



Araştırma Makalesi

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

Cemile KAPLAN*¹, Şenay KARABIYIK², Dicle DÖNMEZ³, Öznur ÇETİN¹, Nurengin METE¹, Özhan ŞİMŞEK⁴, Yıldız AKA KAÇAR⁵

ÖZ

Çalışmanın amacı, kendine uyuşur 'Saurani', yarı uyuşur 'Sarı ulak' ve kendine uyuşmaz 'Kilis yağlık' zeytin çeşitlerinde eşeyssel uyuşmazlık belirtilerinin ve zamanının belirlenmesi ayrıca iki farklı tozlama çalışmaları olan 'emaskülasyon sonrasında kendileme' ve 'kese sallama yöntemi ile kendileme' uygulayarak kullanılabilecek tozlama yöntemlerinin karşılaştırılması planlanmıştır. Çalışma sonucunda, kendine uyuşmaz 'Kilis yağlık' ve yarı uyuşur 'Sarı ulak' çeşitlerinde uyuşmazlık belirtilerinin özellikle tozlamadan sonraki 36. saatte görülmeye başladığı, kendine uyuşur 'Saurani'de ise 36. saatte çiçek tozu çim borularının tohum taslağına ulaştığı tespit edilmiştir. Yapılan farklı tozlama uygulamaları açısından ise uyuşmazlığın başlangıç zamanının belirlenmesi amacı ile yapılacak hassas çalışmalarda emaskülasyon sonrasında tozlama işleminin kullanılması şart iken, sadece durum belirlemesi üzerine yapılacak çalışmalarda kese sallama yönteminin yeterli olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Eşeyssel uyuşmazlık, Oleaceae, Emaskülasyon, Tozlama, Çiçek tozu

Determination of Sexual Incompatibility Case and the Availability of Pollination Methods for Incompatibility Research in Olive

ABSTRACT

In this study, it was planned to determine the symptoms and timing of sexual incompatibility in self-compatible 'Saurani', semi-incompatible 'Sarı ulak' and self-incompatible 'Kilis yağlık' olive cultivars and to compare the pollination methods that can be used by applying two different pollination studies, 'selfing after emasculation' and 'selfing with bag shaking method'. As a result of the study, it was determined that incompatibility symptoms started to appear especially at the 36th hour after pollination in the self-incompatible 'Kilis yağlık' and semi-incompatible 'Sarı ulak' varieties, while in the self-compatible 'Saurani', pollen tubes reached the ovule at the 36th hour. Regarding the different pollination practices, it was concluded that pollination after emasculation should be used in sensitive studies to determine the onset time of incompatibility, whereas the bag shaking method would be sufficient for studies to determine only the status.

Keywords: Sexual incompatibility, Oleaceae, Emasculation, Pollination, Pollen grain

ORCID ID (Yazar sırasına göre)

0000-0001-6904-6021, 0000-0001-8579-6228, 0000-0002-7446-9405, 0000-0003-4252-0357, 0000-0003-4357-8614, 0000-0001-5552-095X, 0000-0001-5314-7952

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 17.11.2023

Kabul Tarihi: 30.12.2023

¹ Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

² Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Bölümü

³ Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi

⁴ Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

⁵ Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

*E-posta: cemilekaplan@windowslive.com

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

Giriş

Her geçen gün artan nüfus, değişen ekonomik kaynaklar ve dünyada yeni tat arayışı gibi farklı sebepler zeytin ve zeytinyağına olan ilgiyi artırmıştır. Zeytin ağacı (*Olea europaea L.*), Akdeniz iklimine adaptasyonu ile bilinen Akdeniz Havzasında kültürle bütünleşmiş eski geleneksel bir üründür. Ancak geleceğe yönelik tahminlerde iklim değişikliğinin etkilerinde Akdeniz Havzası “sıcak nokta” olarak kabul edilmekte, iklim değişikliğinin zeytin üretiminde önemli sorunlara yol açacağı tahmin edilmektedir (Fraga ve ark., 2021). Sınırlı ekolojik alanda yetiştiriciliği yapılan zeytin bitkisi, büyüyen iklim krizi sonucu oluşan olumsuz çevre koşullarına rağmen, birim alanda daha fazla verim elde etmek ve daha kaliteli üretim için bitkiyi her yönüyle tanımak son derece önemlidir.

Zeytin bol çiçekli bir ağaç olmasına rağmen açan çiçeğe oranla çok az sayıda meyve oluşturur. Zeytinlerde hermafrodit (iki eşeyli) ve staminate (erkek) olmak üzere iki tip çiçek bulunmaktadır. Hermafrodit çiçek antesis döneminde yaklaşık 4-5 mm uzunlukta, pistil ve anterler ise neredeyse aynı boyda yaklaşık 2.5 mm uzunluktadır. Dişi organ en üst kısmını oluşturan stigma yaklaşık 1 mm, stil yaklaşık 0.5 mm ve ovaryum 1-1.2 mm çapında çok küçük yapıda olup (Serrano ve ark., 2008), stil kısmının kısa olması sayesinde çiçek tozu çim borusunun yumurtalığa ulaşımı kısa sürede meydana gelmektedir. Zeytin bitkisi hermafrodit çiçekte ve staminate çiçekte meydana gelen çiçek tozlarından dolayı çiçek tozu üretimi açısından tozlamada önemli bir kaynak olmasına rağmen bazı genotiplerde dölleme sorunları yaşamaktadır (Reale ve ark., 2006). Aynı zeytin çeşidine ait çiçek tozlarının bir kısmı uyuşur durum gösterirken, bazı çiçek tozu çim borularının stilde çok az mesafe kat edebildiği tespit edilmiştir (Bartolini ve Guerriero, 1995). Çiçek tozu çim borusu büyümesi üzerine sıcaklık, nem, bitkinin yaşı gibi çevresel faktörlerin önemli etkisi olsa da çiçek tozu çim borusunun gelişimini engelleyen sebeplerden biri de eşeyssel uyuşmazlıktır. Eşeyssel uyuşmazlık, bir çiçekte eşey organları ve eşey hücreleri sağlıklı geliştikleri halde, kendilemede veya değişik tozlayıcılarla yabancı tozlanma ve melezlemeler sonucunda dölle-

menin gerçekleşmemesi durumudur. Dölleme gerçekleşmediği için normal koşullarda tohum ve dolayısıyla meyve de oluşamaz. Eşeyssel uyuşmazlık özelliği gösteren çeşitlerde ise mutlaka yabancı tozlanmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Eşeyssel uyuşmazlık kalıtsal yünden birden fazla lokusun etkisi ile meydana gelmektedir (Franklin-Tong, 2008).

Kendine uyuşmazlık, birçok çiçekli bitkide olduğu gibi zeytinde de tür içi genaratif çoğalmayı engelleyen bir mekanizmadır. Aynı zamanda, kendi çiçek tozuyla meyve oluşumunu engellediği için verimde azalmaya ve önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bu durum tek çeşit ile kurulmuş kapama bahçelerde meyve üretiminde azalma ve önemli oranda ürün kaybına (Quero ve ark., 2002) sebep olmakla birlikte ıslah çalışmalarını da etkileyen önemli bir faktördür.

Kendine uyuşur çeşitlerde çiçek tozu çim borusu hızlı bir şekilde ilerlerken, kendine uyuşmazlık özelliği gösteren çeşitlerde ise çiçek yaşamı süresince çiçek tozu çim borusunun büyümesi çok yavaş gelişmektedir. Bazı durumlarda ise generatif çekirdek mikropile ulaşmadan pistilde fizyolojik sınırlamalar getirerek tamamen büyümeye engel olmakta ve dölleme olayı gerçekleşmemektedir. Bu durumda çiçekler dökülerek ömrünü tamamlamaktadır (Rea ve Nasrallah, 2004). Kendine uyuşmazlıkta çiçek tozunun çim-lenmesi ve çiçek tozu çim borusundaki gelişiminin bilinmesi gelecekte yapılacak çalışmalar için önemli bir kaynak sağlayacaktır. Bu çalışmada, Ulusal Zeytin Arazi Gen Bankasında yer alan tescilli çeşitler olan Kilis yağlık, Sarı ulak ve Saurani zeytin çeşitlerinde eşeyssel uyuşmazlık durumları ve uyuşmazlık belirtilerinin histolojik olarak ne şekilde gerçek-leştiği ile uyuşmazlık zamanının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, eşeyssel uyuşmazlık çalışmalarında bitkinin uyuşmazlık durumunun belirlenmesi sırasında kullanılabilecek tozlama yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

Materyal ve Yöntem

Bitkisel Materyal

Bu çalışma 2022 yılında zeytin çiçeklenme periyodunda Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir ve Çukurova Üniversitesi Sitoloji ve Histoloji Laboratuvarında, Adana yürütülmüştür. Çalışmada kendine uyuşmaz 'Kilis yağlık', yarı uyuşur 'Sarı ulak' ve kendine uyuşur 'Saurani' zeytin çeşitleri kullanılmıştır. Kilis Yağlık çeşidinin orijini Kilis olup Gaziantep, Oğuzeli, Şanlıurfa, Cizre, Kahramanmaraş ve Mardin illerindeki zeytinliklerinde yoğun olarak bulunur. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin toplam ağaç sayısının yaklaşık yarısı 'Kilis Yağlık' çeşidinden oluşur. Ağacın gelişimi hızlı olup orta büyüklükte yayvanca taç oluşturur. Meyveleri aynı boyutta olmaz, irili ufaklı meyveler oluşturur ve yuvarlaktır. Bazı yıllar da salkım şeklinde meyve oluşumu görülür. Bu çeşidin en önemli sorunu boncuklu meyve oluşumudur (Mete ve Çetin, 2017). Meyveleri çok küçük, çekirdekleri meyveye oranla iridir. Meyveleri %31,8 oranında yağ içermesiyle yağlık olarak değerlendirilir. Kuvvetli periyodisite gösterir. Soğuğa çok duyarlı değildir. Çelikle ve yumru ile çoğaltılır. Kendine uyuşmaz bir çeşittir (Kaya ve ark., 2015). 'Sarı Ulak' çeşidinin orijini Mersin ilinin Tarsus ilçesidir. Mersin, Tarsus, Erdemli, Gülnar, Adana'nın Seyhan, Kozan Yumurtalık ilçelerinde yoğun olarak yetiştirilmektedir. Tarsus menşeli Akdeniz Bölgesi ağaç varlığının %6'sını oluşturur. Ağacı kuvvetli, büyük, yayvan dağınık bir taç oluşturur. Meyveleri orta irilikte uzun ve silindirik, ucu yuvarlak ve memesizdir. Çekirdekleri çok iri olup %19 civarında yağ içerir. Verimi orta düzeyde siyah ve yeşil olarak değerlendirilir. Soğuklardan

kolay etkilenir, sıcaklığın kritik seviyeye düşmesi durumunda sürgün, ince dal ve dalcıklarda çatlama ve meyvelerde soğuktan dolayı hurma oluşumu görülür. Kendi ekolojisinde aile ihtiyacını karşılamak için yeşil ve siyah sofralık olarak değerlendirilir. Periyodisite gösterir. Çeliklerin köklenme oranı orta seviyededir. Kısmen kendine uyuşur bir çeşittir (Kaya ve ark., 2015). 'Saurani' ise Hatay'ın Altınözü İlçesi ve civarında yoğun olarak görülen bir çeşittir. Meyve ve çekirdekleri küçük olup %29,2 oranında yağ içerir. Meyve ucu aşağı doğru bükülmüş olup uça küçük bir meme bulunur. Oldukça verimli bir çeşittir. Periyodisite gösterir ve genellikle geç olgunlaşır. Düşük sıcaklıktan zarar görür. Yağ içeriği yüksek olduğundan genellikle yağlık olarak değerlendirilir. Ayrıca, aile ihtiyaçlarını karşılamak için yeşil ve siyah sofralık olarak kullanılır. Aşı ile çoğaltılır. Kendine uyuşur bir çeşittir (Kaya ve ark., 2015).

Yöntem

Tozlama Çalışmaları

Tozlama çalışmaları için öncelikle tozlama yapılan dallarda çiçek tomurcukları henüz açılmamışken tozlanmayı önlemek amacıyla yağlı kağıtlardan yapılmış izolasyon keseleri ile kapatılarak tozlama zamanına kadar izole edilmesi sağlanmıştır. Bu kapsamda her çeşitten en az 40 adet dal kapatılmıştır (Şekil 1A). Çiçek tozu elde etmek amacıyla tozlama için ayrılmış olan ağaçlardan ayrı ağaçlara çiçek tozu elde etmek amacıyla keseler takılarak gün aşırı keselerin sallanması ile çiçek tozları elde edilmiştir. Toplanan çiçek tozları her çeşit için ayrı ayrı küçük kutular içerisine alınmış (Şekil 1B) ve tozlama çalışmasında kullanılabilecek kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Tozlamada kullanılan çiçek tozlarının elde edilmesi. A. Dallara yağlı kağıtların takılması. B. Tozlamada kullanılan çiçek tozları

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

İzolasyon yapılan dallarda zeytinlerde tozlama amacıyla kullanılan 2 farklı tozlama işlemi (**Emaskülasyon Sonrasında Tozlama ve Kесе Sallama Yöntemi ile Tozlama**) yapılmış olup, farklı şekillerde örnekler alınmıştır.

Emaskülasyon Sonrasında Tozlama ve Örnekleme

Kullanılan çeşitlere ait çiçek tomurcukları beyaz balon aşamasında iken taç yapraklar ve erkek organların ince uçlu pensler yardımıyla çiçekten emasküle edilmesinden sonra (Şekil 2A) her

çeşit için kendi çiçek tozunun bir samur fırça yardımıyla dişi organ tepesi (stigma) üzerine taşınarak tozlama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2B). Ardından tozlanması yapılan dallar tozlanma ve dölleme sırasında dışarıdan gelecek çiçek tozlarından korunması amacıyla agril torbalar ile izole edilmiştir (Şekil 2C). Emaskülasyon sonrasında elle tozlama işlemi için histolojik çalışmalarda kullanılacak örnekler tozlama işleminden 2, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 saat sonrasında alınmıştır.



Şekil 2. Elle tozlama işlemlerinin yapılması. A. Balon aşamasındaki çiçeklerde emaskülasyon işleminin yapılması. B. Çiçek tozlarının fırça ile dişik tepesine taşınması. C. Tozlanmış dalların izolasyonu.

Kese sallama yöntemi ile tozlama ve örnekleme

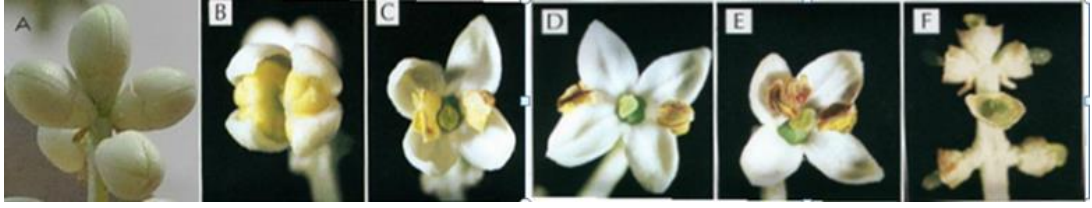
Tozlama işlemleri için önceden izole edilmiş dallarda çiçeklerin %25 oranda açtığı dönemde keselerin birer kere sallanması ile kendileme işlemleri yapılmıştır (Şekil 3). Örnekleme, tozlama işleminden sonra dört gün boyunca tamamen gözleme dayalı olarak “Taç yapraklar

hafif açıldığında”, “Taç yapraklar tam açıldığında”, “Anterlerin bir kısmı patlamış”, “Anterlerin tamamı patlamış”, “Anterler kararmış”, “Sadece dişi organ kalanlar” olacak şekilde farklı aşamalarda çiçek örnekleri alınmıştır (Şekil 4 A-F).



Şekil 3. Dallların sallanması yöntemiyle tozlama işleminin yapılması. A. Çiçeklerin %25'inin açtığı dönem. B. Dallların sallanması.

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri



Şekil 4. Tozlama işlemi sonrasında gözleme dayalı örnek alınımında temel alınan çiçek durumları (Lavee ve ark., 1996). A. Balon aşaması, B. Taç yaprakları hafif açılmış çiçek, C. Anterlerinin bir kısmı patlamış çiçek, D. Anterlerinin tamamı patlamış çiçek, E. Anterleri kararmış çiçek, F. Sadece dışı organı kalan çiçek

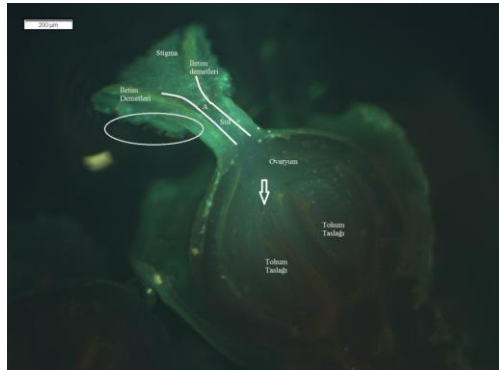
Histolojik Analizler

Her iki uygulama yönteminde belirlenen örnekleme zamanları için ayrı ayrı olacak şekilde 10 örnek alınmış ve hızlıca laboratuvara getirilerek FPA70 fiksasyon sıvısı içerisine aktarılmıştır. Alınan örneklerde çiçek tozu çim borusu gelişimlerinin incelenmesi amacıyla “Ezme preparat yöntemi” kullanılmıştır. Bu kapsamda alınan örnekler FPA’dan arındırılmak için yıkanmış, ardından 8N NaOH ile yumuşatıldıktan sonra K_3PO_4 ile mordanlanmış Anilin mavisi ile boyanmıştır (Karabıyık, 2022). Boyama işleminin tamamlanmasından sonra Olympus BX 51 floresan mikroskop ile incelenen örneklerde DP72 kamera ile görüntüleme yapılmıştır. İnceleme esnasında çiçek tozu çim borularının stigma üzerinde çimlenmesi, stil içerisinde ilerlemesi ile yumurtalığa ulaşma durumları tespit edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Zeytinde Pistilin Anatomik Yapısı ve Çiçek Tozu Çim Borusu Gelişimi

Zeytin bitkisine ait pistilde geniş bir stigma, kısa bir stil ve irice bir ovaryum bulunmaktadır. Ovaryum içerisinde anatrop yapıda ve mikropilleri iç kısma bakan 4 adet tohum taslağı bulunmaktadır. İletim demetleri çiçeği çiçek sapından stigmanın ucuna kadar iki taraftan çepeçevre sarmaktadır. Stilde bulunan iki iletim demeti öbeği arasında çiçek tozu çim borusu büyüme dokusu bulunmaktadır. Çiçek tozu çim boruları stigmada çimlendikten sonra bu doku içerisinde ilerleyerek en kısa yoldan tohum taslağına giriş yapmaktadır (Şekil 5). Yapılan incelemeler sonucunda her üç çeşitte de bu yapıda farklılıklar olmadığı ancak pistillerin stigma iriliklerinde farklılıkların olduğu belirlenmiştir.



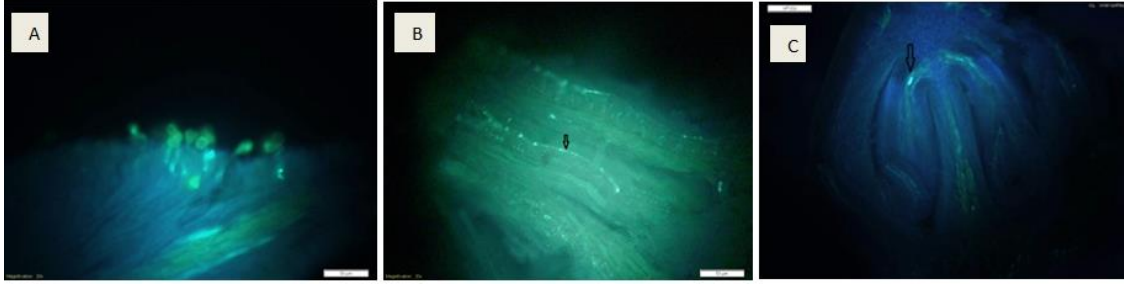
Şekil 5. Bir zeytin pistilinin boyuna kesilmiş görüntüsü. Ölçek çubuğu: 200µ.

Şekil üzerinde A ile belirtilmiş bölge çiçek tozu çim borusu büyüme dokusunu, Beyaz ok; çiçek tozlarının tohum taslağına giriş yerini, Yuvarlak içine alınmış bölge; stigmada çimlenmekte olan çiçek tozlarını göstermektedir.

Zeytinde çiçek tozu çim boruları stigmaya ulaştıktan 2-6 saat sonra oluşmaya başlamıştır (Şekil 6A). Başlangıçta stigma üzerinde çok sayıda çiçek tozu çim borusu uzamaya başlasa da

stil içerisine az sayıda çiçek tozu çim borusunun giriş yaptığı (Şekil 6B) ve bu çim borularından da sadece 1-4 tanesinin tohum taslaklarına kadar uzayabildiği (Şekil 6C) görülmüştür.

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri



Şekil 6. Zeytinde çiçek tozu çim borusu uzaması. A. Çiçek tozu çim borularının stigma üzerinde çimlenmesi, ölçek çubuğu: 50µ. B. Çiçek tozu çim borusunun (siyah ok) stil içerisinde ilerlemesi (Siyah ok), ölçek çubuğu: 50µ. C. Çiçek tozu çim borusunun tohum taslağına ulaşması (Siyah ok), ölçek çubuğu: 100µ.

Daha önce yapılan çalışmalarda da zeytinde çiçek tozu çim borusunun stigma üzerine ulaştıktan sonra iki iletim demeti arasından stil içerisinde bulunan dokuya nüfuz etmekte ve başlangıçta çok sayıda çiçek tozu çim borusu gelişimi sağlanırken oluşan çiçek tozu çim borularından ancak 1-2 tanesi ovaryuma ulaşabilmekte olduğu belirtilmiştir (Cuevas ve ark., 1993; Ateyyeh ve ark., 2000; Vuletin Selak ve ark., 2014). Bazı çalışmalarda ovaryuma ulaşan çiçek tozu çim borusu sayısının 4 taneye ulaşabildiği de bildirilmiştir (Wu ve ark., 2002). Yaptığımız bu çalışmada da benzer sonuç her iki tozlama yöntemi ile de yapılan histolojik analizler sonucunda kendine uyuşur ‘Saurani’ zeytin çeşidinde tespit edilmiştir.

Tozlamalar Sonrasında Çiçek Tozu Çim Borusu Gelişimi ‘Saurani’

Emaskülasyon sonrasında elle tozlama çalışmalarında yapılan histolojik incelemeler sonucunda kendine uyuşur ‘Saurani’ zeytin çeşidinde çiçek tozu çim borularının tozlamadan 2 saat sonrasında itibaren stigma üzerinde çimlenmeye başladığı (Şekil 7A), 24. saatte stil içerisinde ilerlemekte olduğu (Şekil 7B) ve 36. saatte ovaryuma ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 7C). Kese sallama yönteminde ise ‘Saurani’ çeşidinden alınan örnekler arasında anterleri patlamış ve anterleri kararmış olan örneklerde çiçek tozu çim borusunun tohum taslağına ulaştığı belirlenmiştir. Tarsus koşullarında Gemlik, Sarı Ulak ve Domat zeytin çeşitlerinde yapılan bir çalışmada çiçek tozu çim borularının tohum taslağına ulaşması hem

kendileme hem de yabancı tozlama uygulamalarında 2 veya 3. günde gerçekleştiği bildirilmiştir (Gencer, 2020). Arzani ve Javady (2000), ise zeytinde etkili tozlanma periyodunu belirlemek amacıyla çiçekler henüz beyaz balon aşamasındayken emaskülasyon işlemi uygulanarak tozlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, çiçek tozu çim borularının tozlamadan 1 gün sonra stile, 3 gün sonrasında ise tohum taslağına ulaştığı görülmüştür.

‘Kilis Yağlık’

Kendine uyuşmaz olarak bilinen ‘Kilis yağlık’ zeytin çeşidinde elle tozlama çalışmaları sonucunda çiçek tozu çim borularının tozlamadan sonraki 6. ve 12. saatlerde stigmada çimlenmeye başladığı, ilk 24 saat içerisinde çiçek tozu çim borularının kendi boyutunun yaklaşık 4 katı kadar uzadığı belirlenmiştir (Şekil 7D). Tozlanmadan sonraki 36. saatte ise çiçek tozu çim borularının uç kısımdan şişmeye veya çatallanmaya başladığı, bazılarının ise stil dokusuna giremeyerek stigma üzerinde dönmeye başladığı belirlenmiştir (Şekil 7E). Bu durum ‘Kilis yağlık’ çeşidinde çiçek tozu çim borularının stigmayı delemeyen deformasyona uğradığını, yani uyuşmazlık belirtilerinin stigma üzerinde 36. saatten itibaren başladığını göstermektedir. Söz konusu çeşitte kese ile sallama yönteminde ise anterleri yeni patlamış olan örneklerde çiçek tozları çimlenmeye başlamış olup, anterler kararmış olan bazı örneklerde ve sadece dişi kalan örneklerde çiçek tozu çim borularında kıvrılmalar başladığı tespit edilmiştir.

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

East (1934), kendine uyuşmazlığı kendileme depresyonu (artan homozigotluk nedeniyle bireylerdeki performans azalması) olarak tanımlamakta ve uyuşmazlık durumunda çiçek tozu çim borusunda kıvrılmalar ve uç kısımlarda şişmeler olduğu, belirli bir süre sonra çiçek tozu çim borusu büyümesinin durdurulduğunu bildirmiştir. Benzer durumlar kendine

‘Sarı Ulak’

Kendine yarı uyuşur olan ‘Sarı ulak’ zeytin çeşidinde ise çiçek tozlarının tozlamadan sonraki ilk saatlerden itibaren çim borularını oluşturmaya başladığı gözlenmiştir. Tozlamadan 24 saat sonra çiçek tozu çim borularının stigmadan içeriye giriş yapmış olduğu ve özellikle 36. saatte tohum taslağının yarısına kadar ulaştığı görüntülenmiştir. Söz konusu çeşitte 48. saatte tohum taslağına ulaşmış çiçek tozu çim borularının da olduğu görülmüştür. Bu durum ‘Sarı Ulak’ çeşidinde kendileme sonucunda meyve tutumunun bu şekilde gerçekleştiğini kanıtlamaktadır.

‘Sarı Ulak’ yarı uyuşur bir çeşit olduğundan bazı çiçekler kendileme sonucunda meyve oluştururken, bazı çiçeklerde de çiçek tozu çim borularının engellenmesi beklenmektedir. Emaskülasyon sonrası tozlamada başlangıçta çiçek tozu çim boruları normal şekilde ilerlerken 60. saatte çiçek tozu çim borularının stilin yarısında parçalanmaya başladığı ve dolayısıyla bu çiçek tozu çim borularının tohum taslaklarına ulaşamadığı görülmüştür (7F-H). Bazı durumlarda çiçek tozu çim boruları ovaryum içinde de yüksek kalloz ve kıvrılmalar göstermiştir (Şekil 7F-H). Ancak bazı örneklerde de stilde ilerlemekte olan çiçek tozu çim borularından bir kaçının ovaryuma doğru ilerlediği ve tohum taslağına ulaşabildiği de görüntülenmiştir (Şekil 7C). Bu durum S genlerinin yarısının benzerlik göstermesinden

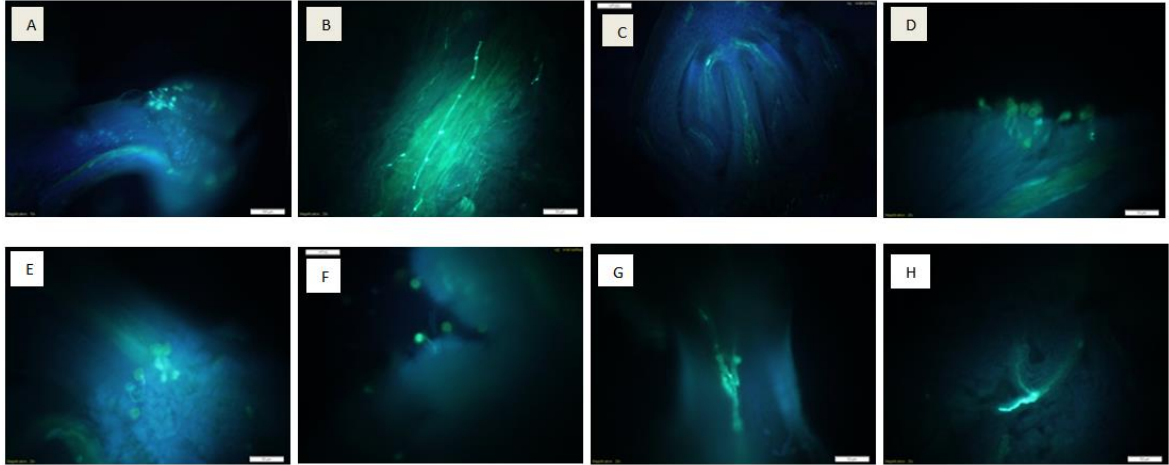
uyuşmazlık gösteren Frantoio, Koroneiki ve Kalamata zeytin çeşitleri üzerinde yapılan çalışma sonucunda da gözlenmiş olup, çiçek tozları çim borularının stile girmeden önce stigmada engellendiği tespit edilmiştir (Seifi ve ark., 2011).

kaynaklı olduğu düşünülmekte ve dişi organ ile benzer S genine sahip çiçek tozlarına ait çiçek tozu çim borularının stil içerisinde parçalandığını işaret etmektedir. Nitekim Dölek-Gencer ve ark. (2023), Sarı ulak zeytin çeşidinde çiçek tozu kalite ve miktarı yüksek olmasına rağmen kendileme uygulamasında en yüksek düzeyde boncuklu meyve oluşumunu gerçekleştirdiği ve bu durumun çeşidin kendi çiçek tozu ile uyuşmazlık sorunu yaşadığından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Kese sallama yöntemi ile yaptığımız çalışma sonucunda ise ‘Sarı Ulak’ çeşidinde başlangıçtaki örneklerde çiçek tozu çim boruları normal ilerlemeye devam ederken sadece dişi organı kalan örneklerde çiçek tozu çim borularının stilin ortasında deforme olmaya başladığı belirlenmiştir.

Manzanillo zeytin çeşidinin kendi çiçek tozu ile tozlanması sonucunda çiçek tozu çim borularının çoğunun stigma yüzeyinde kaldığı ve stil kısmına ulaşamadığı, bu durumda çiçeklerin ancak %5’inde döllenme gerçekleştiği belirlenmiştir (Sánchez-Estrada ve Cuevas, 2019). Manzanillo çeşidi ile ilgili başka bir çalışmada ise söz konusu çeşit kendine uyuşmaz olarak nitelendirilse (Cuevas ve Polito, 1997)’de, Wu ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada kısmi uyuşmazlık özelliğini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri



Şekil 7. Saurani, Kilis yağlık ve Sarı Ulak çeşitlerinde çiçek tozu gelişimi ve oluşan anormalilikler. A-C ‘Saurani’ zeytin çeşidinde çiçek tozu çim borusu uzaması. A. Tozlanmanın 2. ve 6. saatlerinde çiçek tozu çim borularının stigma üzerinde çimlenerek stigmayı delmesi, Ölçek çubuğu: 100µ. B. Çiçek tozu çim borusunun 24. saatte stilde ilerlemesi, Ölçek çubuğu: 50µ. C. Çiçek tozu çim borusunun 36. saatte tohum taslağına ulaşması, Ölçek çubuğu: 100µ. D-F. ‘Kilis yağlık’ çeşidinde çim borusu gelişimi. D. 12. saatte çiçek tozu çim borularının stigma yüzeyinde çimlenmiş görüntüleri, Ölçek çubuğu: 50µ. E-F. 36. saat itibariyle çiçek tozu çim borularında gerçekleşen anormal gelişmeler. E, Çiçek tozu çim borularının stigma üzerinde kıvrılması, Ölçek çubuğu: 50µ. F. Çiçek tozu çim borusunun ucunun şişmesi, Ölçek çubuğu: 50µ. G-H ‘Sarı Ulak’ çeşidinde çiçek tozu çim borularının stil içerisindeki anormal görüntüleri. H. Çiçek tozu çim borularının stilin yarısında kıvrılmaya başlaması ve kalloz oluşumunun artması, Ölçek çubuğu: 50µ.

Tozlama Yöntemlerinin Kullanılabilirliği

Yapılan iki tozlama çalışmasının histolojik sonuçları karşılaştırıldığında emaskülasyon sonrasında tozlama yönteminin çim borusu gelişiminin incelenmesi ve uyuşmazlık tayini için uygun olduğu buna karşın tozlama aşamasında zor uygulanan bir yöntem olduğu tespit edilmiştir. Ancak, canlılık düzeyi bilinen çiçek tozları ile bilinen saatte yapılan tozlama işlemleri ile etkin bir tozlanmanın sağlandığı görülmüştür.

Kese sallama yöntemi ile yapılan tozlama çalışmalardan elde edilen örnekler incelendiğinde ise çiçek tozlarının dişi organlara yeterli miktarda ulaşmadığında etkili bir tozlanma işleminin olmadığı görülmüştür. Elde edilen örneklerin bazılarında ilk aşamalarda stilde ilerleme görülürken ileriki aşamalarda daha yeni çimlenmeler ile karşılaşılmıştır. Bazı durumlarda da aynı aşama olarak alınmış bir örnekte çiçek tozu çim boruları stilde iken bazısında ya hiç çiçek tozu olmadığı ya da çiçek tozunun yeni çimlenmeye başlamış olabildiği

görülmüştür. Bu durum, stigma reseptifliği uzun olan zeytin çiçeğinde çiçeklerin hangi gün tozlandığının, tozlamada kullanılan çiçek tozlarının canlılığının ve çiçeklerin tozlama sırasında hangi aşamada olabileceğinin morfolojik olarak belirlenememesine neden olacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte, yapılan incelemeler sonucunda farklı aşamalarda çiçeklerde de olsa saatlik örneklerdeki kritik görüntülere benzer görüntüler elde edilmiş ve belirli aşamalarda alınacak fazla sayıdaki çiçek örneklerinde yapılacak histolojik analizler sonucunda eşeyssel uyuşmazlık varlığının belirlenebileceği tespit edilmiştir.

Önceki çalışmalara kıyasla emaskülasyon sonrasında tozlama işlemleri daha önce Dölek-Gencer (2020)’de de belirtilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Seifi ve ark. (2011), tarafından kese sallama yöntemi ile benzer şekilde incelenerek uyuşmazlık durumunu belirlenebildiği bildirilmiştir. Bu durumda, saat belirlemesi gibi hassas bir çalışma

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

yapılmayacaksa ve sadece durum belirlemesi yapılmak isteniyorsa tozlama işlemi ve örnekleme daha kolay olan kese sallama yöntemi kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak, çiçek tozunun hangi aşamada veya hangi saatte durduğu gibi bilgilere ihtiyaç varsa mutlaka emaskülasyon sonrasında bilinen saatte çiçek tozunun stigma üzerine taşınması gerekmektedir.

Sonuçlar

Zeytin bitkisindeki kendine uyumsuzluk sistemi, üretim ve yetiştirme açısından önemli sonuçları olan geniş kapsamlı bir araştırma konusu olmuştur. Zeytinde kendine uyumsuzluğun incelenmesi, etkili üretim strateji-lerinin geliştirilmesi ve zeytin yetiştirme uygulamalarının iyileştirilmesi açısından hayati öneme sahiptir. Zeytinde eşeyssel uyumsuzluk belirtilerinin tozlanmadan sonra hangi dönemde oluştuğunun görülmesini amaçlayan bu çalışmada kendine uyuşur 'Saurani', yarı uyuşur "Sarı ulak" ve kendine uyuşmaz özellik gösteren "Kilis yağlık" zeytin çeşitlerinde tozlama sonrasında çiçek tozu çim borusu büyümesi incelenmiştir. Ayrıca, yapılan iki farklı tozlama çalışması ile çiçek tozu çim borusu gelişimi incelemesini amaçlayan çalışmalarda farklı

Kaynaklar

- Arzani, K., & Javady, T. (2000, September). Study of Flower Biology and Pollen Tube Growth of Mature Olive Tree Cv.'Zard'. In IV International Symposium On Olive Growing 586 (Pp. 545-548).
- Ateyyeh, A. F., Stosser, R., & Qrunfleh, M. (2000). Reproductive Biology of The Olive (*Olea Europaea L.*) Cultivar 'Nabali Baladi'. J. Appl. Bot, 74, 255-270.
- Bartolini, S.; Guerrero, R. (1995) Self-compatibility in several clones of oil olive cv. Leccino. Advances in Horticultural Science, 71-74.
- Cuevas, J., Rallo, L., & Rapoport, H. F. (1993, September). Staining Procedure For The Observation of Olive Pollen Tube Behaviour. In II International Symposium on Olive Growing 356 (Pp. 264-267).

yöntemlerin kullanılabilirliği belirlenmiştir. Bununla birlikte inceleme esnasında zeytin çiçeğinde dişi organın ve çiçek tozu çim borusu gelişiminin detaylı yapısı da incelenmiştir. Çalışma sonucunda çeşitlerin eşeyssel uyuma düzeyleri doğrulanmış olup, çiçek tozu çim borularının 'Saurani' çeşidinde 2. günde tohum taslaklarına ulaşırken, 'Kilis yağlık' çeşidinde çiçek tozu çim borularının 36. saatte stigmada, 'Sarı ulak' çeşidinde ise 60. saatte stil içerisinde durdurulduğu tespit edilmiştir. Yapılan farklı tozlama uygulamalarının kullanılabilirliği konusunda ise uyumsuzluğun başlangıç zamanının belirlenmesi açısından yapılacak hassas çalışmalarda emaskülasyon sonrasında tozlama işleminin kullanılmasının şart olduğu, sadece durum belirlemesi üzerine yapılacak çalışmalarda kese sallama yönteminin yeterli olacağı kanısına varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) (Proje no:5188) tarafından desteklenmiştir. Yazarlar arazi çalışmalarında katkılarından dolayı Zir. Yük. Müh. Gönül UTKANER, Dr. Özgür DURSUN, Zir. Müh. Umut GÜL'e teşekkür eder.

- Cuevas, J., & Polito, V. S. (1997). Compatibility relationships in Manzanillo'olive. HortScience, 32(6), 1056-1058.
- Franklin-Tong, V. E. (2008). Self-incompatibility in flowering plants. Evolution, diversity, and mechanisms, 305.
- East, E. M. (1934) The Reaction of The Stigmatic Tissue Against Pollen-Tube Growth In Selfed Self-Sterile Plants. Proceedings of The National Academy of Sciences, 20.6: 364-368.
- Fraga H., Moriondo M., Leolini L. and Santos J. A. (2021). Mediterranean Olive Orchards Under Climate Change: A Review of Future Impacts And Adaptation Strategies, Agronomy,11,56. <https://doi.org/10.3390/Agronomy11010056>.
- Gencer, C. (2020). Gemlik, Sarı Ulak ve Domat Zeytin Çeşitlerinin Döllenme Biyolojileri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi.

Zeytinde Eşeyssel Uyuşmazlık Durumunun Belirlenmesi ve Uyuşmazlık Araştırmalarında Kullanılabilecek Tozlama Yöntemleri

- Gencer, C. D., Özkaya, M. T., Eti, S., & Karabıyık, Ş. (2023). Evaluation of the effect of open-, self-and cross pollinations on fruit set in Domat, Gemlik and Sarı Ulak olive cultivars. *Scientia Horticulturae*, 311, 111780.
- Kaya, H., Sefer, F., Mete, N., Çetin, Ö., Hakan, M., Şahin, M., ... Savran, K. (2015). Türkiye zeytin çeşit kataloğu. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir.
- Lavee, S. (1996). Biology and physiology of the olive. *Olive Encyclopaedia*, International Olive Oil Council, Principe de Vergara, 154, 28002.
- Mete, N. & Çetin, Ö. (2017). Kilis Yağlık Zeytin Çeşidinde Döllenme Sorununun Araştırılması. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(4), 376-384.
- Rea, A. C., & Nasrallah, J. B. (2004). Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plant. *International Journal of Developmental Biology*, 52(5-6), 627-636.
- Reale, L., Sgromo, C., Bonofiglio, T., Orlandi, F., Fornaciari, M., Ferranti, F., & Romano, B. (2006). Reproductive biology of olive (*Olea europaea L.*) DOP Umbria cultivars. *Sexual Plant Reproduction*, 19, 151-161.
- Sánchez-Estrada, A., & Cuevas, J. (2019). Pollen-Pistil İnteraction in 'Manzanillo' olive (*Olea europaea L.*) Under Self-, Free-And Cross-Pollination. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 25(3), 141-150.
- Seifi, E., Guerin, J., Kaiser, B., & Sedgley, M. (2011). Sexual Compatibility and Floral Biology of Some Olive Cultivars. *New Zealand Journal of Crop And Horticultural Science*, 39(2), 141-151.
- Serrano, I., Suárez, C., Olmedilla, A., Rapoport, H. F., & Rodríguez-García, M. I. (2008). Structural organization and cytochemical features of the pistil in olive (*Olea europaea L.*) cv. Picual at anthesis. *Sexual Plant Reproduction*, 21, 99-111.
- Karabıyık, Ş. (2022). Effects of temperature on pollen viability and in vivo pollen tube growth in *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Botany & Food Quality*, 95.
- Vuletin Selak, G., Cuevas, J., Pinillos, V., Goreta Ban, S., Poljak, M., & Perica, S. (2014). Assessment of Effective Pollination Period İn Olive (*Olea europaea*) By Means of Fluorescence Microscopy and Plant Response To Sequential Pollinations: Limitations And Drawbacks Of Current Methodologies. *Trees*, 28, 1497-1505.
- Quero A., Pinillos V. and Cuevas J.(2002). Reduced Ovule Longevity Increases Cross-Pollination Response in Olive, Article in *Acta Horticulturae*. October 2002.
- Wu, S. B., Collins, G., & Sedgley, M. (2002). Sexual Compatibility within and between Olive Cultivars. *The Journal Of Horticultural Science And Biotechnology*, 77(6), 665-673.