

Yağ Gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nün Çiçek Morfolojisi ve Polen Canlılığı Üzerine Bir Araştırma

Sabri ERBAŞ Mehmet ALAGÖZ Hasan BAYDAR

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 32260, Isparta
Sorumlu yazar: sabrierbas@sdu.edu.tr

Geliş tarihi: 06.06.2015, Yayına kabul tarihi: 16.08.2015

Özet: Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde yürütülen bu araştırmada yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.) polenlerinin çiçeklenme sezonu boyunca 3 farklı dönemde (çiçeklenme başı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonu), 2 farklı depolama sıcaklığında (4°C ve 25°C) ve 5 farklı depolama süresinde (3, 6, 9, 12 ve 15 gün) kimyasal (Safranin, IKI ve TTC) ve biyolojik (doymuş petri) testleri uygulanarak polen canlılığı ile hemasitometrik yöntemle anterde polen sayıları belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Yağ gülü çiçeklerinde çiçeklenme sezonu boyunca petal sayısı 29.3-33.0 adet, anter sayısı 86.4-89.6 adet, stigma sayısı 43.5-45.2 adet ve anterde polen sayısı 45.000-53.000 adet arasında değişmiştir. Uygulanan bütün kimyasal ve biyolojik canlılık testlerinde, çiçeklenme sezonu ilerledikçe anterde polen sayısı ve canlılık oranları azalmıştır. Her iki depolama sıcaklığında da depolama süresi uzadıkça polen canlılık oranları düşmüş, 4°C'de depolanan polenlerin canlılık oranları depolama süresi boyunca 25°C'de depolanan polenlere göre genelde daha yüksek olarak bulunmuştur. Çalışmada çiçeklenme zamanı ve depolama koşulları optimize edilerek polen canlılığının birkaç hafta sürdürülebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Yağ gülü, *Rosa damascena*, çiçek morfolojisi, polen canlılığı

A Research on Flower Morphology and Pollen Viability of Oil-bearing Rose (*Rosa damascena* Mill.)

Abstract: This research was conducted to determine the effects of three flowering period (beginning flowering period, mid flowering period and end of flowering period), two storage temperature (+4°C and 25°C) and five storage time (3, 6, 9, 12 and 15 days) on pollen viability of oil-bearing rose (*R. damascena* Mill.) by using chemical (safranin, IKI and TTC) and biological (agar plate) tests at Suleyman Demirel University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Isparta, Turkey. The number of pollen per anther was also determined in the flowering periods by using hemacytometric method. During the flowering periods, petal number per flower was between 29.3 and 33.3, anther number per flower was between 86.4 and 89.6, stigma number per flower was between 43.2 and 45.2, and pollen number per anther was between 45.000 and 53.000. Poen number per anther and pollen viability measured by the chemical and biological tests decreased duration of flowering season. In both storage temperature, polen viability decreased when storagetime increases. The viability of pollen stored at 4 °C was generally higher than at 25 °C during storage time. Pollen viability may take several weeks by optimizing the flowering time and storage conditions.

Key words: Oil-bearing rose, *Rosa damascena*, flower morphology, pollen viability

Giriş

Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.), bilinen 150 kadar gül türü (*Rosa* spp.) arasında endüstriyel olarak kokusundan faydalanılan en önemli kokulu gül türüdür. Yağ gülü çiçeklerinin damıtma (gül yağı ve gül suyu) ve ekstraksiyon (konkret ve absolüt) ürünleri parfüm ve kozmetik endüstrisi için en önemli uçucu yağ

kaynağıdır. Türkiye, Göller yöresinde 1887/88 yılında başlayan yağ gülcülüğü sayesinde, en büyük rakibi olan Bulgaristan ile birlikte dünyanın en önemli üretim üstüdür. Isparta ili merkez olmak üzere Göller yöresinde yaklaşık 25 bin da yağ gülü plantasyonu bulunmaktadır. Yörede kurulu 20 kadar distilasyon ve ekstraksiyon tesisinde her yıl 1.5 tona yakın gül yağı, 5 tonun üzerinde konkret ve 2 tona yakın absolüt üretilmektedir (Baydar ve Kazaz, 2013).

Gül yağını meydana getiren 150'den fazla koku molekülü olması ve siynerjik olarak her bir molekülün koku oluşumuna katkı sağlaması nedeniyle, gül yağının doğal kokusunu sentetik olarak elde etmek neredeyse imkânsızdır. Gül yağı standartları dünyada ISO 9842:2003 ve Türkiye'de TS 1040:1971 esas alınarak belirlenmektedir. Türk gül yağı dünya parfümeri endüstrisinde yerini almış, standartlarını yerleştirmiştir. Türk gül yağlarında yapılan GC/FID ve GC/MS analizlerinde gül yağının en önemli koku bileşenlerinin *linalool*, *sitronellol*, *nerol* ve *geraniol* gibi monoterpenik alkoller olduğu, ayrıca *nonadesan*, *nonadesen*, *eikosan*, *heneikosan* ve *trikosan* gibi uzun zincirli hidrokarbonlar, *humulen* ve *murolen* gibi seskiterpenler, *metil öjenol* gibi oksit ve eterler, *geranil asetat* ve *geranial* gibi ester ve aldehitler ile *öjenol* gibi fenoller olduğu tespit edilmiştir (Anaç, 1984; Başer, 1992; Bayrak ve Akgül, 1994; Başer ve ark., 2003).

Yüksek oranda yabancı tozlaşan ve döllenme yağ gülü (*Rosa* × *damascena* Mill.), *Rosa gallica* L. ve *Rosa phoenicia* Boiss. türlerinin doğal bir melezidir (bir görüşe göre *Rosa gallica* L. × *Rosa moschata* Herrm. melezidir) ve $2n(4x) = 28$ kromozomlu allotetraploit bir türdür. Farklı iki veya belki de daha fazla sayıda yabancı gül türünün doğal bir melez olan yağ gülünün bu nedenle genom yapısı oldukça karışıktır ve genetik araştırmalar için oldukça sorunludur (Rusanovet al., 2009a,b). Bugüne kadar yağ gülü genetiği üzerinde yapılan sınırlı sayıdaki araştırmalar henüz yağ gülünün genetik kökenini tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir.

Diğer çiçekli bitkilerde olduğu gibi güllerde de tohum oluşumu tozlaşma,

döllenme ve embriyogenesis gibi bir takım genetik ve fizyolojik olayların dâhil olduğu generatif bir etkinliğin sonucudur. Yağ gülü gibi allopoliploidgenomlu gül türleri allogamik eşeyssel üreme ve kendine uyumsuzluk gibi nedenlerle çok az meyve ve tohum üretirler (Bendahmane et al., 2013). Üstelik sınırlı sayıda üretilen tohumun yüksek derecede dormansi gösterdiğinden çimlenme yetenekleri çok azdır (Kazaz ve ark., 2010). Gül türlerinde ticari beklentiler doğrultusunda yaygın olarak ıslah çalışmaları çiçek şekli ve yapısı, petal sayısı ve rengi ile hastalıklara dayanıklılık üzerinde yoğunlaşmıştır. Koku yoğunluğu ile vazo ömrü arasındaki negatif ilişkiden dolayı geliştirilen modern bahçe gülleri ile saksı ve kesme güller neredeyse kokusuz denilebilecek düzeyde az kokuludurlar. Son yıllarda kokulu güllere olan yoğun ilgi nedeniyle aynı zamanda kokulu gül çeşitlerinin geliştirilmesine de çalışılmakta, bu amaçla bilhassa Damask güllerinin genlerinden yararlanma yolları (konvansiyonel ve biyoteknolojik ıslah metotları yardımıyla) araştırılmaktadır (Gudin, 2000).

Dünyada birçok farklı kültür bitkisinde genetik mühendisliği ürünü olan transgenik çeşitler tarımsal olarak kültürü yapılmakla birlikte, yağ gülünde bugüne kadar henüz ticari bir transgenik çeşit geliştirilmemiş ve nihayetinde tarımsal üretimi de yapılmamaktadır. Bulgaristan ve Türkiye'deki biyoteknoloji ürünler (GMO) ile ilgili mevcut yasalar genetik mühendisliği ile ilgili araştırmalara izin vermekle birlikte, transgenik yağ gülü çeşitlerin endüstriyel üretimini yasaklamaktadır. Bu nedenle yağ gülü ıslahında ve çeşit geliştirme çalışmalarında klasik yöntemler (seleksiyon, melezleme, mutasyon, vb) önemini korumaktadır (Kovatcheva, 2011). Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi, yağ gülünde de etkili genetik varyasyon yaratma yollarından birisi türler arası ve türler içi melezlemedir. Örneğin Ticari uçucu yağ üretiminde *Rosa damascena* türünden başka *R. gallica*, *R. centifolia*, *R. phoenicia*, *R. moschata* ve *R. alba* gibi diğer kokulu gül türlerinden de faydalanılmakta, bu türlerin *R. damascena* ile melezlenmesi ile elde edilen hibritlerden

yararlanmak için melezleme ıslahına başvurulmaktadır. Özellikle *R. damascena*'nın polen ebeveyni olarak kullanıldığı melezlerden elde edilen varyeteler yüksek yağ oranına sahip olduğu rapor edilmektedir (Staikov, 1975). Bu nedenle başarılı bir melezleme prosedürü için en başta tozlaşma ve döllenme biyolojisinin iyi bilinmesi ve özellikle polen ebeveyni olarak seçilen türün polen canlılığının ve çimlenme yeteneğinin yüksek olması istenmektedir (Farooq et al., 2013). Ancak bu konuda bugüne kadar diğer bazı gül türleri üzerinde araştırmalar yapılmış ise de yağ gülünde yapılan araştırmalar çok sınırlı kalmıştır.

Bu araştırmada, yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.) polenlerinin çiçeklenme sezonu boyunca 3 dönemde (çiçeklenme başı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonu), 2 farklı depolama sıcaklığında (4 °C ve 25 °C) ve 5 farklı depolama süresinde (3, 6, 9, 12 ve 15 gün) kimyasal (Safranin, IKI ve TTC) ve biyolojik (Doymuş petri) canlılık testleri uygulanarak canlılık ve çimlenme oranları (%) ile çiçeklenme sezonu süresince morfolojik olarak çiçek organlarındaki değişimler belirlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada; Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne aityağ gülü araştırma bahçesinde bulunan (37°45' K ve 30°33' D, 997 m) yağ gülü (*Rosa damascena* Miller) çiçekleri kullanılmıştır. Yağ gülünün çiçekleri 2012 yılı çiçeklenme sezonunda çiçeklenme başı (Mayıs ayının 2. yarısı), ortası (Haziran ayının 1. yarısı) ve sonunda (Haziran ayının 2. yarısı) olmak üzere 3 dönemde toplanmıştır. Toplanan taze yağ gülü çiçeklerinde polenler anterlerden ayrılarak 4°C ve 25°C olmak üzere iki farklı ortamda petri kaplarında depolanmıştır. Depolanan polenlerden canlılık testleri kontrol (depolama öncesi), 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerde olmak üzere 3'er gün arayla yapılmıştır.

Çiçek morfolojisinin incelenmesi

Yağ gülü çiçeklerinin bazı önemli morfolojik özelliklerinin incelenmesi için

sabahın erken saatlerinde toplanan çiçeklerde (Şekil 1a); çiçek çapı (cm adet⁻¹), petal sayısı (adet çiçek⁻¹), petal oranı (%), anter sayısı (adet çiçek⁻¹), anter çapı (mm adet⁻¹), filament uzunluğu (mm adet⁻¹) ve pistil uzunluğu (mm adet⁻¹) özellikleri incelenmiştir. Ölçümler 3 tekerrürlü olarak toplam 150 (50 x 3 = 150) çiçekte yapılmıştır.

Polen miktarının belirlenmesi

Henüz açmak üzere olan yağ gülü çiçekleri 3 gruba bölünerek çiçeklerin anterleri ayrılmış (Şekil 1b) ve cam şişelere konulmuştur. Anterlerin patlaması ve polen tozlarının saçılması için cam şişeler ağzı açık olarak güneş alan bir ortamda 1 gün bekletilmiştir. Daha sonra cam şişelere belirli miktarda (1-10 ml) damıtık su konulmuş ve suyun üzerine homojen çiçek tozu dağılımı sağlamak amacıyla, yüzey gerilimini azaltacak tween 20 eklenerek cam bagetle karıştırılmıştır. Bu şekilde birkaç saat bekledikten sonra hemisitometrik lam tekniği ile polen sayımı yapılmıştır (Eti, 1990).

Polencanlığı ve çimlenme testleri

Safranin testi: 1 g safranin 40 ml etil alkolde çözülüp saf suyla 100 ml'ye tamamlanarak stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra 1 kısım stok, 2 kısım gliserol ve 1 kısım saf su (1:2:1) karıştırılmış ve lam üzerine serpilmiş polenlerin üzerine damlatılmıştır. Polenler mikroskop altında hemen incelemeye alınmış (Şekil 1c) ve koyu kırmızıya boyanan polenler canlı, açık kırmızı, pembe ve boyanmayan polenler ise cansız olarak kabul edilmiştir (Eti, 1990).

IKI testi (iyotlu potasyum iyodür): 1 g potasyum iyodür (IKI) ve 0.5 g iyot (I) 100 ml saf suda eritilerek IKI çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden alınan 1 damla lam üzerine serpilmiş polen üzerine damlatılıp mikroskopta hemen incelenmiştir (Şekil 1d). Koyu kahverengi boyanan polenler canlı, daha açık sarı veya renksiz olan polenler cansız olarak kabul edilmiştir (Eti, 1990).

TTC testi (2,3,5 triphenyl tetrazolium chlorid): Yeni açmış çiçeklerden alınan taze polenler bir fırça yardımı ile lam üzerine serpilmiş ve üzerine TTC çözeltisinden

damlatılmıştır. Bu şekilde doğrudan güneş ışığına maruz kalmayacak bir ortamda 2 saat kadar bekletildikten sonra üzerine lamel kapatılıp mikroskopta gözlenmiştir (Şekil 1e). Koyu kırmızı boyanan polenler canlı, açık kırmızı, pembe ve boyanmayan polenler ise cansız olarak kabul edilmiştir. TTC solüsyonu şu şekilde hazırlanmıştır: TTC'nin %10'luk stok çözeltisinden 1 kısım ve %60'luk sakkaroz çözeltisinden 9 kısım alınarak %1'lik TTC çözeltisi hazırlanmıştır (Eti, 1990).

Doymuş petri yöntemi: %1'lik agar ile %20'lik sakkaroz ve 10 ppm borik asit eşit oranlarda karıştırılmıştır. Elde edilen bu karışım petri ortamına dökülerek üzerine çiçek tozları ekilmiştir. Bu şekilde doyurulmuş petri ler sıcaklığı 25°C'debüyüme kabiniinde 1 gün süreyle bekletilmiş ve binoküler altında % olarak çimlenme oranları (Şekil 1f) belirlenmiştir (Eti, 1991).

Verilerin değerlendirilmesi

Çiçek morfolojisi ve polen miktarından elde edilen verilerin varyans analizi tesadüf blokları deneme desenine göre SAS (1998) istatistik paket programında değerlendirilmiş ve ortalamalarına ait farklılıkların belirlenmesinde LSD testi uygulanmıştır. Diğer taraftan polen canlılık testlerinden elde edilen değerler ise ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

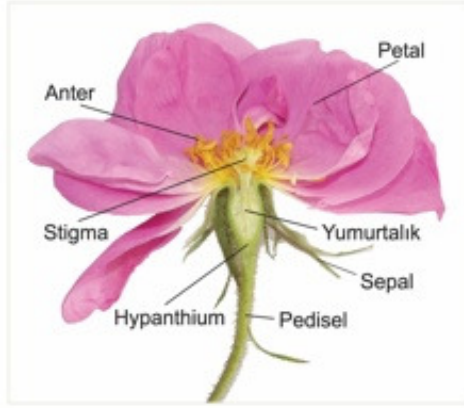
Çiçek morfolojisi ve polen miktarının belirlenmesi

Yağ gülünde çiçeklenme periyodu boyunca üç farklı dönemde taze olarak toplanan çiçeklerin morfolojik özellikleri ile ilgili elde edilen verilerin varyans analiz sonuçları Çizelge 1'de sunulmuştur. Çiçeklenme dönemlerine göre çiçek çapı, petal oranı ve polen sayısı bakımından $p < 0.01$ düzeyinde, anter çapı ve filament uzunluğu bakımında $p < 0.05$ düzeyinde önemli istatistikî farklılıklar ortaya çıkmıştır. Üç farklı dönemde toplanan yağ gülü çiçeklerin morfolojik gözlemlerine ilişkin

ortalamalar ve LSD grupları Çizelge 2'de sunulmuştur.

Toplama dönemleri itibarıyla çiçek çapı en yüksek çiçeklenme sonunda 5.19 cm olarak belirlenmiştir. Yağ gülünde çiçek randımanı çiçeklenme ortasında en fazla olduğu rapor edilmektedir (Baydar ve ark., 2013b). Bu nedenle bitkilerde çiçeklerin yoğun olarak bulunduğu bu dönemde çiçek çapının azaldığı, çiçeklenme başlangıcı ve sonunda ise çiçek randımanına bağlı olarak çiçek çapının arttığı söylenebilir. Diğer taraftan yağ gülü çiçeğinde çiçeklenme sezonu boyunca petal sayısının 29.3-33.0 adet, anter sayısının 86.4-89.6 adet, stigma sayısının 43.5-45.2 adet ve anterde polen sayısının 45.000-53.000 adet arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 2). Güneş ve ark. (2004) bazı kuşburnu (*R. canina*) türlerinin polen miktarlarını ve polen canlılıklarını incelemiş ve bu türlerde anter başına polen sayısının 17.708-53.125 adet arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

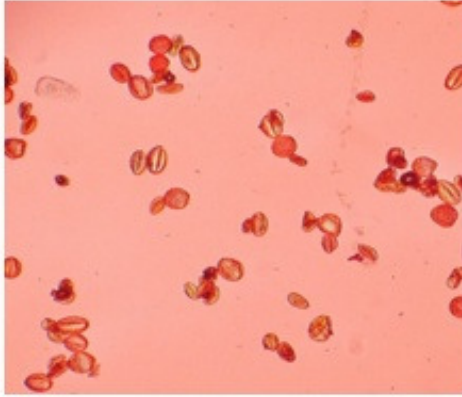
Çiçeklerdeki petal oranının çiçeklenme başlangıcından sonuna doğru arttığı gözlenirken, çiçeklerdeki anter çapı, filament uzunluğu ve anterdeki polen sayısının ise çiçeklenmenin sonuna doğru azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 2). Bu durum çiçeklenme periyodu sonunda daha sıcak bir iklimin gözlenmesi ile açıklanabilir. Bunun yanında Baydar ve Kazaz (2013), Isparta'da kültürü yapılan normal bir yağ gülü çiçeğinin ortalama 33 adet petal, 95 adet anter, 33 adet stigma, 2.5 g çiçek ağırlığı, 6.8 cm çiçek çapı, 4.6 mm hipantiyum eni ve 10.0 mm hipantiyum boyuna sahip olduğunu, taze bir çiçeğin ağırlıkça %65'inin petal yapraklar, %10'unun sepal yapraklar (hypanthium ve pedisel dâhil), %20'sinin pistil (stigma tepesi ve borusu ile yumurtalık) ve %5'inin stamen (anter ve filament) oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Farooq et al. (2011) ise Pakistan'da yayılış gösteren ve 7 bölgeden alınan *R. damascena*'da çiçek çapının 4.4-4.6 cm, petal sayısının 39.0-45.6 adet ve anter sayısının 70.5-96.3 adet arasında değişim gösterdiğini rapor etmişlerdir.



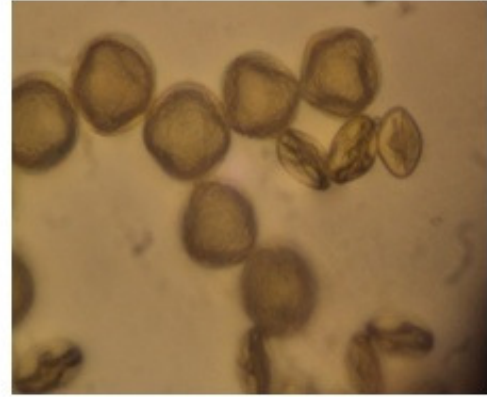
(a) Yağ gülü çiçeği



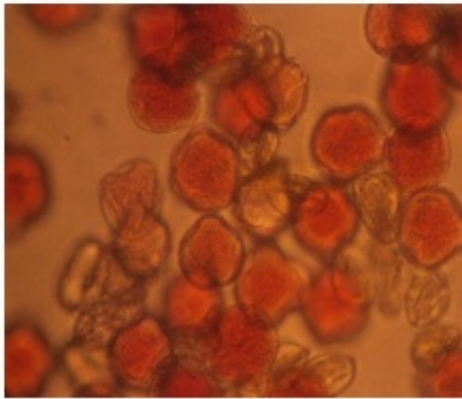
(b) Yağ gülü anterleri



(c) Safranin testi



(d) IKI testi



e) TTC testi



f) Doymuş petri yöntemi

Şekil 1. Yağ gülü çiçeği (a) ve anterleri (b) ile polenlerde kimyasal (c, d, e) ve biyolojik (f) canlılık testleri
Figure 1. Oil-bearing rose flower (a) and anthers (b), chemical (c, d, e) and biological viability tests of pollen (f)

Çizelge 1. Üç farklı çiçeklenme döneminde çiçeğin morfolojik özellikleri ile ilgili varyans analiz sonuçları

Table 1. The variance analysis for flower morphological characteristics in the three different flowering periods

Kaynak (Source)	Sd Df	Çiçek çapı (cm) Flower diameter (cm)			Petal sayısı (adet çiçek ⁻¹) Petal number per flower			Petal oranı (%) Petal rate (%)		
		KT	KO	F değeri	KT	KO	F değeri	KT	KO	F değeri
		SS	MS	F value	SS	MS	F value	SS	MS	F value
Blok/Block	2	0.17	0.09	22.4	4.7	2.3	0.6	2.1	1.0	1.3
Dönem/Period	2	0.09	0.05	116.7**	25.9	12.9	3.4	55.6	27.8	33.2**
Hata/Error	4	0.01	0.01		15.2	3.8		3.4	0.8	
Toplam/Total	8	0.10			45.9				61.1	
VK/CV(%)		0.39			6.4				1.3	

Sd	Anter sayısı (adet çiçek ⁻¹) Anther number per flower			Anter çapı (mm) Anther diameter (mm)			Filament uzunluğu (mm) Filament length (mm)			
	KT	KO	F	KT	KO	F	KT	KO	F	
	Blok/Block	2	82.3	41.1	1.6	0.04	0.02	0.16	0.18	0.09
Dönem/Period	2	15.8	7.9	0.3	0.5	0.2	17.36*	0.6	0.30	7.51*
Hata/Error	4	102.6	25.6		0.05	0.01		0.2	0.04	
Toplam/Total	8	200.7			0.5			0.9		
VK/CV (%)		5.7			4.7			3.8		

Sd	Stigma sayısı (adet çiçek ⁻¹) Stigma number per flower			Pistil uzunluğu (mm) Pistil length (mm)			Polen sayısı (adet anter ⁻¹) Pollen number per anther			
	KT	KO	F	KT	KO	F	KT	KO	F	
	Blok/Block	2	2.1	1.0	1.00	2.7	1.3	0.9	66	33
Dönem/Period	2	4.6	2.3	2.16	5.3	2.6	1.9	980	4900	36.7**
Hata/Error	4	4.3	1.1		5.7	1.41		5333	1333	
Toplam/Total	8	11.0			13.7			10400		
VK/CV (%)		2.3			15.2			2.4		

* : p<0.05, **: p<0.01 seviyesinde farklılık bulunmaktadır.

There were significant differences at: * : p<0.05 and **: p<0.01.

Çizelge 2. Farklı çiçeklenme dönemlerinde yağ gülü çiçeklerinin bazı morfolojik özellikleri

Table 2. Some morphological properties of oil-bearing rose flowers in the different flowering periods

Çiçeklenme dönemleri Flowering periods	Çiçek çapı Flower diameter (cm)	Petal sayısı Petal number (petal flower ⁻¹)	Petal oranı Petal rate (%)	Anter sayısı Anther number (anther flower ⁻¹)	Anter çapı Anther diameter (mm)
Baş/beginning of flowering	5.02 b	33.0	68.0 c	86.4	2.62 a
Ortası/middle of flowering	4.95 c	29.3	71.9 b	89.6	2.69 a
Sonu/end of flowering	5.19 a	29.5	74.0 a	87.6	2.16 b
LSD (0.05)	0.05	4.4	2.1	11.5	0.26

Çiçeklenme dönemi Flowering periods	Filament uzunluğu Filament length (mm)	Stigmasayısı Stigma number (stigma flower ⁻¹)	Pistil uzunluğu Pistil length (mm)	Polen sayısı Pollen number (pollen anter ⁻¹)
Baş/beginning of flowering	5.48 a	45.2	8.63 a	53.000 a
Ortası/middle of flowering	5.64 a	43.5	7.98 b	48.000 b
Sonu/end of flowering	5.02 b	44.0	6.77 c	45.000 c
LSD (0.05)	0.45	2.3	2.7	2617.7

a-c Her bir grupta aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında %5 seviyede istatistiksel fark yoktur (LSD testi)

a-c Means in each group, followed by the same letter, are not statistically different at the 5% level of probability (LSD test).

Polenlerde kimyasal ve biyolojik canlılık testleri

Safranin testi: Çiçeklenme sezonu boyunca 3 farklı dönemde toplanan ve 4 °C ve 25 °C depo koşullarında 3'er gün aralıklarla toplam 15 gün süreyle depolanan yağ gülü polenlerinin safranin testi ile elde edilen canlılık oranları Çizelge 3'te sunulmuştur. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, ilk gün yapılan ölçümlerde çiçeklenmesезonu başından sonuna doru polen canlılıklarında önemli oranlarda azalışlar (sırasıyla %74.0, %68.1

ve %27.1) olduğu tespit edilmiştir. Çiçeklenme başlangıcında ve ortasında alınan polenler 4 °C'de 12 güne kadar ve 25 °C'de 9 güne kadar canlılığını korumuşlardır. Oysa çiçeklenme sonunda alınan polenlerin 25 °C'de 15. güne kadar düşük oranda da olsa (%4.5) canlı kalabildikleri belirlenmiştir. Genel olarak 4 °C'de depolamanın 25 °C'de depolamaya göre polen canlılığını daha iyi koruduğu gözlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Çiçeklenme periyodu, depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak Safranin testi ile elde edilmiş polen canlılık değerleri (%)

Table 3. Pollen viability (%) by safranin test depending on flowering period, storage temperature and storage time

Depolama Süresi (gün) Storage time (day)	Çiçeklenme başı (beginning of flowering)		Çiçeklenme ortası (middle of flowering)		Çiçeklenme sonu (end of flowering)	
	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C
İlk gün / first day	74.0 ± 3.0*		68.1 ± 2.3		27.1 ± 1.4	
3. gün / 3 th day	45.5 ± 1.1	44.9 ± 1.7	17.5 ± 3.6	18.7 ± 2.2	32.4 ± 2.1	23.8 ± 1.4
6. gün / 6 th day	23.7 ± 2.9	11.2 ± 1.0	14.3 ± 2.1	14.4 ± 1.5	15.4 ± 1.4	14.0 ± 1.1
9. gün / 9 th day	20.5 ± 3.7	5.1 ± 0.5	8.5 ± 1.5	2.9 ± 0.8	12.2 ± 1.0	8.2 ± 0.7
12. gün / 12 th day	2.5 ± 0.1	-	5.9 ± 0.4	-	4.3 ± 0.4	5.7 ± 0.2
15. gün / 15 th day	-	-	-	-	-	4.5 ± 1.0

*Ortalama ± standart hata (Mean ± Standard error)

IKI (İyotlu potasyum iyodür) testi: Çiçeklenme sezonu boyunca 3 farklı dönemde toplanan ve 4 °C ve 25 °C depo koşullarında 3'er gün aralıklarla toplam 15 gün süreyle depolanan yağ gülü polenlerinin IKI testi ile elde edilen canlılık oranları Çizelge 4'te sunulmuştur. Bu testten elde edilen sonuçlara göre, Safranin testi bulgularına benzer şekilde, yağ gülü polenlerinin canlılıkları çiçeklenme sezonu başından sonuna doğru (%71.5'ten %32.8'e) azaldığı belirlenmiştir. Depolama sürecinde ilerleyen günlere doğru özellikle 25 °C depolama sıcaklığında canlılık oranları daha hızlı azalış göstermiştir. Genel olarak 4 °C'de depolamanın 25 °C'de depolamaya göre özellikle 6. günden itibaren polen canlılığını daha iyi koruduğu gözlenmiştir. Çiçeklenme başlangıcında ve ortasında toplanarak depolanan

polenlerin 4 °C'de en fazla 12 gün ve 25 °C'de en fazla 9 gün canlı kalabilirken, çiçeklenme sonunda toplanan polenlerin 25 °C'de 15. güne kadar %6.2 oranında canlılıklarını sürdürebildikleri belirlenmiştir (Çizelge 4).

TTC (2,3,5 triphenyl tetrazolium chlorid) testi: Çiçeklenme sezonu boyunca 3 farklı dönemde toplanan ve 4 °C ve 25 °C depo koşullarında 3'er gün aralıklarla toplam 15 gün süreyle depolanan yağ gülü polenlerinin TTC testi ile elde edilen canlılık oranları Çizelge 5'te sunulmuştur. Safranin ve IKI test sonuçlarına benzer şekilde TTC testinde de çiçeklenme sezonu ilerledikçe yağ gülü polenlerinde canlılık oranları azalış (%36.8'den %11.9'a) göstermiştir. TTC testinde, diğer iki test yöntemine göre daha düşük oranlarda polen canlılık oranları elde edilmiştir. Her iki depolama sıcaklığında da

depolama süresi uzadıkça polen canlılığı azalmış, 4 °C depolama sıcaklığında ilk iki çiçeklenme periyodunda en geç 9 gün ve 25 °C depolama sıcaklığında en geç 6 gün sürmüştür. Oysa çiçeklenme sezonu

sonunda toplanan polenlerin canlılığı 4 °C depolama sıcaklığında en geç 12 gün ve 25 °C depolama sıcaklığında 15 gün devam etmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 4. Çiçeklenme periyodu, depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak İKI testi ile elde edilmiş polen canlılık değerleri (%)

Table 4. Pollen viability (%) by İKI test depending on flowering period, storage temperature and storage time

Depolama Süresi (gün) Storage time (day)	Çiçeklenme başı (beginning of flowering)		Çiçeklenme ortası (middle of flowering)		Çiçeklenme sonu (end of flowering)	
	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C
İlk gün / first day	71.5 ± 1.3*		63.8 ± 2.7		32.8 ± 2.2	
3. gün / 3 th day	28.5 ± 2.9	30.7 ± 30.7	23.8 ± 2.5	28.3 ± 2.1	37.3 ± 2.4	29.1 ± 1.2
6. gün / 6 th day	29.7 ± 3.6	18.0 ± 1.6	22.6 ± 3.2	17.4 ± 1.9	24.0 ± 1.8	14.2 ± 1.0
9. gün / 9 th day	18.2 ± 1.8	9.0 ± 0.6	13.9 ± 0.7	3.8 ± 0.5	10.5 ± 1.0	9.4 ± 0.9
12. gün / 12 th day	2.7 ± 0.6	-	9.9 ± 1.0	-	6.1 ± 0.4	6.5 ± 0.4
15. gün / 15 th day	-	-	-	-	-	6.2 ± 0.8

*Ortalama ± standart hata (Mean ± Standard error)

Çizelge 5. Çiçeklenme periyodu, depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak TTC testi ile elde edilmiş polen canlılık değerleri (%)

Table 5. Pollen viability (%) by TTC test depending on flowering period, storage temperature and storage time

Depolama Süresi (gün) Storage time (day)	Çiçeklenme başı (beginning of flowering)		Çiçeklenme ortası (middle of flowering)		Çiçeklenme sonu (end of flowering)	
	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C
İlk gün / first day	36.8 ± 4.0		21.9 ± 1.2		11.9 ± 2.5	
3. gün / 3 th day	22.3 ± 2.0	10.2 ± 1.4	14.3 ± 1.5	4.1 ± 0.7	20.0 ± 2.0	17.2 ± 1.9
6. gün / 6 th day	12.1 ± 1.9	2.5 ± 0.3	8.3 ± 1.1	-	10.0 ± 1.6	7.6 ± 1.0
9. gün / 9 th day	4.1 ± 0.9	-	3.0 ± 0.7	-	7.9 ± 0.9	7.3 ± 0.7
12. gün / 12 th day	-	-	-	-	1.8 ± 0.7	4.9 ± 0.9
15. gün / 15 th day	-	-	-	-	-	3.4 ± 0.7

*Ortalama ± standart hata (Mean ± Standard error)

Doymuş petri yöntemi: Çiçeklenme sezonu boyunca 3 farklı dönemde toplanan, 4 °C ve 25 °C depo koşullarında 3'er gün aralıklarla toplam 15 gün süreyle depolanan yağ gülü polenlerinin doymuş petri yöntemi ile elde edilen canlılık oranları Çizelge 6'da sunulmuştur. Bu biyolojik canlılık test yöntemi bulguları ile diğer kimyasal canlılık test yöntemleri (Safranin, İKI ve TTC) bulguları testten elde edilen sonuçlara benzer şekilde polen canlılığı çiçeklenme sezonu ilerledikçe ve depolama süresi arttıkça azalış göstermiş, 4 °C'de depolamanın 25 °C'de depolamaya göre

polen canlılığını daha iyi koruduğu, ancak 4 °C'de en fazla 6 gün ve 25 °C'de en fazla 3 gün çimlenme olabildiği gözlenmiştir (Çizelge 6). Doymuş petri ortamında (%1'lik agar, %20'lik sakkaroz ve 10 ppm borik asit çözeltileri eşit oranlarda karıştırılarak hazırlanmış) çimlendirilen çiçek tozları (Eti, 1991), doğrudan polenlerin hem canlılık hem de çimlenme yeteneğini ölçmesi bakımından diğer kimyasal canlılık testlerinden farklılık göstermektedir. Diğer kimyasal testlerde polenlerinsadece canlılık durumları ortaya konulduğundan, doymuş petri

veya asılı damla yöntemi gibi biyolojik yöntemlerde polen canlılık oranları daha düşük oranlarda bulunmaktadır.

Çizelge 6. Çiçeklenme periyodu, depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak doymuş petri yöntemine göre polen canlılık değerleri (%)

Table 6. Pollen viability (%) by agar plate method depending on flowering period, storage temperature and storage time

Depolama Süresi (gün) Storage time (day)	Çiçeklenme başı (beginning of flowering)		Çiçeklenme ortası (middle of flowering)		Çiçeklenme sonu (end of flowering)	
	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C
İlk gün / first day	57.0 ± 4.2		32.5 ± 3.1		24.2 ± 3.6	
3. gün / 3 th day	13.0 ± 1.5	3.0 ± 0.4	18.4 ± 1.4	1.7 ± 0.5	4.8 ± 0.8	2.4 ± 0.5
6. gün / 6 th day	4.8 ± 0.4	-	1.1 ± 0.3	-	3.0 ± 0.5	-
9. gün / 9 th day	-	-	-	-	-	-
12. gün / 12 th day	-	-	-	-	-	-
15. gün / 15 th day	-	-	-	-	-	-

*Ortalama ± standart hata (Mean ± Standard error)

Polen canlılığı ve çimlenme yeteneği üzerine sadece ortam sıcaklığının değil aynı zamanda nispi nemin de önemli olduğunu gösteren birçok araştırma bulguları vardır. Crespel and Mouchotte (2003), gül polenleri için en ideal çimlenme sıcaklığının 23-30 °C ve en ideal nispi nemin %60-65 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Khosh-Khui et al. (1976), gül polenlerinin çimlenmesinde 0 °C sıcaklıkta en ideal nem oranının %50-70 ve 25 °C'de ise en ideal nem oranının %30-50 olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar *R. damascena* polenlerinin ortalama canlılık oranının %50 olduğunu ve farklı iki sıcaklık (0 ve 25 °C) ve farklı nem (%10-90) koşullarında

depolandıklarında 0 °C'de 2 hafta sonra ve 25 °C'de 3 hafta sonra polen canlılığının hızla düşmeye başladığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda doymuş petri yöntemine göre polenlerin en fazla 6 güne kadar canlı kaldığı belirlenmiştir. Sonuçlarımız Nemancak Khosh-Khui et al. (1976) bulguları ile uyuşmamaktadır. Bu durum depolama ortamındaki nem oranının farklılığından kaynaklanabilir. Diğer bir araştırmada Zlesaket al. (2005) süs güllerinin polenlerini -80 °C, -20 °C, 4 °C ve 7.5°C'de 52 hafta boyunca

depolamışlar ve 4 °C ve 7.5 °C'de depolanan polenlerin canlılıklarını 2 hafta sonra kaybettiklerini tespit etmişlerdir. Ercişli (2007), *R. canina*, *R. dumalis*, *R. rubiginosa* ve *R. villosa* türlerinde *in vitro* ortamında polen canlılığının %23-45 arasında değiştiğini ve *R. dumalis*'in polen canlılığının *R. villosa* türlerinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Sonuç

Yağ gülü polenlerinde çiçeklenme periyodu boyunca farklı sıcaklıklara göre kimyasal (safranin, İKI ve TTC) ve biyolojik (doymuş petri) canlılık ve çimlendirme testleri ile çiçek morfolojisi incelenmiştir. Uygulanan kimyasal ve biyolojik canlılık test ve yöntemlerine göre polen canlılık oranları arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Kimyasal testler arasında en yüksek canlılık oranının safranin testinde ve en düşük canlılık oranının TTC testinde elde edilmiştir. Ancak bazı dönemlerde polenlerin canlılık oranının yüksek olmasına rağmen doymuş petri yöntemine göre çimlenme yetenekleri veya güçlerinin zayıf olduğu belirlenmiştir. Çiçeklenme sezonu

boyunca anter başına polen sayısının, polen canlılığının azaldığı ve bu nedenle melezleme işleminin çiçeklenme sezonunun başında tercih edilmesi ıslah programında yüksek başarı sağlayabilir. Genel olarak düşük sıcaklıkta (4 °C'de) depolamanın yüksek sıcaklıkta (25 °C'de) depolamaya göre polen canlılığını daha iyi koruduğu, her iki depolama sıcaklığında da depolama süresi uzadıkça polen canlılığının düştüğü ve çiçeklenme zamanı ve depolama koşulları optimize edilerek polen canlılığının birkaç hafta sürdürülebileceği tespit edilmiştir.

Kaynaklar

- Anaç, O. 1984. Gas Chromatographic Analysis on Turkish Rose Oil, Absolute and Concrete. *Perfumer&Flavorist*, 1984, 9: 1-14.
- Başer, K.H.C. 1992. Turkish Rose Oil. *Perfumer&Flavorist*, 1992, 17: 45-52.
- Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M. ve Özek, T. 2003. Turkish Rose Oil: Recent Results. *Perfumer&Flavorist*, 2003, 28 (2): 34-42.
- Baydar, H. ve Kazaz, S. 2013. Yağ Güllü & Isparta Gülcülüğü. Gülbirlik Yayınları No:1, Isparta.
- Baydar, H., Kazaz, S. ve Erbaş, S. 2013a. Yağ güllü (*Rosa damascena* Mill.)'nde Mutasyon Islahı. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2013, 17 (2): 39-43.
- Baydar, H., Kazaz, S. ve Erbaş, S. 2013b. Yağ güllü (*Rosa damascena* Mill.)'nde Morfogenetik, Ontogenetik ve Diurnal Varyabiliteler. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2013, 8 (1): 1-11.
- Bayrak, A. ve Akgül, A. 1994. Volatile Oil Composition of Turkish Rose (*Rosa damascena*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1994, 64: 441-448
- Bendahmane, M., Dubois, A., Raymond, O. And Bris M.L. 2013. Genetics and Genomics of Flower Initiation and Development in Roses. *Journal of Experimental Botany*, 2013. 64 (4): 847-857.
- Crespel, L. and Mouchotte, J. 2003, *Methods of Cross Breeding*. In: *Encyclopedia of Rose Science*. Elsevier Academic Press. 2003, 1: 30-33.
- Ercişli, S. 2007. Determination of Pollen Viability and in vitro Pollen Germination of *Rosa dumalis* and *Rosa villosa*. *Bangladesh Journal of Botany*, 2007, 36(2): 185-187.
- Eti, S. 1990. Çiçek Tozu Miktarını Belirlemede Kullanılan Pratik Bir Yöntem. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1990, 5(4): 49-58.
- Eti, S. 1991. Bazı Meyve Tür ve Çeşitlerinde Değişik *In vitro* Testler Yardımıyla Çiçek Tozu Canlılık ve Çimlenme Yeteneklerinin Belirlenmesi. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1991, 6 (1): 69-80.
- Farooq, A., Khan, M.A., Ali, A. and Riaz, A. 2011. Diversity of Morphology and Oil Content of *Rosa damascena* Landraces and Related Rosa Species from Pakistan. *Pak. J. Agri. Sci.*, 2011, 48 (3): 177-183.
- Farooq, A., Khan, M.A., Riaz, A., Younis, A., Butt, S.J. and Nadeem, M. 2013. Compatibility Evaluation of Various Scented Rosa species through Cross Pollination. *International Journal of Basic & Applied Sciences*, 2013, 13 (2): 21-27.
- Gudin, S. 2000. Rose: Genetics and Breeding. *Plant Breeding Reviews*, 2000, 17: 159-189.
- Güneş, M., Çekic, C. ve Edizer, Y. 2004. Determination of Pollen Quantity, Pollen Viability and Pollen Germination in Some Dogrose Species (*Rosa* section *caninae*). *ISHS ActaHorticulturae 690: I International Symposium on Rose Research and Cultivation*.
- Khosh-Khui, M., Bassiri A. and Niknejad, M., 1976. Effects of Temperature and Humidity on Pollen Viability of Six Rose Species. *Can. J. Plant Sci.*, 1976, 56: 517-523.

- Kovacheva, N. 2011. Selection of Oil-Bearing Rose in Bulgaria – Tendencies and Perspective. *Agricultural Science and Technology*, 2011, 3 (3): 89-192.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Atanassov, A. and Atanassov, I. (2009a). *Rosa damascena* – Genetics of A Complex Allotteraploid Species and Perspectives for Molecular Breeding. *Biotechnology&Biotechnological Equipment*, 2009, 23: 594-596.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Stefanova, K., Atanassov, A. and Atanassov, I. 2009b. *Rosa damascena*– Genetic Resources and Capacity Building for Molecular Breeding. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2009, 23 (4): 1436-1439.
- Staikov, V. 1975. Bulgaria: Country of Roses and Essential Oils. Ag. Acad. 'G. Dimitrov', Kazanlik, Bulgaria.
- Zlesak, D.C., Zuzek, K. and Hokanson, S.C. 2005. Rose Pollen Viability Over Time at Varying Storage Temperatures. *ISHS ActaHorticulturae* 751: IV International Symposium on Rose Research and Cultivation.