

Isparta Koşullarında Bazı Elma Çeşitlerinde Çiçek Tozu Özelliklerinin İncelenmesi

Oğuz Korkmaz, Halime S. Özata, Hanife S. Üre, Mehmet Polat, Mehmet Atilla Aşkın

Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta

e-posta: atillaaskin@gmail.com

Özet

Bu çalışmada Isparta ekolojik koşullarında kışlık, yazlık ve güzlük elma (*Malus domestica*) çeşitlerinin çiçek tozu canlılıklarının TTC (trifeniltetrazoliumklorid), çimlenme gücünün agar yöntemi ve polen morfolojisinin scanning elektron mikroskobu (SEM) ile saptanması amaçlanmıştır. Işık ve scanning elektron mikroskobun (SEM)'dan elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak incelenmiştir. Çimlendirme testi 2.5 saat ve 24 saat gibi sürelerde yapılmıştır. Araştırma da toplam polen, çimlenen ve çimlenmeyen polenler sayılmıştır. Araştırma sonucunda en iyi verileri Scanning elektron mikroskobu yöntemi ile elde ettiğimiz sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Elma, Pink lady, Summer red, Golden reinders, Smoothee, Red spur, SEM, TTC

Observation of Pollen Properties of Some Apple Varieties in Isparta Conditions

Abstract

In this study, our purpose was to compare the methods for determining the trifeniltetrazoliumklorid (TTC) germination power of the varieties of wintery, summer and Autumn apple's (*Malus domestica*) pollen viability using agar method and observing pollen morphology using scanning electron microscope (SEM) in Isparta's ecological conditions. The results acquired from light microscope and SEM were observed by comparing to each other. The germination test performed at the time intervals of 2.5 hours and 24 hours. In this research, the total pollen, germinating pollens and non-germinating pollens were counted. The best data we have reached was the results that obtained from SEM method.

Keywords: Apple, Pink Lady, Summer red, Golden Reinders, Smoothee, Red spur, SEM, TTC

Giriş

Elma (*malus domestica barkh*), çok eski yıllardan beri yetiştiriciliği yapılan ılıman iklim meyveleri arasında en başta gelen meyve türlerinden birisidir. Elmanın anavatanının Anadolu'da içine alan Güney Kafkaslar olduğu tahmin edilmektedir (Soylu, 2003). Dünya'da geniş bir üretim potansiyeline sahip olan elma, ülkemizde de en fazla yetiştiriciliği yapılan meyve türlerinden biridir (Kaşka ve ark. 2005). 2013 yılı verilerinde göre ülkemiz elma üretimi bakımından 3.128.450 ton ile dünyada 3. sırada yer almaktadır. Yine aynı yıl verilerine göre dünyada elma üretim miktarı 75.484.671 tondur (Tuik, 2013).

Ülkemiz diğer tarım ürünlerinde olduğu gibi meyvecilik yönünden de gen merkezi durumunda olup, birçok meyve tür ve çeşidi bakımından oldukça zengindir (Özbek, 1978). Birçok meyve türünün anavatanı olan veya anavatanları arasında yer alan ülkemiz, elmanın da anavatanları arasında gösterilmektedir, (Ülkümen, 1938; Özbek, 1978). Türkiye'de Kuzey Anadolu ile İç Anadolu arasındaki geçit bölgede yer alan Kocaeli, Kastamonu, Amasya, Tokat; Güney Anadolu ile İç Anadolu Bölgesi

arasındaki geçit bölgede yer alan Isparta, Burdur, Denizli; Marmara Bölgesinde yer alan Bursa, Balıkesir ve Çanakkale; kurak iklime sahip olan İç Anadolu Bölgesinde bulunan Karaman, Niğde, Nevşehir, Konya Ereğlisi'nin dere, ırmak ve göl kenarlarında ve vadilerde özel iklim koşulları altında, kültürel önlemlerin yardımı ile elma yetiştiriciliği yapılmaktadır (Özçagırın ve ark., 2004).

İlman iklim meyveleri içerisinde, hem dünyada hem de ülkemizde üretimi en fazla yapılan tür elmadır. Türkiye dünya üretiminin %3.54'ünü karşılamaktadır. Türkiye'de elma üretimi en fazla Isparta (609.929 ton), Niğde (331.533 ton), Denizli (226.330 ton), Karaman (190.291 ton), Antalya (186.562 ton), Kayseri (197.955 ton) ve Çanakkale (107.615 ton) illerinde gerçekleştirilmektedir (Tuik, 2013). Türkiye üretiminin %23'ünü sağlayan Isparta elma üretiminin merkezi konumundadır.

Bu çalışmada Isparta ekolojik koşullarında kışlık, yazlık ve güzlük elma (*Malus domestica*) çeşitlerinin çiçek tozu canlılıklarının TTC (trifeniltetrazoliumklorid), çimlenme gücünün agar yöntemi ve polen

morfolojisinin scanning elektron mikroskobu (SEM) ile saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışma 2013 ve 2014 yıllarında Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'ndeki açık arazi parsellerindeki Smoothee, Pink lady, Summer red, Golden reinders, Red spur çeşitlerinden alınan pembe tomurcuklar ile gerçekleştirilmiştir.

Denemede Kullanılan Elma Çeşitlerinin Özellikleri

Smoothee

1958'de Golden delicious'un tüm ağaç mutasyonu sonucunda meydana gelmiştir. Kırmızı kahverengi yanak oluşumuna düşük eğilim gösterir (Jackson, 2003). Ağacı orta kuvvette, meyveleri orta irilikte olup sarı renklidir. Yeme kalitesi bakımında üstün olması yönünden daha az pas yapması ile dikkati çekmektedir (Domoto, 1997; Yaşasın ve ark., 2006).

Cripps Pink "Pink Lady®"

Batı Avustralya'da elma ıslah programı içerisinde, Golden Delicious ve Lady Williams çeşitlerinin melezlenmesinden elde edilmiştir. Meyveleri dikdörtgen şekilli olup, kabuk rengi yeşil-sarı zemin rengi üzerine pembe veya parlak kırmızı renklidir. Meyveleri ince kabuklu bir yapıya sahip olduğundan hassastır ve çabuk zedelenebilir. Meyve eti beyaz renkli olup yeme kalitesi iyi bir çeşittir. Soğuklama gereksinimi ortalama 500-600 saat arasındadır.

Summer Red

Dr. K.O. Lapins tarafından Kanada British Colombia, Summerland Meyve Araştırma İstasyonunda elde edilmiştir. Ağaçları güçlü, yüksek verimlidir. Aynı zaman da 1 yıllık sürgünlerde meyve verimi vardır. Meyveleri orta irilikte, silindirik yuvarlak, hafif uzun şekilli, belirgin kırmızı kabuklu ve beyaz lentisellidir. Meyve eti sert ve suludur

Golden Reinders

Golden reinders yine Golden Delicious'un bir mutasyonudur. Ağaç özellikleri tüm Golden çeşitlerinde hemen hemen aynıdır. Verimi oldukça iyidir.

Red Spur

Starking delicious'ın spur mutantlarındandır. Tadı hoş bir mayhoşluğa sahiptir, meyve eti gevrek ve suludur. Meyveleri iridir ve karalekeye hassas, ateş yanıklığına dayanıklı bir çeşittir. Hasat zamanı Eylül sonu Ekim başıdır.

Polen Toplanması

Polen özelliklerinin belirlenmesi için çiçekler, 24.04.2013 tarihinde pembe tomurcuk döneminde çiçekler toplanarak laboratuvar koşullarında anterleri çıkarılmış ve anterler oda sıcaklığında patlatılarak çiçek tozları elde edilmiştir. Çiçek tozları, 9 ay boyunca buzdolabında (4°C) saklanmıştır.

Polen Canlılığı

Uygulamalara ait polenler %1'lik 2,3,5 TTC (trifenil tetrazolium klorür) çözeltisi ile boyanmış; çiçek tozu çimlendirme denemesi için %1 agar %20 sakkaroz ortamına 5 çeşidin çiçek tozu ekimi yapılmış; boyanan ve boyanmayan polenler ışık mikroskobu altında sayılarak fetal, yarı canlı ve ölü polen sayıları yazılmış, polen canlılığı (%) ile ilgili veriler bu şekilde elde edilmiştir. Denemede yer alan uygulamaların her biri için 2'şer lam hazırlanmış, polen ekimi yapılmış lamın üzeri lamelle kapatılmış; 25°C oda sıcaklığında ve doğrudan güneş ışığı almayan normal ışıklı bir ortamda 2-3 saat bekletilmiş; bu sürenin sonunda ışık mikroskopunda sayım yapılarak, koyu pembe-kırmızı boyanan polenler canlı, açık pembe-açık sarı olanlar yarı canlı ve renksiz olanlar cansız olarak değerlendirmeye alınmış; her lam için rasgele seçilen 2'şer bölgede sayım yapılmıştır. Uygulama yapılan bitkilerden 10-15 günde bir örnek alınmış ve kriterler gözlenmiştir.

Polen Çimlenmesi

Polenler, %20 sakkaroz ve %1'lik agar içeren ortamda çimlenme testine tabi tutulmuştur. Hazırlanan ortamlar, petri kaplarına yaklaşık 2 mm kalınlıkta dökülerek soğumaya bırakılmış; tam katılma gerçekleşmeden polenlerin, homojen bir şekilde dağılmaları sağlanarak polen ekimi yapılmıştır. Çimlenme süresince, gerekli nemin sağlanması amacıyla petri kaplarının kapaklarına, saf suyla nemlendirilmiş filtre kağıdı yerleştirilmiş, bu şekilde hazırlanan kaplar 25°C'deki oda koşullarında 2.5 ve 24 saat bekletilmiştir. Çimlenmenin görüldüğü ve görülmediği polen sayıları mikroskop altında belirlenip kaydedilmiş, her bir uygulama için canlı, yarı canlı ve ölü polen sayısı bulunmuştur.

Her bir uygulama için 2 petri kullanılmış ve her petride 2'şer alanda çimlenen ve çimlenmeyen polenler sayılarak elde edilen değerler % olarak hesaplanmıştır. Uygulama yapılan ağaçlardan aynı günde ve 24 saat sonrasında bir örnek alınmış ve kriterler gözlenmiştir.

Polen Morfolojisi

Işık mikroskobu (LM) ve tarayıcı elektron mikroskobu (SEM) yöntemleriyle incelenen polen tipi, polen şekli ve büyüklüğü, polen en ve boy oranı verilerine göre polen morfolojisi yapılmıştır. Polenlerin ekvatorial ve kutupsal görünümündeki polen morfolojisi kriterlerinin ölçümleri, mikrometrik oküler kullanılarak ve mikroskopta 1000 büyütme objektif ile yapılmış; polen canlılık fotoğrafları Zeiss marka Axioplan model mikroskop ve Stop Advanced programı kullanılarak çekilmiştir. Erdtman (1969) yöntemiyle her uygulamadan 5'er adet preparat incelenerek 50'şer adet polenin polar ve ekvatorial görünümündeki polen morfolojisi kriterlerinin ölçümleri, mikrometrik oküler kullanılarak mikroskopta 1000'lik objektifle yapılmış, boy/en formülü kullanılarak, polen indeksleri belirlenerek ortalamaları alınmıştır.

SEM ile Polen İncelenmesi

SEM fotoğraflarının çekilmesinde; polenlerin morfolojik özelliklerinin görülmesi, polen şeklinin tespiti, polenin simetri eksenlerinin öğrenilmesi, bağlantı durumlarının görülmesi amaçlanmıştır; SEM ile yapılan incelemelerde elmalara ait polenlerin polar ve ekvatorial görünüşleri elde edilmiş; polen sağlamlık ve abortif yapısı incelenmiştir. SEM çalışmaları Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi histoloji ve embriyoloji anabilim dalı TEMGA ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir. SEM çalışmaları için çiçeklerden alınan polenler temiz bir lam üzerine konmuştur. Hazırlanan bu polenler özel bir bant aracılığıyla alınıp, staplar (üzerinde iki taraflı yapıştırıcı bant bulunan metal polen taşıyıcılar) üzerine yapıştırılarak, polaron sc 7620 marka sputter coater aletine altın paladium ile kaplanmak üzere yerleştirilmiştir. Bu kaplama kabında kullanılan basınç 300 angstromdur. Örnekler vakum yapıldıktan sonra potansiyel basınç farkı yaratılarak altın paladium taneleri gaz bulutu haline dönüştürülmüş ve örnek üzerine hızla gönderilerek yapıştırılmıştır. Kaplamadan sonra staplar elektron mikroskobu haznesine yerleştirilerek morfolojik yapıları incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Altın kaplanarak hazırlanan polen örnekleri zeiss

firmasına ait leo marka 14320 taramalı elektron mikroskobu (scanning electron microscope- (SEM)) ile incelenmiş ve görüntüler digital olarak kaydedilmiştir.



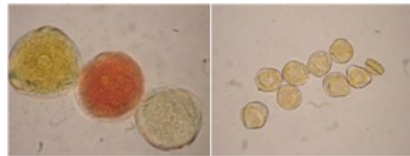
Şekil 1. SEM çalışmalarının materyal ve aşamaları (orijinal)

Bulgular ve Tartışma

Yapılmış olan 2,3,5 TTC (trifeniltetroz olümklorid), 2.5 saatlik çimlendirme testi, 24 saatlik çimlendirme testi ve SEM bulguları sonucunda elde edilen değerlendirmeleri de yapılmıştır.

TTC

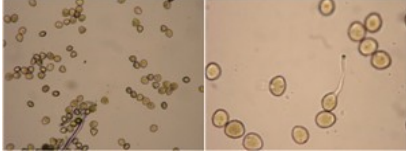
2,3,5 TTC testi sonucunda en yüksek canlı polen yüzdesine sahip olan çeşit Red spur (%89.570), en düşük ise Pink lady (%54.237) çeşididir; en yüksek ölü polen yüzdesine sahip olan Pink lady, en düşük ölü polen yüzdesi ise Red spur çeşididir.



Şekil 2. Canlılık testlerine tabi tutulmuş elma polenleri (orijinal)

Çimlendirme Testi (2.5 saat)

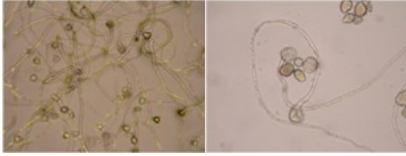
2.5 saat çimlendirme testimizde en yüksek çimlenmiş polen yüzdesi Red spur (%11.249), en düşük çimlenme yüzdesi olan çeşit ise Golden reinders (%1.161) çeşididir; en yüksek çimlenmemiş polen yüzdesi Golden reinders çeşidi, en az çimlenmemiş polen yüzdesine sahip olan çeşit ise Red spur'dur.



Şekil 3. Çimlendirme testlerine tabi tutulmuş (2,5 saat) elma polenleri (orijinal)

Çimlendirme Testi(24 saat)

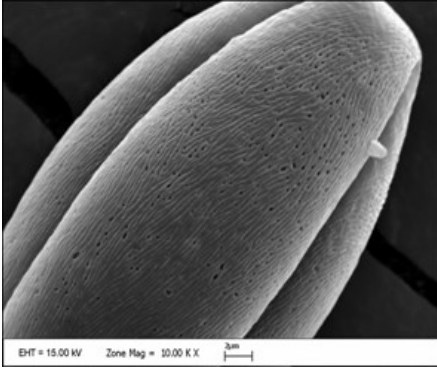
24 saatlik çimlendirme testimizde en iyi çimlenmiş polen yüzdesine sahip olan çeşit Red spur (%83.249), en düşük çimlenme yüzdesi ise Summer red çeşidine aittir; en yüksek çimlenmemiş polen yüzdesi Summer red (%15.470), en düşük çimlenmemiş polen yüzdesi ise Red spur'dur.



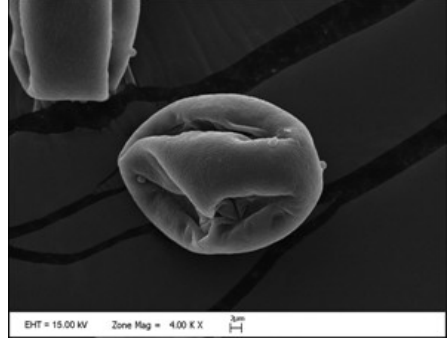
Şekil 4. Çimlendirme testlerine tabi tutulmuş (24 saat) elma polenleri (orijinal)

SEM

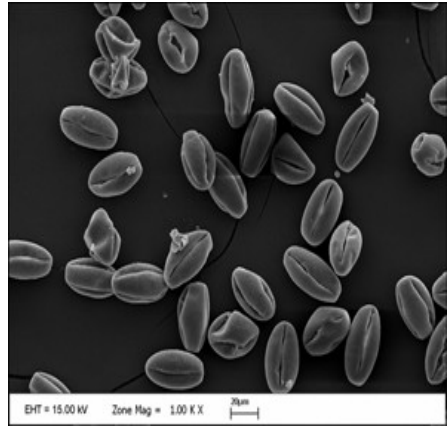
SEM ile yapmış olduğumuz çalışmada en yüksek sağlam polen yüzdesi Summer red (%74.324) iken en düşük sağlam polen yüzdesi Red spur(%65) çeşidine aittir.



Şekil 5. Sağlam polen görüntüsü (orijinal)



Şekil 6. Abortif polen görüntüsü (orijinal)



Şekil 7. SEM uygulamasında toplu polen görüntüsü

Sonuç

Üzerinde çalıştığımız 5 farklı elma çeşidinde yapılan 2,3,5 TTC testi, 24 saatlik %20 sakkaroz ortamındaki çimlendirme ve SEM uygulamalarında elde edilen sonuç yüzdeleri karşılaştırıldığında birbirine yakın yüzdelik dilimler elde edilmiştir ve en sağlıklı oranı SEM uygulaması üzerinden elde edilmiştir. Bütün testlerde elde edilen sonuçlar birbirine çok uzak değerler olmamakla birlikte SEM kullanımının pahalı ve uygulaması zor olması nedeniyle TTC testi tercih edilebilir.

Kaynaklar

- Abacı, Z.T., Asma, B.M., 2014. Melez kayısı genotiplerinde polen canlılık ve çimlenme durumları ile polen tüpü uzunluklarının araştırılması.
- Arora, B.S., Daulta, B.S., 1991. Studies on fruits set in various cultivars of lemon. Hayrana Journal of Horticulture Science, 20(3-4):193-196 (Hort. Abs., 1994 vol:64, 4, 3134).
- Aşkın, M.A., Öztürk, G., Sarısu H.C., Karakuş A., 2007. Bazı yeni elma çeşitlerinde uygun tozlayıcı çeşidin ve kendine verimlilik durumunun belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 1:64-73.
- Barrit, B.H., 1992. Intensive orchard management. ISBN 0-9630659-1-2. 211p.
- Eti, S., 1990. Çiçek tozu miktarını belirlemede kullanılan pratik bir yöntem. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5: 49-58.
- Eti, S., Kaşka, N., Küden, A., Ilgın, M., 1998. Bazı yazlık elma çeşitlerinin dölleme biyolojileri üzerinde araştırmalar. Tr. J. Agric. For., 22: 111-116.
- Futch, S.H., Jackson, L.K., 2003. Cross-pollination planting plans. Institute of Food and Agricultural Sciences.
- Güleryüz, M., Ülkümen, L., 1972. Erzincan'da yetiştirilen bazı önemli elma ve armut çeşitlerinin pomolojileri ile dölleme biyolojileri üzerinde araştırmalar, Doktora Tezi. Ankara Üniv. Bahçe Bitkileri Bölümü. Ankara.
- Heslop-Harrison, J., Heslop-Harrison, V., 1970. Evaluation on pollen viability of enzymatically induced fluorescence intracellular hydrolysis of fluorescein diacetat, Stain Techn. 45:115-120.
- Karakaya, D., 2013. Kimyasal madde uygulamalarının pepino (*Solanum muricatum* Ait.)'da meyve tutumu ile meyve ve polen özelliklerine etkisi, 71,76 s.
- Kaşka, N., 1997. Türkiye'de elma yetiştiriciliğinin önemi, sorunları ve çözüm yolları. Yumuşak Çekirdekli Meyveler Sempozyumu. 2-5 Eylül 1997,Yalova. 112.
- Norton, J.D., 1966. Testing of plum polen viability with terazolium salts. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 89:132-134.
- Özbek, S., 1978. Özel Meyvecilik Kitabı. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları:128, Ders Kitabı: 11, A.Ü. Basımevi. Ankara, 486 s.
- Özçağırın, R. ve ark., 2011. . Ilıman İklim Meyve Türleri Yumuşak Çekirdekli Meyveler. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Cilt 2, 22 s.
- Özkan, M., Eti, S., 1992. Minneola tangelo'nun dölleme biyolojisi üzerine araştırmalar. I.Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt 1:197-201.
- Özsan, M., 1961. Bazı önemli portakal, mandarin, limon ve altıntop çeşitleri üzerinde sitolojik ve biyolojik araştırmalar. Ankara Univ. Ziraat Fak. Yayınları. 175, 72 s.
- Stanley, R.G., Linskens, H.F., 1985. Polen Biologie. Biochemie Gewinnung und Verwendung Urs freund Verlag Greifenberg Ammerse ,344p.
- Sütyemez, M., 1994. Pozantı ekolojik koşullarında yetiştirilen bazı kiraz çeşitlerinin dölleme biyolojileri üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 165 s. Adana
- Yıldırım, A.F., Koyuncu F., 2004. Elmalarda kimyasal seyreletmedeki gelişmeler. Derim, 21(1):44-53.