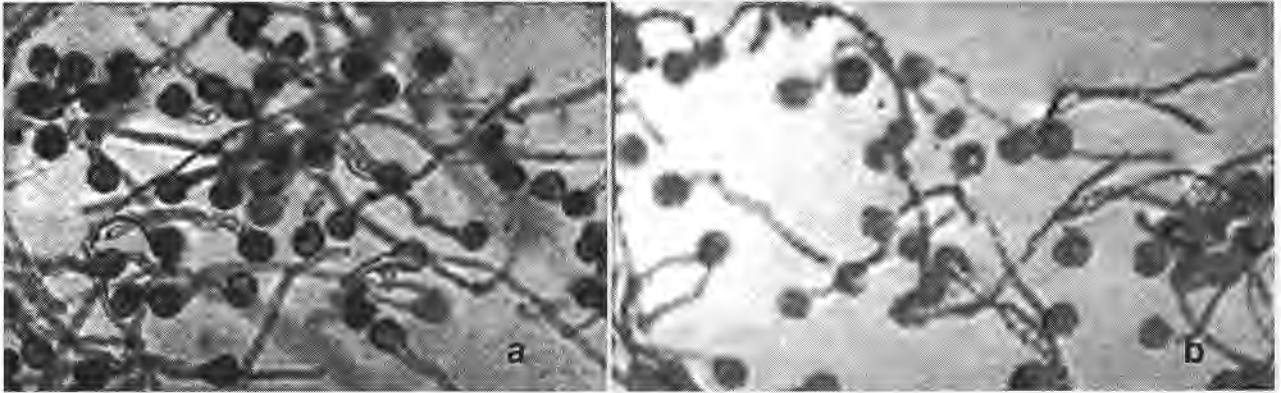
Çizelge 1. Farklı sukroz dozlarının *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* çiçek tozlarında çim borusu oluşturma oranı ve çim borusu uzunluğuna etkisi

Sukroz (g/l)*	Çim borusu oluşturma oranı (%)				Çim borusu uzunluğu (µm)			
	PO	PP	PB	PS	PO	PP	PB	PS
0	20.0 <sup>a</sup> B	19.0 <sup>b</sup> B	30.0 <sup>a</sup> A	24.0 <sup>ab</sup> AB	141.8 <sup>a</sup> B	182.3a A	108.8 <sup>a</sup> C	123.8 <sup>a</sup> BC
50	17.0 <sup>ab</sup> B	25.0 <sup>ab</sup> A	26.0 <sup>a</sup> A	29.0 <sup>a</sup> A	113.5 <sup>b</sup> A	108.5 <sup>b</sup> A	87.0 <sup>a</sup> A	91.75 <sup>b</sup> A
100	10.0 <sup>b</sup> BC	33.0 <sup>a</sup> A	7.0 <sup>b</sup> C	16.0 <sup>b</sup> B	21.8 <sup>c</sup> B	72.3 <sup>c</sup> A	28.3 <sup>b</sup> B	40.25 <sup>c</sup> B
150	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A	0.0 <sup>b</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A
200	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A	0.0 <sup>b</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A
250	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A	0.0 <sup>b</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A
300	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>c</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A	0.0 <sup>b</sup> A	0.0 <sup>d</sup> A

Aynı sütunda farklı küçük ve aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark p<0.01 düzeyinde önemlidir.

PO=*P. orientale*, PP=*P. pseudo-orientale*, PB=*P. bracteatum*, PS=*P. somniferum*

\*Çimlendirme ortamında değişen doz sukroz olup, 200 g/l PEG 4000, 150 mg/l H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 200 mg/l MgSO<sub>4</sub>, 150 mg/l Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 200 mg/l KNO<sub>3</sub> sabit tutulmuştur.



Şekil 1. Sukroz içermeyen besin ortamında *Papaver orientale* (a) ve *P. bracteatum* (b) çiçek tozlarının gelişimi (bar=10µm)

patlamasına neden olup çimlenme oranını düşürdüğünü açıklamışlardır. Bu çalışmada ise en yüksek polen çimlenme ve çim borusu uzunluğu değerleri sukroz içermeyen veya çok düşük oranlarda sukroz içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. Genel olarak sukroz kullanımı *Papaver* türlerinde çiçek tozu çimlenmesini azaltmıştır. Sukroz içermeyen ortamda polen çimlenmesinin iyi olması ve polenlerde patlama görülmemesi yine değişik araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi iyi bir osmotik dengeleyici olan PEG'in ortamda bulunması ile açıklanabilir (Adhikari ve Campbell 1998, Tandon ve ark. 1999, Sancak ve ark. 2003).

**Farklı borik asit dozlarının *In Vitro* çiçek tozu gelişimi üzerine etkisi:** Çim borusu oluşturma oranı bakımından türler arasında geniş bir varyasyon gözlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda Borik asit dozlarının, türlerin ve borik asit x tür etkileşiminin çim borusu oluşturma oranı ve çim borusu uzunluğuna etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çizelge 2'de de görüldüğü gibi, en yüksek çim borusu oluşturma oranı *P. orientale* ve *P. pseudo-orientale*'de sırasıyla %39 ve %38

ile borik asit içermeyen ortamdan, *P. bracteatum*' da %73 ile 50 mg/l borik asit, *P. somniferum*' da ise %28 ile 200 mg/l borik asit içeren ortamlardan elde edilmiştir. Bütün türlerde en fazla çim borusu uzunluğu 150 mg/l borik asit uygulamasından elde edilmiştir.

Sangduen ve ark. (1983), Tuinstra ve Wedel (2000), Montaner ve ark. (2003), çimlendirme ortamına ilave edilen değişik konsantrasyonlardaki borik asitin çiçek tozu çimlenme oranı ve çim borusu gelişimi üzerine olumlu etkilerde bulunduğunu belirtmişlerdir. Mercado ve ark. (1994) biber çiçek tozlarında yaptıkları çalışmada 0.1 µM borik asit ve 1 µM kalsiyum klorür içeren ortamda %50 oranında çimlenme elde etmişlerdir. Ayrıca, Murthy ark. (1994), ayçiçeği çiçek tozlarında yapmış oldukları çalışmada ortama ilave edilen borik asit konsantrasyonlarının artmasıyla, çiçek tozu çimlenmesi ve çim borusu oluşumunun arttığını belirtmişler ve 200 mg/l borik asit dozunda en yüksek sonucu elde etmişlerdir. Ünsal (1999) ise ayçiçeğinde en iyi çiçek tozu çimlenme ve çim borusu oluşumunu 150 mg/l borik asit dozundan elde etmiştir. Bolat ve ark. (1999) kayısıda yaptıkları



Çizelge 2. Farklı borik asit dozlarının *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* çiçek tozlarında çim borusu oluşturma oranı ve çim borusu uzunluğuna etkisi

Borik asit dozları (mg/l)*	Çim borusu oluşturma oranı (%)				Çim borusu uzunluğu (µm)			
	PO	PP	PB	PS	PO	PP	PB	PS
0	39.0 <sup>a</sup> B	38.0 <sup>a</sup> B	54.0 <sup>b</sup> A	27.0 <sup>a</sup> B	95.8 <sup>c</sup> A	88.5 <sup>c</sup> B	44.3 <sup>d</sup> C	59.8 <sup>de</sup> BC
50	16.0 <sup>c</sup> C	29.0 <sup>ab</sup> B	73.0 <sup>a</sup> A	23.0 <sup>a</sup> BC	116.3 <sup>b</sup> A	110.0 <sup>b</sup> B	31.3 <sup>d</sup> E	66.8 <sup>cd</sup> C
100	21.0 <sup>c</sup> B	17.0 <sup>bcd</sup> B	66.0 <sup>a</sup> A	21.0 <sup>a</sup> B	135.8 <sup>a</sup> A	108.5 <sup>b</sup> B	70.3 <sup>c</sup> C	86.8 <sup>c</sup> C
150	24.0 <sup>bc</sup> A	12.0 <sup>d</sup> A	19.0 <sup>d</sup> A	20.0 <sup>a</sup> A	148.5 <sup>a</sup> A	132.5 <sup>a</sup> B	150.0 <sup>a</sup> A	137.8 <sup>a</sup> B
200	25.0 <sup>bc</sup> A	26.0 <sup>abc</sup> A	35.0 <sup>c</sup> A	28.0 <sup>a</sup> A	97.8 <sup>bc</sup> C	116.8 <sup>ab</sup> A	94.3 <sup>b</sup> C	106.3 <sup>b</sup> B
250	24.0 <sup>bc</sup> B	31.0 <sup>a</sup> B	43.0 <sup>bc</sup> A	22.0 <sup>a</sup> B	67.3 <sup>d</sup> B	84.0 <sup>c</sup> A	67.3 <sup>c</sup> B	78.0 <sup>cd</sup> A
300	36.0 <sup>ab</sup> A	16.0 <sup>cd</sup> B	38.0 <sup>c</sup> A	24.0 <sup>a</sup> B	48.0 <sup>d</sup> B	42.8 <sup>d</sup> C	50.2 <sup>cd</sup> B	56.8 <sup>e</sup> A

Aynı sütunda farklı küçük ve aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasında ki fark p<0.01 düzeyinde önemlidir.

PO=*P. orientale*, PP=*P. pseudo-orientale*, PB=*P. bracteatum*, PS=*P. somniferum*

\* Çimlendirme ortamında değişen doz borik asit olup, 0 sukroz, 200 g/l PEG 4000, 200 mg/l MgSO<sub>4</sub>, 150 mg/l Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 200 mg/l KNO<sub>3</sub> sabit tutulmuştur.

çalışmada borik asidin bazı çeşitlerde çimlenme oranı ve çim borusu gelişimini artırırken bazı çeşitlerde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar bizim çalışmamızda da elde edilmiştir. Genel olarak, çimlenme ortamına değişik oranlarda ilave edilen borik asit 250 mg/l'ye kadar çim borusu oluşturma oranı ve çim borusu uzunluğuna olumlu etkide bulunmuştur.

## Sonuç

Bu çalışma *P. orientale*, *P. pseudo-orientale*, *P. bracteatum* ve *P. somniferum* türlerine ait çiçek tozlarının *in vitro* çimlenme ve gelişimini etkileyen abiyotik faktörlerden sukroz ve borik asidin etkisini test etmek amacıyla yürütülmüştür. *Papaver* türlerinin çiçek tozu çim borusu oluşturma oranı ve çim borusu uzunluğu bakımından kullanılan besin ortamlarına tepkisinde önemli farklılıklar gözlenmiştir. Genel olarak, sukroz içermeyen ancak 150 mg/l borik asit ilave edilen çimlendirme ortamı test edilen bütün türlerde *in vitro* çiçek tozu gelişimini artırmıştır.

## Kaynaklar

- Adhikari K. N. and C. G. Campbell, 1998. *In vitro* germination and viability of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) pollen. *Euphytica*, 102: 87-92.
- Ahmed, N. and H. Chakrobarty, 1964. Viability of pollen grains in tea flower. *Tea J. of Pak.*, 3:21-26.
- Benoit, F. 1961. Germination and storage of pollen of some tropical crops, Reprint from *Agricultura* 9:603-44 [Hort. Abstract (32:553-7.)]
- Bernath, J. 1998. Eds. Poppy, The Genus *Papaver*. Harwood Academic Publishers, 279-289 Australia.
- Bolat I., L. Pırlak and I. Karayiannis, 1999. Effect of some chemical substances on pollen germination and tube growth in apricot. *Acta-Hort.*, 488: 341-344
- Carolan, J. C., I. L. I. Hook, J. J. Walsh and T. R. Hodgkinson, 2002. Using AFLP markers for species differentiation and assessment of genetic variability of *in vitro*-cultured *Papaver bracteatum* (Section *oxytona*). *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, 38: 300-307.
- Gümüscü, A. 2002. Seçilmiş haşhaş (*C. L.*) hatlarının melezlerinde verim ve bazı özelliklerde heterosis üzerine araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Hess, D. 1987. Pollen based techniques in genetic manipulation. *Int. Rev. Cytol.*, 107:169-190.
- Hosokawa, K., T. Shibata, I. Nakamura and A. Hishida, 2003. Discrimination among species of *Papaver* based on the plastid *rpl16* gene and the *rpl16-rpl14* spacer sequence. *Forensic Science International* 139: 195-199.
- Işıksan, M. 1957. Haşhaş çiçekleri üzerinde biyolojik araştırmalar, Doktora tezi, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 80, Çalışmalar: 43, Ankara Üniv. Basımevi.
- Layne, R. E. C. and D. J. Hagedorn, 1964. Effect on boron and agar on germination of pea pollen in sucrose media. *Crop Sci.*, 4: 39-42.
- Mercado, J. A., R. Fernandez-Munoz and M. A. Quesada, 1994. *In vitro* germination of pepper pollen in liquid medium. *Sci. Hort.*, 57(4):273-81.
- Meshulam, H. and D. Lavie, 1980. The alkaloid constituents of *Papaver bracteatum* Arya II. *Phytochemistry*, 19: 2633-2635.
- Milo, J. L., D. Palevitch and G. Ladizinsky, 1988. Phylogenetic and genetic studies in *Papaver* section *Oxytona*: cytogenetics, isozyme analysis and chloroplast DNA variation. *Theor. Appl Genet.*, 75: 795-802.

- Montaner C., E. Floris and JM. Alvarez, 2003. Study of pollen cytology and evaluation of pollen viability using *in vivo* and *in vitro* test, in borage (*Borago officinalis* L.). Grana, 42: 33-37.
- Murthy, M. N. K., Y. A. N. Reddy and K. Virupakshappa, 1994. Development of a suitable germination medium for trinucleote pollen grains: An Illustration with Sunflower. J. Oilseeds Res., 11: 304-307.
- Nyman, U. and J. G. Bruhn, 1979. *Papaver bracteatum* Lindl.-a summary of current knowledge. Planta Media, 35: 98-117.
- Parmaksız, İ. 2004. *Papaver* cinsi *oxtona* seksiyonunun Türkiye'de yetişen türlerinde genetik çeşitliliğin RAPD markörleri ile analizi. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü-Ankara.
- Sancak C., S. Çöçü, K. M. Khawar and S. Özcan, 2003. Abiotic factors affecting *in vitro* pollen grain germination in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.). Pak. J. Bot., 35: 463-471.
- Sangduen, N., E. L. Sorensen and E. H. Liang, 1983. Pollen germination and pollen tube growth following selfpollinated species. Euphytica, 32: 527-534.
- Sarıyar, G. 2002. Biodiversity in the alkaloids of Turkish *Papaver* species. Pure Appl. Chem., 74/4. 557-574.
- Seçmen, Ö., Y. Gemici, G. Görk, L. Bekat ve E. Leblebici, 1995. Tohumlu Bitkiler Sistematiği (Ders Kitabı). 4. Baskı. Ege Üniv. Fen Fak. Ders Kitapları Serisi No: 116. İzmir.
- Snedecor, G. W. and W. G. Cochran, 1967. Statistical methods. The Iowa State Univ. Press, Iowa. USA.
- Şenol, H. F. 1988. Türkiyede yetişen yabani papaver (haşhaş) türlerinin tebain ve narkotin bakımından değerlendirilmesi. İstanbul Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Tahir A., SF Ali. and T. Ali 1996. Effect of sugar concentration on pollen germination in some members of *Asclepiadaceae*. Pak. J. Bot., 28:, 161-165.
- Tandom R., T. N. Manohara, B. H. M. Nijalingappa and K. R. Shivanna, 1999. Polyethylene glycol enhances *in vitro* germination and tube growth of oil palm pollen. Indian J. Exp. Bio., 37: 169-172.
- Tuinstra M. and R. J. Wedel 2000. Estimation of pollen viability in grain sorghum. Crop Sci., 40: 968-970.
- Ünsal, N. 1999. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) çiçek tozlarının *in vitro* çimlenmesini etkileyen faktörler. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- Visser, T. and L. M. W. Tillekeratne, 1958. Observations on the germination and storage of tea pollen and seed. Tea Quart., 29: 30-35.

---

**İletişim adresi:**

Satı ÇÖÇÜ

Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü-Ankara

Tel: 0 312 317 05 50/1465

e-mail: cöcü@agri.ankara.edu.tr