

Elma (*Malus domestica* Borkh.) Tohumlarında Katlama Süresince Bünyesel Büyüme Düzenleyici Maddelerin Değişimi Üzerine Bir Araştırma*

Mehmet Ramazan BOZHÜYÜK¹ Muharrem GÜLERYÜZ¹

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 25240, Erzurum-Türkiye
(mrbozhuyuk@gmail.com)

Geliş Tarihi : 06.05.2014

Kabul Tarihi : 22.02.2015

ÖZET: Bu çalışma 2009–2011 yılları arasında Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. Elma tohumlarında katlama süresince bünyesel büyüme düzenleyici maddelerdeki değişimi belirleyebilmek amacıyla yürütülen bu çalışmada, ulaf koleoptil testleri kullanılmıştır. Katlama süresince engelleyici maddelerin düzenli bir şekilde azalma gösterdiği, büyütücü maddelerin ise katlamanın son haftalarında önemli artışlar gösterdiği belirlenmiştir. Bünyesel büyütücü ve engelleyici maddelerin dağılım gösterdikleri Rf bölgeleri farklılık göstermesine rağmen, genellikle büyütücü maddelerin, Rf 0,2–0,3 ve Rf 0,8–1,0 bölgeleri arasında, engelleyici maddelerin ise en etkili oldukları bölgelerin Rf 0,4–0,7 bölgeleri arasında olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme düzenleyici maddeler, elma, tohum, katlama

A Study for Determining Endogenous Plant Growth Regulation Substances Changes During Stratification in Apple (*Malus domestica* Borkh.) Seeds

ABSTRACT: This study was carried out in Erzurum (Atatürk University, Agriculture Faculty, Department of Horticulture) between 2009 and 2011 years. The aim of the study was to determine the relationship between the endogenous plant growth regulation substances during the stratification in the dormant seeds of apple. Changes of the endogenous plant growth regulation substances were determined by using oat coleoptil tests. The results showed that growth inhibitors decreased periodically during stratification. It was also found that growth promoters significantly increased towards the last weeks of stratification. In the study, while growth promoters were found in the sections of Rf 0,2–0,3 and Rf 0,8–1,0, growth inhibitors were found in the sections of Rf 0,4–0,7 in the oat coleoptil tests.

Keywords: Plant growth regulation substances, apple, seed, stratification

GİRİŞ

Bitkilerde büyüme ve gelişme tohumun çimlenmesi ile başlayıp, bitkinin hayatı boyunca çeşitli fizyolojik olaylarla devam etmektedir. Çiçekli bitkilerde oluşan tohumlar ise bitki neslinin devamlılığını sağlamaktadır (Kocaçalışkan, 2008).

Meyve ağaçlarından birçoğunun (özellikle de *Rosaceae* familyasından olanların) tohumları, bazı ön işlemlerden geçirilmedikçe, çimlenme için her bakımdan elverişli ortamlara bırakıldıklarında bile, genellikle çimlenemezler veya çok düşük oranda çimlenme gösterirler. Bu durum bir rastlantı olmayıp, tohumları inaktif halde tutan bazı fizyolojik olayların bir sonucudur. Kışın yapraklarını döken meyve ağaçlarının tomurcuklardakine benzer olarak hangi nedenle olursa olsun, bir tohumun çimlenememesi, onun “dinlenmede” olmasından ileri gelmektedir. Buna göre, bir tohum botanik bakımdan olgun hale geldiği andan itibaren çimlenmeye kadar “dinlenme halinde” kalmaktadır. Tohum generatif bir üreme materyali olduğu için, çimlenmenin bir dinlenme engeli ile belirli bir süre gecikmesi, bundan meydana gelecek olan yeni bitkinin yaşamasını sağlama bakımından çok önemlidir. Aksi halde bu bitki, yaşaması için uygun şartları bulamayacağından, örneğin, çabucak gelişip sonbaharın erken donlarına ve kış soğuklarına dayanıklı hale gelemeyeceğinden veya çimlenmesi kurak zamana gelirse yeteri kadar

su bulamayacağından, ölüme mahkum olacaktır (Kaşka, 1970a).

Dinlenme halindeki tohumlarda su miktarı çok düşüktür, bu nedenle hücrelerdeki protoplazma çevre şartlarına karşı dayanıklı bir durumdadır ve tohumdaki bütün metabolik olaylar çok yavaşlamış durumdadır. Tohumun çimlenme olgunluğuna gelmesi, başka bir deyimle, dinlenmeden çıkması için, enzim faaliyetlerinin artması, depo maddelerinden karbonhidratların şekerlere, suda erimeyen proteinlerin amino asitlerine çevrilmesi gerekmektedir. Çimlenme için ilk şart, tohumun su almasıdır. Bundan sonra, solunum hızının artması, meristem hücrelerinin uzayıp genişlemesi gibi olaylar, dinlenmeden çıkan tomurcuklardaki olaylara benzer şekilde meydana gelir. Tohumlarda dinlenmenin kesilmesine etki yapan çevre şartları, örneğin, sıcaklık, ışık ve ışıklandırma süresi, büyüme düzenleyici maddeler, su ve oksijenin bünyeye girmesini kolaylaştıran mekanik işlemler, tomurcukların dinlenmeden çıkmasında etkili olan şartlara çok benzemektedir (Kaşka, 1970a).

Pollock ve Toole (1961)'e göre, dinlenmede bulunan bir tohumun durumu, vitesi boşa alınmış, freni çekilmiş, rolantide çalışan ve bu yüzden hareketsiz duran bir otomobile benzetilmektedir. Gerçekten kendisinde çimlenme için gerekli bütün

* Atatürk Üniversitesi BAP 2009/205 nolu projeye desteklenen yüksek lisans tezinden çıkarılmıştır.

maddelerin var olduğu tohum, yaşamasına devam etmekte fakat büyüüp gelişebilmesi için bunlara engel olan şartların ortadan kalkmasını beklemektedir (Kaşka, 1970a).

Katlamada tohumlar belli süre ıslak bir ortamda tutulur ki; bu esnada düşük sıcaklık (1–10°C) gereklidir. Katlama, *Prumulacae*, *Irititaceae*, *Ranunculaceae*, *Saxifragaceae* gibi birçok meyveli ve meyvesiz ağaçlar ile *Rosaceae* türlerinde uygulanır (Güleryüz, 1982).

Meyvecilikte kullanılan anaçlar, generatif olarak tohumla veya vejetatif olarak çelik ve daldırma yöntemleriyle çoğaltılmaktadır. Tohumla çoğaltmada, çöğürlerin kısa sürede aşya gelmeleri ve bunun için de çimlenmenin hızlı ve çimlenme yüzdesinin yüksek olması istenmektedir. Değişik meyve tür ve çeşitlerinin tohum veya çekirdeklerinde uygulanan katlama işlemi ile tohum veya çekirdeklerin çimlenme hızı ve yüzdesinde artış sağlanmaktadır. Büyütücü maddelerden özellikle Giberelellinlerin uygulanması ile katlama süresi kısaltılabildiği gibi bazen de katlama işlemine gerek kalmaksızın çimlenmenin gerçekleşmesi sağlanabilmektedir (Güleryüz, 1982; Polat, 2009).

Tohum dinlenmesi gösteren ve katlama uygulaması olmaksızın uniform çimlenemeyen türlerden birisi elmadır. Mevcut elma anaçlarının bir kısmını tohumdan elde edilen çöğür anaçları oluşturmaktadır. Tohum dinlenmesini kontrol eden en önemli faktörlerden birisi büyüme düzenleyici maddelerdir. Bu çalışmada öncelikli olarak elma tohumlarında katlama süresince bünyesel büyüme düzenleyici maddeler yönünden biyokimyasal değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece elmalarda kuvvetli kök sistemi oluşturan anaçların elde edilmesi sürecine ve melez tohumların çimlendirilmesi süreçlerine katkılar sağlanabileceği de düşünülmüştür.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma 2009-2011 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. Yabani elma (*Malus domestica* Borkh.) tohumları araştırmanın materyalini oluşturmuştur. Elma tohumları Bursa'da faaliyet gösteren Kutlu Fidancılık şirketinden temin edilmiştir. Elma tohumlarında katlama süresince bünyesel büyüme düzenleyici maddelerdeki değişimler kağıt kromatografisinde biyolojik test yöntemi ile kantitatif olarak incelenmiştir.

Katlama uygulaması

Tohumlar musluk suyunda yıkandıktan sonra steril kabin içerisinde %70'lik etil alkolde 3 dakika, %5'lik NaClO (sodyum hipoklorit) çözeltisi içinde de 15 dakika karıştırılarak bekletilmiştir. Yüze sterilizasyonu yapılmış tohumlar saf suyla 7 kez

yıkamıştır (Özgen vd. 1998). Katlama uygulamasında kullanılacak tohumlar 1 saat, çimlendirme uygulamasında kullanılacak tohumlar 24 saat saf su içerisinde bekletilmiştir (Takahashi ve Yamaguchi 1986). Steril elma tohumları kilitli poşetler içerisinde nemli perlit ortamında buzdolabı şartlarında +4°C'de 3 ay soğuk katlamaya tabi tutulmuştur (Westwood, 1993). Tohumlar nemli perlit içerisinde, 1 kat perlit, 1 kat tohum olacak şekilde katlanmıştır (Ülkümen ve Özbek, 1950). 3 aylık katlama süresince haftalık olarak tohumlardan örnek alınmış, kağıt kromatografisi işlemine kadar buzdolabının derin dondurucu kısmında -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyon işlemleri

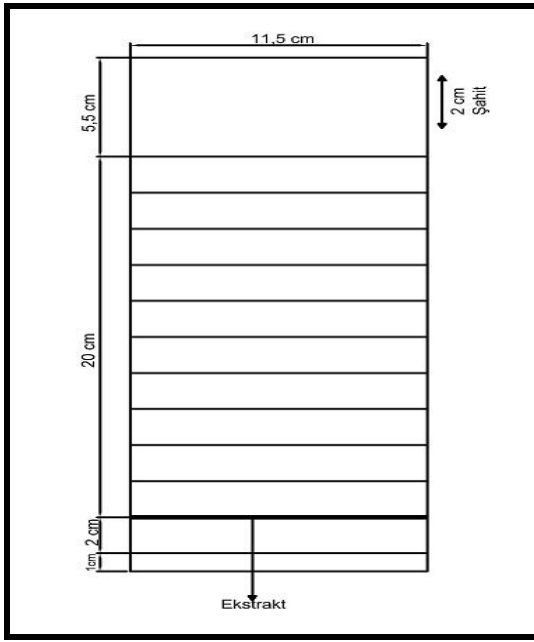
1 gr elma tohumu alınarak porselen havanda iyice ezilmiş ve 24 saat saf suda bekletildikten sonra, içerisinde metil alkol bulunan erlanmayere konulmuştur. Bundan sonra erlanmayeler çalkalayıcıda bir saat çalkalanmış ve metil alkol süzümüştür. Aynı işlem peş peşe 3 defa tekrarlanmıştır. Ekstaraktaki metil alkol uçurulduktan sonra, ekstrakt 5 ml'lik saf suya konulmuştur (Kaşka, 1970a; İstar vd., 1980). Ekstraktlar Whatman No:1 filitre kağıdından süzöldükten sonra, süzöntünün pH'sı 0,1 N KOH ile 9'a ayarlanmış ve ayırma hunisinde eterle üçer defa çalkalanmıştır. Daha sonra pH değeri HCl ile 3'e ayarlanarak yine eterle üçer defa çalkalanarak, her ekstrakt ayrı ayrı cam vakum balonlarına alınmıştır. Balona alınan eter düşük basınç altında uçurulduktan sonra, balonda kalan ekstrakt 1 ml metil alkolde eritilerek kağıt kromatografisinde kullanılmıştır (Kaşka, 1970a; Şen, 1976).

Kağıt kromatografisi işlemleri

Çalışma süresince Whatman MM 3 tipi kromatografi kağıdı kullanılmıştır. Kromatografi kağıtları 11,5 cm genişliğinde ve 28,5 cm uzunluğunda olacak şekilde hazırlanmıştır (Şekil 1). Kromatografi kağıdının altından 1 cm'lik, üstünden 5,5 cm'lik şeridi boş bırakıldıktan sonra, 2 cm aralıklarla 11 şerit meydana getirilecek şekilde 12 adet paralel çizgi çizilmiştir (Kawase, 1966, 1970; Fadl ve Hartmann, 1967a, 1967b; Ashiru ve Carlson, 1968; Rudnicki, 1969; Kaşka, 1970a; Lipecki ve Dennis 1972; Şen, 1976; İstar vd., 1977, 1980; Güleryüz ve Bolat, 1987).

Metil alkole geçirilen ekstrakt 0,1 ml'lik pipetlerle, kromatografi kağıdının alttan ikinci çizgisi üzerine (sıfır çizgisi) emdirilmiş (Kaşka, 1970a), kağıttaki metil alkol bir kurutucu yardımıyla uçurulmuştur (Şen, 1976). Ekstraktı taşıyan bu kağıt, içinde 8:1:1 oranında izopropil alkol:amonyak:su karışımı bulunan kromatografi tankında banyo edilmiştir. Kromatografi tankının havasını devamlı

olarak tank çözeltisiyle doymun halde tutabilmek için cam malzemeden yapılmış tank kullanılmış ve tankın üzeri Whatman kağıdıyla kapatılmıştır. 7–8 saatlik banyo süresinde, sıfır çizgisine emdirilen ekstrakt 12. çizgiye kadar oransal akışkanlık yeteneklerine göre (Rf değeri), dağılma göstermiştir (Şen 1976). Bu süre sonunda tanktan çıkarılan kromatografi kağıdı, karanlık bir yerde kurutulularak biyolojik test işlemi yapıncaya kadar, dosya içine konmuş teksir kağıtları arasında -20°C’de muhafaza edilmiştir (Şen, 1976; İhtar vd., 1977).



Şekil 1. Kağıt kromatografisinde kullanılan kağıdın ölçüleri. Sıfır hattındaki koyu renk ekstrakt sınırını göstermektedir.

Biyolojik test işlemleri

Bünyesel engelleyici ve büyütücü maddeleri belirleyebilmek için “Yulaf Koleoptil Büyüme Testi” kullanılmıştır (Kawase, 1966; Kaşka, 1970a, 1970b; İhtar vd., 1980; Güteryüz ve Bolat, 1987). Denemede biyolojik test bitkisi olarak yulaf kullanılmıştır. Testte kullanılacak yulaf tohumları 1-2 saat suda bekletildikten sonra içlerine perlit konulan plastik kutulara pensle birer birer ekilmiştir. Kutulara su püskürtmek suretiyle nem durumu ayarlandıktan sonra, üzerleri plastik örtülerle kapatılıp 27°C’deki çimlendirme dolabına yerleştirilmiştir. Bu koşullarda tohumlar 72 saat sonra testte kullanılmaya hazır duruma gelmişlerdir. Yulaf koleoptillerinin, testte kullanılan kısmı bunların tepeden itibaren 5 mm uzunluktaki silindirik şeklinde parçaları olmuştur. Bu parçaların daha çabuk ve kolay kesilmesi için özel alet kullanılmıştır (Kaşka, 1970a).

Tohum numunelerinden elde edilen ekstraktları taşıyan ve daha önce kromatografi tankında banyo edildikten sonra saklanan kromatografi kağıtları alınarak, daha önceden çizilmiş olan aralıklardan 15 ml’lik beherlere konacak şekilde kesilmişlerdir (Şen, 1976). Kromatografi kağıdının Rf değerlerine göre şahit de dahil 12 beherin her birine 5 ml’lik saf su konmuştur. Daha sonra bu beherlere test işleminde kullanılan ayrı ayrı 5 adet yulaf koleoptil koyularak 27°C’deki çimlendirme dolabına yerleştirilmiştir. Çimlendirme dolabında 20-24 saat bekletildikten sonra, elma tohumlarının ekstraktlarında bulunan büyümeyi engelleyici ve büyütücü maddelerin etkileri koleoptillerde meydana gelen büyümeleri ölçmek suretiyle olmuştur. Koleoptil uzamaları milimetreyle steromikroskopta ölçülmüştür (Ünyayar ve Topcuoğlu, 1998).

İstatistiki değerlendirmeler

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Bütün verilerin varyans analizleri ile çoklu karşılaştırma testleri SAS enstitüsünün geliştirdiği JMP.5 istatistik programında yapılmıştır. Ekstraktın emdirildiği kromatografi kağıdında, iki çizgi aralığına isabet eden her Rf bölgesi ve şahit ayrı birer uygulama alanı kabul edilmiş ve elde edilen koleoptil uzunlukları tesadüf parselleri deneme desenine göre varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalama koleoptil uzunluklarının şahit ortalamasıyla karşılaştırılmasında Asgari Önemli Fark (Least Significant Difference-LSD) testi kullanılmıştır (Düzgüneş, 1993).

Ayrıca şahitte bulunan ortalama koleoptil uzunlukları 100 kabul edilerek Rf değerlerinin histogramları çizilmiş, böylece hangi Rf değerlerinde bünyesel engelleyici ve büyütücü maddelerin bulunduğu saptanmaya çalışılmıştır (İhtar vd., 1977).

BULGULAR

Biyolojik test işleminde kullanılan yulaf koleoptillerinde meydana gelen büyüme değerlerinin varyans analiz sonuçları Çizelge 1’de, LSD çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir. Kağıt kromatografisi üzerinde çeşitli Rf bölgelerinin yulaf koleoptil büyümesi üzerine etkileri istatistiksel olarak P<0,01 düzeyinde çok önemli bulunmuştur (Çizelge 1). Katlanmamış ve 2, 4, 6, 8, 10, 12 hafta katlanmış elma tohumlarına uygulanan yulaf koleoptil testi sonuçları Şekil 2’de ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Katlamaya tabi tutulmamış elma tohumlarında Rf -0,1–0,1, Rf 0,2–0,3 ve Rf 0,8–0,9 bölgelerinde az miktarda büyütücü maddeler bulunmuş ve bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre %3,33–10 oranlarında artırmıştır. Rf 0,1–0,2, Rf 0,9–1,0 ve özellikle Rf 0,3–0,8 bölgelerinde ise,

fazla miktarda büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre, maksimum noktada %33,34 oranında engellemiş ve alan olarak da oldukça geniş bir yüzey kaplamıştır (Şekil 2.).

İki hafta katlamaya tabi tutulmuş elma tohumlarında Rf -0,1-0,1 ve Rf 0,8-1,0 bölgelerinde büyütücü maddeler bulunmuş ve bu maddelerin yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre %1,66-6,66 oranları arasında artırdığı tespit edilmiştir. Rf 0,1-0,8 bölgelerinde ise fazla miktarda büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre %1,67-31,67 oranları arasında engellemiştir (Şekil 2.).

Dört hafta katlamaya tabi tutulmuş elma tohumlarında Rf -0,1-0,0 ve Rf 0,8-1,0 bölgelerinde büyütücü maddeler bulunmuş ve bu maddelerin yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla

%4,99 ve %1,66-7,49 oranları arasında artırdığı tespit edilmiştir. Rf 0,0-0,8 bölgelerinde ise fazla miktarda büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre %3,34-30 oranları arasında engellemiştir (Şekil 2.).

Altı hafta katlamaya tabi tutulmuş elma tohumlarında Rf 0,2-0,3 ve Rf 0,7-1,0 bölgelerinde büyütücü maddeler bulunmuş ve bu maddelerin yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %4,16 ve %3,33-7,49 oranları arasında artırdığı tespit edilmiştir. Rf -0,1-0,2 ve Rf 0,3-0,7 bölgelerinde ise büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %0,83-6,67 ve %13,4-22,5 oranları arasında engellemiştir (Şekil 2.).

Çizelge 1. Katlanmamış ve 2-12 hafta katlanmış elma tohumlarındaki bünyesel büyüme düzenleyici maddelerin yulaf koleoptilinde meydana getirdiği büyüme değerleriyle ilgili varyans analizi sonuçları

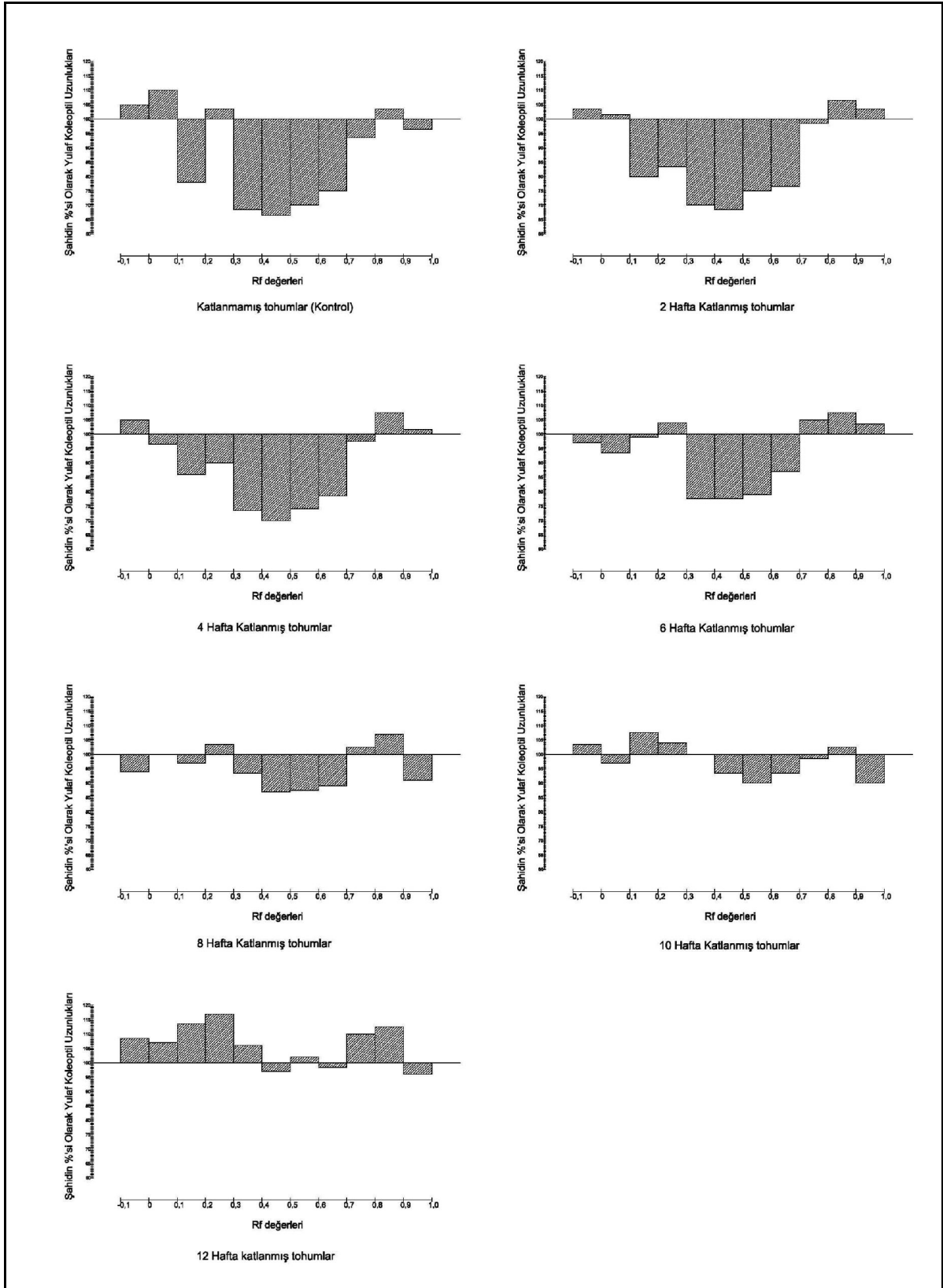
Varyasyon Kaynağı	Katlanmamış			2. Hafta		4. Hafta		6. Hafta	
	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Kareler Ortalaması	F	Kareler Ortalaması	F	Kareler Ortalaması	F
Rf Değerleri	11	0,950	855**	0,755	543,87**	0,638	382,909**	0,452	296,03**
Hata	36	0,001		0,001		0,001		0,001	
Varyasyon Kaynağı	8.Hafta			10. Hafta		12. Hafta			
	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F	Kareler Ortalaması	F	Kareler Ortalaması	F	Kareler Ortalaması	F
Rf Değerleri	11	0,158	152,49**	0,117	129,62**	0,174	119,51**		
Hata	36	0,001		0,0009		0,001			

** %1 ihtimal sınırına göre önemli (p<0,01)

Çizelge 2. Katlanmamış ve 2-12 hafta katlanmış elma tohumlarındaki bünyesel büyüme düzenleyici maddelerin yulaf koleoptilinde meydana getirdiği büyüme değerlerine ait LSD Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

Rf Değerleri	Katlanmamış	2. Hafta	4. Hafta	6. Hafta	8.Hafta	10. Hafta	12. Hafta
Kontrol	3,00 d	3,00 cd	3,00 c	3,00 c	3,00 c	3,00 d	3,00 fg
-0,1	3,15 b	3,10 b	3,15 b	2,90 d	2,82 e	3,10 bc	3,20 cd
0,1	3,30 a	3,05 bc	2,90 d	2,80 e	3,00 c	2,90 f	3,20 de
0,2	2,35 g	2,40 f	2,57 f	2,97 c	2,90 d	3,22 a	3,40 b
0,3	3,10 c	2,65 e	2,70 e	3,12 b	3,10 b	3,12 b	3,50 a
0,4	2,05 j	2,10 h	2,20 h	2,32 g	2,80 e	3,00 d	3,17 e
0,5	2,00 k	2,05 h	2,10 ı	2,32 g	2,60 h	2,80 g	2,90 hı
0,6	2,10 ı	2,25 g	2,22 h	2,37 g	2,62 h	2,70 h	3,05 f
0,7	2,25 h	2,30 g	2,35 g	2,60 f	2,67 g	2,80 g	2,95 gh
0,8	2,80 f	2,95 d	2,92 d	3,15 b	3,07 b	2,95 e	3,30 c
0,9	3,10 c	3,20 a	3,22 a	3,22 a	3,20 a	3,07 c	3,37 b
1,0	2,90 e	3,10 b	3,05 c	3,10 b	2,72 f	2,70 h	2,87 ı
LSD(0,01)	0,047	0,053	0,058	0,056	0,046	0,043	0,054

Farklı harflerle gösterilen ortalamalar %1 ihtimalle birbirinden farklıdır.



Şekil 2. Üç ay boyunca katlamaya tabi tutulan elma tohumlarından elde edilen ekstarktların, yulaf koleoptillerinin büyümesinde meydana getirdiği artış ve azalış oranları

Sekiz hafta katlamaya tabi tutulmuş elma tohumlarında Rf 0,2–0,3 ve Rf 0,7–0,9 bölgelerinde büyütücü maddeler bulunmuş ve bu maddelerin yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %3,33 ve %2,49–6,66 oranları arasında artırdığı tespit edilmiştir. Rf -0,1–0,0, Rf 0,1–0,2, Rf 0,3–0,7 ve Rf 0,9–1,0 bölgelerinde ise büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %5,83, %3,34, %6,67–13,34 ve %9,17 oranları arasında engellemiştir (Şekil 2).

On hafta katlamaya tabi tutulmuş elma tohumlarında Rf -0,1–0,0, Rf 0,1–0,3 ve Rf 0,8–0,9 bölgelerinde maddeler bulunmuş ve bu maddelerin yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %3,33, %4,16–7,49 ve %2,49 oranları arasında artırdığı tespit edilmiştir. Rf 0,0–0,1, Rf 0,4–0,7 ve Rf 0,9–1,0 bölgelerinde ise büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %3,34, %1,67–10 oranları arasında engellemiştir (Şekil 2).

Oniki hafta katlamaya tabi tutulmuş elma tohumlarında büyütücü maddelerin oldukça geniş bir bölgede etki düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir. Rf -0,1–0,4, Rf 0,5–0,6 ve Rf 0,7–0,9 bölgelerinde büyütücü maddeler bulunmuş ve bu maddelerin yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %5,82–16,66, %1,66 ve %10–12,49 oranları arasında artırdığı tespit edilmiştir. Engelleyici maddelerin etkilerinin oldukça azaldığı küçük bir bölgede etkili olduğu bulunmuştur. Rf 0,4–0,5, Rf 0,6–0,7 ve Rf 0,9–1,0 bölgelerinde büyüme engelleyici maddeler bulunmuştur. Bu maddeler yulaf koleoptillerinin büyümesini şahite göre sırasıyla %3,34, %1,67 ve %4,19 oranlarında engellemiştir (Şekil 2).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Araştırmada elma tohumlarında katlama süresi uzadıkça yulaf koleoptil testlerinde engelleyici maddelerin düzenli bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (Şekil 2). Kaşka (1970a), zerdali ve Kütahya vişnesi çekirdeklerinde yaptığı çalışmada, katlama süresince tohumların sert kabuk, tohum kabuğu ve embriyolarında ayrı ayrı yulaf koleoptil testleri uygulamış, özellikle embriyo ve tohum kabuklarında katlama uygulamasının sonuna doğru engelleyicilerin (ABA) miktar olarak çok düşük seviyelere düştüğünü bildirmiştir. Luckwill (1952), Pieniasek and Grochowska (1967) ve Rudnicki (1969) elma, Lasheen ve Blackhurts (1956) ahududu, Martin vd., (1969) ceviz çekirdeklerinde dinlenmenin tohum kabukları veya tohumdaki engelleyiciler olduğunu ve bunların katlama sırasında azaldıklarını veya tamamen ortadan kaybolduklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, katlama süresinin sonuna doğru

engelleyici maddelerin miktarının veya aktivitelerinin oldukça düştüğü belirlenmiş ve bu durum daha önceki çalışmalar ile paralellik göstermiştir.

Elma tohumlarındaki engelleyiciler üzerinde çalışan Luckwill (1952), tohum kabuklarında oldukça yüksek konsantrasyonlarda büyüme engelleyici maddelerin bulunduğu ve bu maddelerin, çekirdeklerin +4°C’de katlanmasıyla kaybolduğunu bildirmiştir. Araştırmacıya göre, asit karakterli olan bu engelleyici, tohumların kuru olarak saklanması sırasında embriyo ve endospermden kaybolmakta, fakat tohum kabuklarında varlığını muhafaza etmektedir. Katlanan elma tohumlarında engelleyiciler önce endosperm ve embriyodan kaybolmakta, sonra tohum kabuklarında yıkanmakta ve bu devrede ayrıca embriyoda büyütücü maddeler ortaya çıkmaktadır. Araştırmacı, bu sonuçlara dayanarak, tohumlardaki dinlenmenin kesilmesini, engelleyicilerin ortadan kalkmasından çok, büyütücü maddelerin meydana gelmesine bağlamaktadır. Bizim bulduğumuz sonuçlar Luckwill’in bulunduğu sonuçlara benzerlik göstermektedir.

Büyütücü maddelerin özellikle 10–12 hafta katlanan tohumlarda etkisini artırdığı belirlenmiştir. Bünyesel büyütücü ve engelleyici maddelerin dağılım gösterdikleri Rf bölgeleri farklılık göstermesine rağmen, genellikle büyütücü maddelerin, Rf 0,2–0,3 ve Rf 0,8–1,0 bölgeleri arasında, engelleyici maddelerin ise en etkili oldukları bölgelerin Rf 0,4–0,7 bölgeleri arasında olduğu belirlenmiştir (Şekil 2). Bu maddelerin oransal akışkanlık oranlarının (Rf) geniş bir bölgede görülmüş olması, nitelik yönünden değişik kimyasal yapıda birden çok bünyesel büyütücü veya engelleyici maddelerin bulunabileceğini göstermektedir (İştar vd. 1980).

Luckwill (1952) elma tohumlarında engelleyicilerin Rf 0,45–0,65; yine elmalar üzerinde çalışan Ashiru ve Carlson (1968) MM 106 ve EM 2 elma anaçlarında engelleyicilerin Rf 0,8–0,9, büyütücülerin Rf 0,25–0,45; İştar vd., (1980) elma çeliklerinde engelleyicilerin Rf 0,1–0,2 ve Rf 0,3–0,7, büyütücülerin Rf 0,7–1,0, Rf 0,1–0,3 ve Rf 0,7–0,9 bölgeleri arasında olduğunu saptamışlardır.

Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen bulgulardan bilimsel yönden olduğu kadar pratik yetiştiricilik için de önemli bazı sonuçlar çıkarılabilir. Melezleme ıslahında ve fidancılıkta tohumdan yetiştirilen çöğürlere büyük ölçüde ihtiyaç vardır. Özellikle çöğür eldesinde katlanmış elma tohumlarının, katlanmamış olanlara göre çıkış randımanlarının daha yüksek olacağı gerçeği yanında; katlamanın başlangıcında engelleyicilerin, sonunda büyütücülerin oransal olarak yüksek bulunması, tohum çimlenmesinin büyütücülerin (bilhassa Giberellinlerin) ve engelleyicilerin birlikte

etkileri ile düzenlendiği hipotezini de doğrulamıştır (Güleriyüz, 1982). Buradan çöğür eldesinde elma tohumlarının doğrudan tohum parsellerine ekilmeden en az üç ay önce katlamaya alınmaları gerçeği ortaya çıkmaktadır. Kısaca tohumlar su alıp şiştikten sonra devamlı gelişmeleri için bünyesel engelleyicilerin azalıp, büyütücülerin aktif duruma gelmeleri veya artış göstermeleri için katlamaya tabi tutulmaları zorunluluğu bulunmaktadır. Hatta tohum çimlenmesinde önemli büyütücü maddelerin başında büyük bir ihtimalle GA'in önemli olduğu değişik tür tohumlara dışardan yapılan uygulamalarda da görmek mümkün olmuştur (Güleriyüz, 1982).

KAYNAKLAR

- Ashiru, G. A., Carlson, R.F., 1968. Some endogenous rooting factors associated with rooting of East Malling II and Metron 106 apple clones. Proc. Amer. So. Hort. Sci., 92, 106-112.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F., 1993. İstatistik Metotları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1291, Ankara, 218s.
- Fadl, M., Hartmann, H.T., 1967a. Isolation, purification and characterization of an endogenous root promoting factor obtained from basal section of pear hardwood cuttings. Plant Physiol., 42, p 541-549.
- Fadl, M., Hartmann, H.T., 1967b. Relationship between seasonal changes in endogenous promoters and inhibitors in pear buds and cuttings bases and rooting of pear hardwood cuttings. Proc. Amer. Hort. Sci., 91, p 96-112.
- Güleriyüz, M. 1982. Bahçe Ziraatında Büyütücü ve Engelleyici Maddelerin Kullanılması ve Önemi. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 279, Erzurum, 130s.
- Güleriyüz, M., Bolat, İ., 1987. Frenk üzümünde çiçeklenmeyle bünyesel hormonlar arasındaki ilişkiler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Dergisi, 18(1-4), 1-14s.
- İştar, A., Güleriyüz, M., Şen, S.M., 1977. Frenk üzümü (*Ribes nigrum*, *Ribes rubrum* L.) çeliklerinde bünyesel hormonlarla köklenme arasındaki ilişkiler üzerinde bir araştırma. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 8 (1):67-81.
- İştar, A., Güleriyüz, M., Şen, S.M., 1980. Elma ve üzüm çeliklerinde, bünyesel hormonlarla köklenme arasındaki ilişkiler üzerine bir araştırma. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 11(1-2):21-43.
- Kaşka, N. 1970a. Zerdali ve Kütahya vişnesi çekirdeklerinde Absisik asit miktarları ve katlama işlemi süresince bu miktarlarda ortaya çıkan değişiklikler üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, No: 431, Ankara, 104.
- Kaşka, N. 1970b. Vişnelerde büyümeyi düzenleyici maddeler üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, No: 431, Ankara, 579-596.
- Kawase, M. 1966. Growth- Inhibiting Substance and Bud Dormancy in Woody Plants. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 89, p 752-757.
- Kawase, M. 1970. Root-promoting substances in *Salix alba* L. Physio. Plant., 23, 159-169
- Kocaçalışkan, İ. 2008. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayın Dağıtım, Kütahya, 318 s.
- Lasheen, A.M., Blackhurst, H.T., 1956. Biochemical changes associated with dormancy and after- ripening of blackberry seed. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 67, 331-339.
- Lipecki, J., Dennis, F.G., 1972. Growth inhibitors and rooting cofactors in relation to rooting response of softwood apple cuttings. HortScience, 7(2):136-138.
- Luckwill, L.C., 1952. Growth inhibiting and growth promoting substances in relation to the dormancy and after- ripening of apple seeds. J. Hort. Sci., 27:53-67.
- Martin, G. C., Mason, M.I.R., Forde, H.I, 1969. Changes in endogenous growth-substances in the embryos of *Juglans regia* during stratification. Jour. Amer. Soc. Hort. Sci., 90:13-17.
- Özgen, M., Türet, M., Altınok, S., Sancak, C., 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Plant Cell Reports, 118: 331-335.
- Pienizaek, J., Grochowska, M.J., 1967. The role of the natural growth inhibitor (Abscisic II) in apple seed germination and the changes in the content of phenolic substances during stratification. Acta Soc. Botanicorum Pol. 31:580-587.
- Polat, A.A. 2009. Bitki büyümesini düzenleyici maddeler, özellikleri ve meyvecilikte kullanım alanları. Genel Meyvecilik 2. baskı, Ed: R. Gerçekcioğlu, Ş. Bilgener, A. Soylu. Nobel Yayın. 205-283.
- Pollock, B.M., Toole, V.K., 1961. Afterripening, rest period and dormancy in seeds. Yearbook of Agriculture U.S.D.A., 106-112.
- Rudnicki, R. 1969. Studies on abscisic acid in apple seeds. Planta, 86:63-68.
- Şen, S.M. 1976. Yılın değişik dönemlerinde alman armut çeliklerinde bünyesel hormon düzeylerindeki değişiklikler ve bunlarla çeliklerin köklenmeleri arasındaki ilişkiler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak (Doktora tezi Basılmamış), Erzurum.
- Takahashi, N., Yamaguchi, I., 1986. Analyses of endogeneous plant hormone levels throughout the life of higher plant. Acta Hort, 179: p 47-71.
- Ülkümen, L. ve Özbek, S., 1950. Modern Meyvecilik. Ankara Üniversitesi Basım Evi, 116s, Ankara.
- Ünyayar, S., Topcuoğlu, Ş.F., 1998. *Phanerochaete chrysosporium* ME 446' dan elde edilen Indol-3-Asetik Asit (IAA), Gibberellik Asit (GA), Absisik Asit (ABA) ve Zeatin'in biyolojik aktivitelerinin tayini. Tr.j. of Biology, 22:29-42.
- Westwood, M.N. 1993. Temperate-Zone Pomology. Physiology and Culture. 3rd ed. Timber Press Inc., Portland, Oregon, USA