

MARUL (*Lactuca sativa* L.) POLENLERİNİN CANLILIK ORANLARI ÜZERİNDE SAKLAMA KOŞULLARI VE SÜRESİNİN ETKİLERİ

Şahan TEZCAN^{1*}, Kenan SÖNMEZ², Ayşe ŞEKER³, Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU⁴

¹Zir. Yük. Müh., United Genetics Turkey Fide Tohum A.Ş., Bursa; ORCID: 0000-0002-2305-1818

²Dr. Öğr. Üyesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Böl., Eskişehir; ORCID: 0000-0003-4040-4555

³Yük. Biyolog, United Genetics Turkey Fide Tohum A.Ş., Bursa; ORCID: 0000-0002-5098-5413

⁴Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Teknokent, Doqutech Academy Ltd. Şti., Gölbaşı/Ankara; ORCID: 0000-0002-3851-466X

ÖZ

Bu araştırmada marul polenlerinin muhafazasında uygun koşul ve sürenin belirlenmesi amacıyla, donör bitkilerden hasat edilen marul polenleri oda (+24°C) ve buzdolabı (+4°C) koşullarında saat camında 1, 3, 5, 7, 10, 15 ve 30 gün süre ile muhafaza edilmiş ve bu süre sonunda 12 farklı ortamda canlılık ve çimlenme gücü kontrolleri yapılmıştır. Çalışma United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş. firmasının Mustafakemalpaşa işletmesinde bulunan AR-GE merkezinde yürütülmüş olup, şirkete ait LW16 kodlu ıslah hattı donör bitki olarak kullanılmıştır. Araştırma sonucunda en uygun polen saklama koşul ve süresinin; buzdolabı sıcaklığında saklanan marul polenlerinin, 5. güne kadar %53.5 oranında canlı, %33.33 oranında çimlenme gücüyle saklanabileceği tespit edilmiştir. İstatistiki olarak ($P \leq 0.01$) seviyesinde oda sıcaklığı ve buzdolabı koşulları olarak iki farklı muhafaza ortamı arasındaki farklılığın, muhafaza süresinin ve çimlenme testlerinde kullanan çimlenme ortamlarının arasındaki farkların önemli olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Salatalar, çiçek tozu, polen çimlenmesi, muhafaza

EFFECTS OF STORAGE CONDITIONS AND TIME ON VITALITY OF LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) POLLENS

ABSTRACT

In this study, lettuce pollen harvested from donor plants was used for 1, 3, 5, 7, 10, 15 and 30 days in a watch glass at room (+24°C) and refrigerator (+4°C) conditions in order to determine the appropriate conditions and duration for the storage of lettuce pollen. It was preserved for a period of time and at the end of this period, viability and germination power were checked in 12 different environments. Study United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş. was carried out in the R&D center of the company's Mustafakemalpaşa enterprise, and the company's LW16 coded breeding line was used as a donor plant. As a result of the research, the most appropriate pollen storage conditions and time; It has been determined that lettuce pollen stored at refrigerator temperature can be kept alive with 53.5% and 33.33% germination power until the 5th day. It has been revealed that statistically ($P \leq 0.01$) the difference between two different storage media as room temperature and refrigerator conditions, the differences between the storage time and the germination media used in the germination tests are significant.

Keywords: Lettuce, pollen, pollen germination, storage

GİRİŞ

Marul, *Asterales* takımına ait, *Asteraceae* (*Compositae*) familyası, *Lactuca* cinsi, *L.sativa* türüne ait yaprağı veya türüne göre gövde ve sürgünleri yenen tek yıllık bir bitkidir. Dünya genelinde geniş üretim ve tüketim potansiyeline sahip olan marul, başta Avrupa menşeli olmak üzere pek çok ıslahçı firmanın, yoğun bir şekilde marul ıslahı çalışmasına neden olmaktadır [11]. Marulda ıslahı gerekli kılan en büyük nedenler olarak çeşitli hastalık dayanımları, çeşitli ekolojik koşullara adaptasyon, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanım, erkencilik, şekil ve rengin pazara uygunluğu gibi

kriterler gösterilebilir [6]. Marul ıslah çalışmalarında tüm bu özellikler bakımından hedeflenen ürünün elde edilmesi için en etkili yöntem klasik ıslah yöntemleridir. Marul ıslahında etkin ve amaca yönelik varyasyon oluşturmak, en önemli aşamadır. Marulda varyasyon oluşturma amacıyla klasik melezlemelerin yanı sıra mutajenik kimyasal ya da gamma ışını uygulamaları kullanılabilir de [7], oluşan mutasyonlar tesadüfi olduğu için, fazla miktarda uygulama, deneme ve gözlem gerektirmektedir. Bu nedenle türler arası veya tür içi klasik melezlemeler, varyasyon oluşturma temelidir. Ancak marulda melezleme işlemleri diğer pek çok kültür bitkisine göre daha zor ve

*Sorumlu yazar / Corresponding author: tezcansahan@gmail.com

meşakkatlidir. Bu durum marul bitkisinin çiçek yapısı ve döllenme biyolojisi açısından ortaya koyduğu çalışma güçlüğünden kaynaklanmaktadır. Marul melezlemesinde işlemler hassas el becerisinin yanında, uygun polenin, ana ebeveyn ile uygun zamanda temin edilmesi için kültürel yetiştiricilik takvimi hesaplaması gerektirmektedir. Özellikle bitkinin generatif döneme geçmesi için ihtiyaç duyduğu sıcaklık toplamı düşük olan çeşitler ile yüksek olan çeşitlerin tam olarak ihtiyaç duydukları sıcaklık toplamı bilinmiyorsa, çiçeklenme dönemlerini birbirine denk getirmek zor olabilmektedir. Marulda çiçeklenmeye teşvik edici bir uygulama olan GA₃ uygulamasının bu sorunu çözmekte kullanılabilmektedir [9]. Bununla birlikte ana ve baba ebeveynin çiçeklenme tarihleri uymasa dahi, baba ebeveyninden elde edilen polenlerin uzun süre saklanarak, daha ileri tarihte açacak olan ana ebeveyne ait çiçeklerin tozlanmasına olanak sağlanmasıyla aşılması büyük kolaylık ve farklı avantajlar sağlayacaktır. Çalışmamız bu hedefe yönelik olarak, marul polenlerinin muhafazası için en pratik ve uygun yöntemi belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak United Genetics Turkey Tohum Fide A.Ş.'ne ait LW16 kodlu marul ıslah hattı polen donörü olarak kullanılmıştır. LW16, batavia tip salata grubunda, yaprak rengi parlak yeşil, orta geççi sapa kalkma özelliğine sahiptir.

Metot

Marul bitkileri böcek koruma tülleriyle örtülü alçak tünellere sıra üzeri 40 cm, sıra arası 40 cm olacak şekilde 2021 yılının Şubat ayında dikilmiş ve gerekli kültürel işlemler yapılarak bitkilerin generatif döneme geçtiği çiçeklenme safhası takip edilmiştir. LW16 hattına ait polen hasadı Haziran ayı içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bitkiler %60 oranında çiçeklenme gösterdiğinde çiçeklerin en hacimli olduğu safhada ve polen veriminin en yüksek olduğu öğleden önce saat 10.00 ilâ 11.00 aralığında, vibratör yardımı ile saat camlarına sağılarak yapılmıştır. Çiçekler koparılmadan ve hasar oluşturmamaya dikkat edilmiştir.

Hasat edilen polenler laboratuvarında 2 adet 8 santimetrelik saat camlarına konulmuş, içerisinde silikajel bulunan iki farklı desikatöre yerleştirilmiştir. Desikatörlerin içerisindeki hava vakum pompalarıyla

alınmış, bir saatlik beklemenin ardından polenlerdeki nem oranı silikajel yardımıyla düşürülmüş ve dehidrasyona (su kaybı ve kurumaya) yol açmayacak şekilde, hızlıca ortamdan silikajeller uzaklaştırılarak desikatörlerin ağızları kapatılmıştır. Desikatörlerden biri +4°C sıcaklıktaki buzdolabına, diğeri ise +24°C'deki oda sıcaklığında karanlık koşullarda muhafazaya alınmıştır. Desikatörler depolama ortamına yerleştirilmeden önce içerilerindeki hava tekrar vakum pompası ile alınmıştır.

Aynı polenlerden herhangi bir işlem yapmadan, muhafaza öncesinde hasat edildiği tarihte kontrol numunesi olarak belli bir miktar polen ayrılmış ve bu polenlerde İKİ boyama yöntemiyle [4] canlılık testi ve 12 farklı ortamda çimlenme testine alınmıştır.

Çimlenme testlerinde kullanılan ortamlar Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Marul polenlerinin çimlenme gücünün belirlenmesinde kullanılan çimlendirme ortamlarının içeriği

Table 1. The content of germination media used to determine the germination power of lettuce pollen

Ortam Numarası Medium number	Besi Ortamı Medium	Sakkaroz Sucrose	Agar	Kap Tipi Container type
1	100 ppm H ₃ BO ₃ + 100 ppm Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0%	1%	6 cm petri
2	100 ppm H ₃ BO ₃ + 100 ppm Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	40%	1%	6 cm petri
3	100 ppm H ₃ BO ₃ + 100 ppm Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	45%	1%	6 cm petri
4	100 ppm H ₃ BO ₃ + 100 ppm Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0%	0%	10 ml şişe
5	100 ppm H ₃ BO ₃ + 100 ppm Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	40%	0%	10 ml şişe
6	100 ppm H ₃ BO ₃ + 100 ppm Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	45%	0%	10 ml şişe
7	-	0%	1%	6 cm petri
8	-	40%	1%	6 cm petri
9	-	45%	1%	6 cm petri
10	-	0%	0%	10 ml şişe
11	-	40%	0%	10 ml şişe
12	-	45%	0%	10 ml şişe

Hem çimlendirme ortamlarına polen serpmeye ekimi ile polen çimlenme oranları belirlenmiş hem de İKİ (iyotlu potasyum iyodür) boyama yöntemi ile polenlerdeki canlılık oranları incelenmiştir. Bu amaçla yapılan incelemeler 3 tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışma boyunca canlılık ve çimlenme testlerinin yapıldığı saklama süreleri Çizelge 2'deki gibidir.

1, 2 ve 3 numaralı ortamlar %1'lik agar ortamına 100 ppm H₃BO₃ + 100 ppm Ca(NO₃)₂.4H₂O olacak şekilde borik asit (Sigma Aldrich, CAS: 10043-35-3) ve kalsiyum nitrat tetrahidrat (Sigma Aldrich, CAS: 13477-34-4) ilave edilerek ve ortam sırasıyla %0,

%40 ve %45 oranlarında sakkaroz ilave edilerek hazırlanmıştır. 7, 8 ve 9 numaralı ortamlarsa sadece ortam sırasıyla %0, %40 ve %45 oranlarında sakkaroz ilave edilerek hazırlanmıştır. Polenler petri kaplarına fırça yardımıyla serpilmiş ve kapakları kapatılarak 24°C sabit sıcaklıktaki iklim dolabına yerleştirilmiştir. Petri kaplarında 12, 16, 20, 24, 36 ve 48 saat sonra yapılan çimlenme sayımlarının ön çalışmasında en uygun bekleme süresi 24 saat olarak belirlenmiştir ve sonraki tüm sayımlar 24 saat sonrasında gerçekleştirilmiştir. Polen çimlenme borusu polen çapı kadar uzayan polenler çimlenmiş olarak kabul edilmiştir [8].

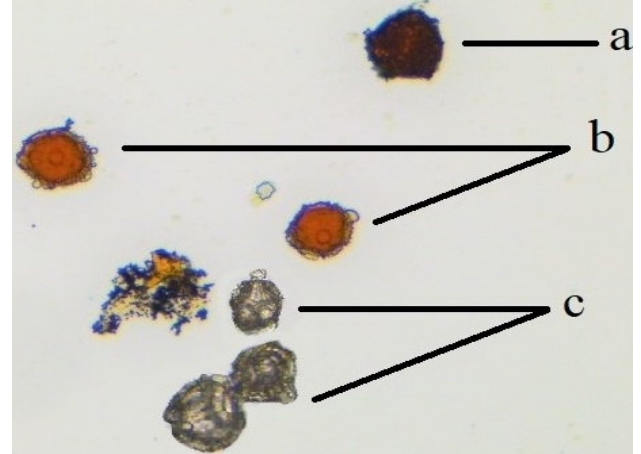
Asılı damla yönteminde solüsyon, 100 ml saf suya %20 şeker (Carlo Erba, CAS: 57-50-1) ve 10 ppm borik asit (Sigma Aldrich, CAS: 10043-35-3) ilave edilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden lamaların üzerine 1'er damla damlatılmış ve fırça yardımıyla polenler lamadaki damlaların üzerine serpiştirilmiştir. Daha sonra lamalar ters çevrilip küçük petrilerin üzerine solüsyon damlası asılı kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Ardından petriler uygun genişlikteki plastik kaplara yerleştirilmiş ve kaplar nem oranını korumak için streç filmle kaplanmış ve 24°C'deki iklimlendirme dolabına yerleştirilmiştir. Sayımlar lamalar ters çevrilip üzerlerine lamel yerleştirilerek yapılmıştır. Sayımlarda çimlenmiş polen sayısı toplam polen sayısına oranlanarak polen çimlenme gücü yüzde olarak belirlenmiştir [8].

Çizelge 2. Marul polenlerinin saklama koşul ve süreleri

Table 2. Storage conditions and times of lettuce pollen

Depolama sıcaklığı Storage temperature	Depolama kabı Storage container	Saklama süresi, gün Retention period, days
+4°C	Saat Camı	0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30
+24°C	Saat Camı	0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30

İyotlu potasyum iyodür (IKI) çözeltisi; 100 ml saf suya 1 g potasyum iyodür (Sigma-Aldrich, CAS: 7681-11-0) ve 0.5 g iyot (Sigma-Aldrich, CAS: 7553-56-2) kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden lam üzerine 1'er damla damlatılıp, damla üzerine polenler basit fırça ile serpilmiş ve 5 dakika beklemeden sonra Laica DM2500 LED marka mikroskopta 10× mercekle kullanılarak sayım yapılmıştır. Sayımda siyah ve koyu kahverengi boyanan polenler "mutlak canlı", açık kahverengi, turuncu ve kırmızı boyanan polenler "yarı canlı", sarı ve renksiz olan polenler ise "cansız" olarak kabul edilmiştir. Polenlere ait görseller Şekil 1'de verilmiştir. Sayım sırasında ayrıca morfolojik olarak anormal görünümdeki polen miktarları da sayılmıştır [5].



Şekil 1. İKI boyama testinde canlı, yarı canlı ve cansız polenler, a. Canlı polen, b. Yarı canlı polen, c. Cansız polen

Figure 1. Live, semi-live and dead pollen in IKI staining tests, a. Live pollen, b. Semi-live pollen, c. dead pollen

Tüm çalışma hem canlılık testlemeleri hem de çimlenme güçlerinin belirlenmesi çalışmaları 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Mikroskop altında belirlenen bölgelerde canlılık testlemeleri için canlı, yarı canlı, cansız; çimlenme testlemeleri için çimlenmiş, anormal ve çimlenmemiş polen sayımları yapılmıştır.

Elde edilen verilerin istatistik analizleri "IBM SPSS Statistics 22" paket programı kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Polen Canlılık Testlemeleri

Canlılık testlemesi için yapılan kontrol çalışmasında polenlerin %99'unun canlı, %0.7'sinin yarı canlı ve %0.3'ünün cansız olduğu belirlenmiştir. Saat camında 4°C'de 1 gün saklanan polenlerde İKI boyama yöntemiyle %0 oranında cansız polen, %3.77 yarı canlı polen ve %96.2 oranında canlı polen sayımı yapılmıştır. 24°C'de 1 gün saklanan polenlerdeyse canlı polen oranı %90.2, yarı canlı polen oranı %9.76, cansız polen oranıysa %0 olmuştur.

3. saklama gününde 4°C'de saklanan polenlerde İKI boyama testine göre %86.3 canlı, %11.8 yarı canlı ve %1.96 cansız polen, 24°C'de saklanan polenlerdeyse %88.9 oranlarında canlılıklarını korudukları, %9.26 yarı canlı oldukları, %1.85 oranında cansız oldukları belirlenmiştir.

Saat camında 4°C'de saklanan polenlerde 5. günde yapılan İKI boyama testinde %53.5 oranında canlı, %27.9 oranında yarı canlı, %18.6 oranında cansız, 24°C'de saklanan polenlerdeyse 5. Günde yapılan İKI

testinde %56.4 canlı, %23.1 yarı canlı, %20.5 cansız polen sayımı yapılmıştır.

7. günde ise İKI boyama testine göre 4°C’de saklanan polenlerde %60 canlı, %23.6 yarı canlı, %16.4 cansız polen sayılmıştır. Saat camında 4°C’de saklanan polenlerde 5., 7. ve 10. günler arasında canlılık oranları hemen hemen aynı kalmıştır. 10. Günde yapılan İKI boyama testinde saat camında canlılık oranı %48.4, yarı canlı oranı %22.6, cansız polen oranı %29 olarak sayılmıştır. 4°C’de saklanan polenlerde canlılık oranı 10. Günden sonra çok hızlı bir şekilde azalmıştır.

Saat camında 24°C’de 7. Günde İKI testine göre %24.1 canlı, %33.3 yarı canlı, %42.6 cansız oldukları ve bu sonuçlara göre saat camı içerisinde oda sıcaklığında bekletilen polenlerin Saat camında 24°C’de bekletilen polenlerde 10. günde yapılan İKI boyama testinde %8.82 canlı, %35.3 yarı canlı, %55.9 cansız polen gözlemi yapılmıştır. 10. günden itibaren saat camında oda sıcaklığında saklanan polenlerin canlılık oranlarının çok hızlı bir şekilde düştüğü görülmüştür.

4°C’de saklanan polenlerde 15. günde İKI boyama testiyle %9.3 canlı, %32.6 yarı canlı, %58.1 oranında cansız polen belirlenmiştir. 30. günde ise neredeyse bütün polenlerin öldüğü görülmüştür. 30. Günde İKI testine göre %0 canlı, %3.45 yarı canlı, %96.6 cansız polen sayımı yapılmıştır.

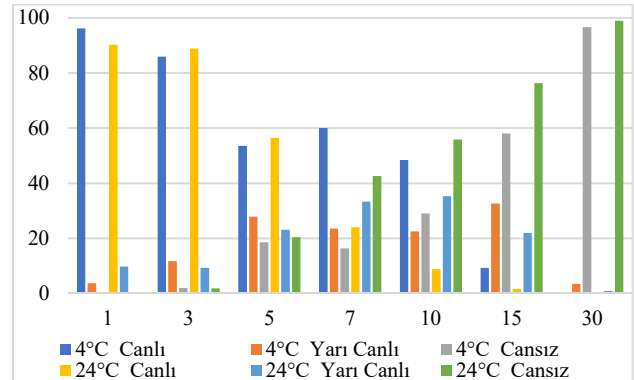
Oda sıcaklığında saat camında bekletilen örneklerde ise 15. günde polenlerin renklerini kaybettikleri, sarıdan beyaza renk dönüşlerinin olduğu görülmüştür (Şekil 2). Yapılan canlılık testlemelerinde İKI boyama ile canlılık oranı %1.69, yarı canlı oranı %22, cansız polen oranıysa %76.3 olarak tespit edilmiştir. Oda sıcaklığında saat camı içerisinde 30 gün muhafaza edilen polenlerde yapılan canlılık testlerinde ise hiç canlı polen gözlemlenmemiştir. Polenlerinde neredeyse tamamı cansız, yaklaşık %1’lik kısmıysa yarı canlı olarak görülmüştür. Polenlerin gün bazında canlı, yarı canlı ve cansız %değerleri Şekil 3’de gösterilmiştir.

Polen Çimlenme Testlemeleri

Polenlerin çimlenme gücünü belirlemek için yapılan kontrol çalışmasında (0. gün) 100 ppm H_3BO_3 + 100 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ve %45 sakkaroz içeren 6 numaralı ortamda 5.67 ± 0.58 ortalama ile en iyi çimlenme sonucu elde edilmiştir. Polenlerde en çok anormal gelişimin gözlemlendiği ortam 3.67 ± 1.15 ortalama anormal polen sayımı ile 5 numaralı ortam olmuştur. En çok çimlenmemiş polen sayımıysa 2.67 ± 0.58 ortalama polen sayımıyla yine 6 numaralı ortamda olmuştur.



Şekil 2. Oda sıcaklığında 15 günlük muhafazanın ardından polenlerde gerçekleşen renk değişimi
Figure 2. Color change in pollen after 15 days of storage at room temperature



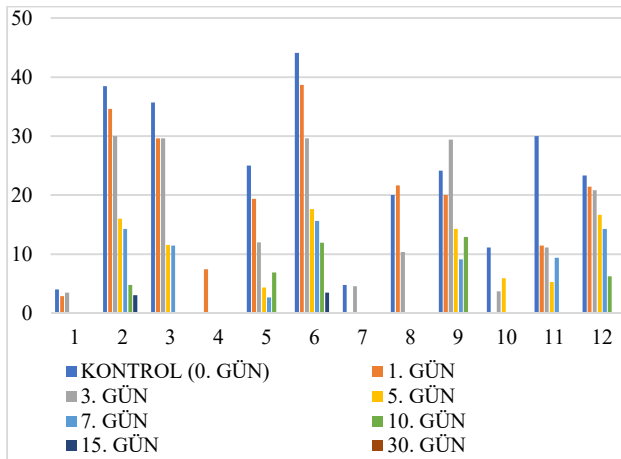
Şekil 3. Polenlerin gün bazında %canlılık oranları
Figure 3. Viability rates (%) of pollens on a day-by-day basis

4°C’de 1 günlük muhafazanın ardından saat camından alınan polenlerde de 4.00 ± 1.00 çimlenme ortalamasıyla en başarılı ortam 6 numaralı çimlendirme ortamı olmuştur. 7 ve 10 numaralı ortamlarda hiç çimlenme gerçekleşmemiştir. En yüksek anormal polen gelişimi ortalaması 2.00 ± 1.00 olarak 11 numaralı ortamda sayılmıştır. Yine en çok çimlenmeyen polen ise 8.33 ± 1.15 ortalama ile 11 numaralı ortamda olmuştur.

Saat camında 4°C’de 3 günlük muhafazanın ardından yapılan sayımlarda en yüksek çimlenme ortalaması görülen ortam 2.67 ± 0.58 ortalama ile 3 numaralı ortam olmuştur. En çok anormal polen gelişimlerinin gözlemlendiği ortamlar ise 2.67 ± 0.58 ile 6 ve 8 numaralı ortamlar olmuştur. En çok çimlenmemiş polen sayılı 8.33 ± 0.58 ortalama ile 10 numaralı ortamda yapılmıştır.

Saat camında 4°C’de 5 günlük muhafazanın ardından en yüksek çimlenme ortalaması 6 numaralı ortamda 2.00 ± 1.00 olmuştur. Saat camında 3.33 ± 0.58 ortalama ile en çok anormal polen gelişimi yine 6 numaralı ortamda olmuştur. En çok çimlenmemiş polen ise 5.67 ± 0.58 ortalama ile 9 numaralı ortamda sayılmıştır.

4°C’de 7. günden itibaren saat camında bekletilen polenlerde ortalama çimlenme en yüksek 1.67 ± 0.58 olarak 6 numaralı ortamda belirlenmiş, çimlenme gücünün 7. günde ciddi oranda azaldığı gözlemlenmiştir. En yüksek anormal polen gelişimi de yine 6 numaralı ortamda 4.33 ± 0.58 olarak sayılmıştır. En çok çimlenmemiş polen sayımı 1 numaralı ortamda 9.00 ± 2.00 olmuştur. Polenlerin yoğun olarak sakkaroz içermeyen ortamlarda hiçbir faaliyet göstermemesi yine polen çimlenmesi için şeker ihtiyacını göstermektedir. Saat camındaki polenlerde çimlenmiş polen ortalamaları için 6 numaralı ortamda 10. günde de 7. günle aynı sonuçlar elde edilmiş diğer çimlenme ortamlarındaki çimlenmeler 10. günde 7. güne göre çok daha az olmuştur. 10. günde 1, 3, 4, 7, 8, 10 ve 11 numaralı ortamların hiçbirinde çimlenme olmamıştır. En yüksek anormal polen gelişimi ise 8 numaralı ortamda 6.00 ± 1.00 olmuştur. 10. günde en çok çimlenmemiş polen ise 3 numaralı ortamda 7.00 ± 1.73 olmuştur.



Şekil 4. 4°C’de muhafaza edilen polenlerin çimlenme gücü grafiği

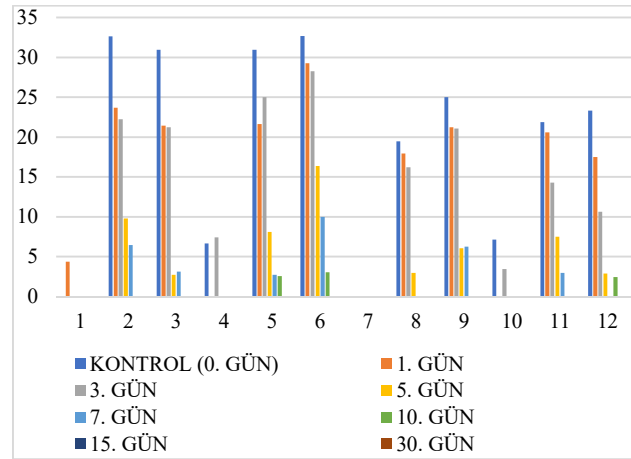
Figure 4. Graph of germination power of pollen stored at 4°C

Saat camında 4°C’de muhafaza edilen polenlerde ise 15. günden itibaren neredeyse hiçbir çimlenmenin olmadığı, polenlerin tamamının canlılıklarını yitirdiği gözlemlenmiştir. En yüksek anormal polen gelişimi ortalaması 6 numaralı ortamda 5.67 ± 1.53 olmuştur.

Saat camında oda sıcaklığında 1 günlük muhafazanın ardından en yüksek çimlenme

ortalaması 6 numaralı ortamda 4.00 ± 1.00 olarak gözlemlenmiştir. Anormal polen gelişiminin en çok olduğu ortamsa 4.00 ± 1.00 ortalama anormal polen ile 2 numaralı ortam olmuştur. Herhangi bir değişimin gözlemlenmediği çimlenmemiş polen ortalaması en yüksek 1 numaralı ortamda 11.67 ± 2.52 olmuştur.

Saat camında bekletilen polenlerdeyse 3 günlük saklamanın ardından ortalama 4.33 ± 0.58 çimlenme ortalamaları gözlemlenmiştir. 3. günde 1. günden daha fazla çimlenme ortalaması gözlemlenmesi polenlerin bir süre muhafaza edildikten sonra çimlenme güçlerinde kısmi bir artış olabileceğini bir kez daha göstermiştir. 3. günde en fazla anormal polen gelişimi 8 numaralı ortamda ortalama 4.33 ± 1.53 olmuştur.



Şekil 5. 24°C’de farklı sürelerde saat camında bekletilen polenlerin çimlenme gücü

Figure 5. Germination power of pollen kept in a watch glass for different times at 24°C

Saat camında 24°C’de bekletilen polenlerdeyse 5, 7 ve 10 günlük muhafazaların ardından en yüksek çimlenme oranları 5. günde 3.00 ± 1.00 olarak 6 numaralı ortamda, 7. günde 1.33 ± 1.15 yine 6 numaralı ortamda, 10. günde 0.33 ± 0.58 5, 6 ve 12 numaralı ortamlarda olmuştur. Saat camında bekletilen polenler çimlenme güçlerini 5. günden itibaren hızla yitirmişlerdir. 10. günden itibaren saat camında bekletilen polenler çimlenme gücünü neredeyse tamamen yitirmişlerdir. 24°C ve 4°C’de bekletilen polenlerin aynı saklama sürelerinde farklı sonuçlar vermesi düşük sıcaklıkta muhafazanın daha başarılı olduğunu göstermektedir. Saat camında bekletilen polenlerdeyse 10., 15. ve 30. günlerde polenlerin tamamı çimlenme güçlerini yitirmiştir. 4°C’de muhafaza edilen polen çimlenme güçlerini gösteren grafik Şekil 4’te, 24°C’de muhafaza edilen polenlerin çimlenme güçlerini gösteren grafik Şekil 5’te verilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmamızda, polen muhafazası ve polen canlılığının belirlenmesi amacıyla pek çok türde yürütülen çalışmaların ışığında uygun protokolleri belirlenmesi amacı hedeflenmiştir. Bu amaçla marul poleni oda ve buzdolabı koşullarında saat camında farklı sürelerde muhafaza edilmiş, sonucunda da en uygun koşul ve sürenin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Marul poleni hasadı için en uygun zaman aralığı hava şartlarına bağlı olarak sabah saat 09.00 ile 11.00 arası olarak belirlenmiştir. Ancak kapalı hava koşullarında yeterli ışık ve sıcaklık olmadığında çiçeklerin polen hasadı için uygun pozisyona geçmeleri gecikebilmektedir. Polen hasadı yapılacak olan çiçek koparılmamalı bitki üzerindeyken vibratör yardımıyla sağlanmalıdır. Aksi taktirde çiçekler kapanmakta ve polen verimi düşmektedir. Eenink [2]'in, 1983'te yaptığı çalışma ile marul poleninin hasat edildiği saatteki sıcaklığın, polen çimlenme gücü üzerinde doğrudan etkili olduğunu belirlemiştir. Öğle saatlerinden önce hava sıcaklığının 17°C civarında olduğu saatlerde hasat edilen polenlerin öğleden sonra 26°C sıcaklık civarlarında hasat edilen polenlere göre daha yüksek oranda çimlendiğini tespit etmiştir. Ayrıca muhafaza edilen polenlerin çimlenme yeteneğinin korunması nem, sıcaklık ve hava basıncı gibi saklama koşullarına bağlıdır [10].

Polenlerin çimlendirilmesi için hazırlanan ortamlar arasında istatistiki olarak önemli farkların bulunduğu anlaşılmıştır. Sonuçlar neticesinde çimlenme ortamlarının sakkaroz içeriğinin büyük önem taşıdığı anlaşılmış, sakkaroz içermeyen ortamlarda herhangi bir çimlenme gözlemlenmemiştir. Ayrıca çimlendirme ortamının borik asit (H_3BO_3) + 100 ppm ve kalsiyum nitrat tetrahidrat ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) ihtiva etmesi de polenlerin çimlenme gücünün desteklenmesi için önem taşımaktadır. Zira 100 ppm H_3BO_3 + 100 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ içeren ortamların herhangi bir besi maddesi içermeyen ortamlara göre %51 daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir. Bu çimlenme testi verilerine göre çimlendirme ortamında sakkaroz ihtiva etmeyen 1, 4, 7 ve 10 numaralı ortamlarda polenler ya hiç çimlenmemiş ya da anormal gelişimler meydana gelmiştir. Bu sonuç, Eenink [2]'in 1983'te yaptığı çalışmada çimlendirme ortamında şeker tipi fark etmeksizin (sakkaroz, glikoz, maltoz vd.) ortamda şeker bulunması gerektiğini, aksi taktirde çimlenmenin gerçekleşmediğini ya da polenlerin çok zayıf kaldıklarını doğrulamıştır.

Çimlenme testlerinin kontrollü ve sayım çalışmaları için polen ekimlerinden sonraki 24 saat en uygun süre olarak belirlenmiştir. Daha uzun sürelerde yapılan sayımlarda polenler veya polen tüpleri

gözükmeyecek şekilde deforme olmaktadır. Daha erken yapılan sayımlarda da çimlenmeler tamamlanmamış olabilmektedir [8].

Saklama ortamı sıcaklığının canlılık ve çimlenme testi sonuçlarına göre istatistiki farklar göstermesi ve ortalama canlılık ve çimlenme değerlerinin 4°C'de daha uzun süre yüksek sonuçlar vermesi nedeniyle muhafaza sıcaklığının oda sıcaklığından daha düşük olmasının polen ömrünü olumlu etkileyeceği anlaşılmıştır. Bu sonuçlar Erbaş vd. [3], 2015'te gül polenleriyle yaptıkları çalışmaya benzer olarak düşük sıcaklıklardaki polen muhafazasının daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Saat camınsa 24°C'de bekletilen polenlerde 7. günden sonra canlılıklarını büyük oranda yitirdikleri gözlemlenmiştir. Erbaş vd. [3], 2015'te gül polenleriyle yaptıkları çalışmaya benzer olarak düşük sıcaklıklardaki polen muhafazasının daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Saat camı içerisinde 4°C'de bekletilen polenlerin 10. güne kadar %48 oranında canlı kaldıkları gözlemlenmiştir. Ancak çimlenme güçlerini 10. günden itibaren neredeyse yitirmişlerdir. Canlılık oranlarıyla çimlenme gücü ortalamaları arasında görülen bu fark, Aşkın vd. [1], 2018'de biber polenlerinde yaptıkları canlılık ve çimlenme gücü testlemelerinde gözlemledikleri %87.44 polen canlılığına karşılık %14.05 çimlenme oranı arasındaki farka benzer bir sonuç vermiştir.

SONUÇ

Marul ve salatalar, dünya genelinde en çok tüketilen sebze türlerinden biridir. Hemen hemen her coğrafyada salata ve marul üretimi ve tüketimi mevcuttur. Ülkemizde ve dünyada marul üretimi yıldan yıla yükseliş göstermektedir. Özellikle vejetasyon süresinin kısa oluşu, üretim maliyetlerinin düşük ve tüketiminin yoğun olması nedeniyle üreticiler için de cazip bir ürün halini almaktadır. İslah ve tohum üretimi yapan şirketler bu nedenle marul ıslahı çalışmalarına önem vermektedir. Bu amaçla ıslah ile ilgili çalışmalar yapan araştırmacılar pazarda talep edilen morfolojik özellikleri farklı, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine dayanıklı, yüksek verimli yeni çeşitlerin geliştirilmesi üzerine çalışmalarını yoğunlaştırmaktadırlar. İslah çalışmalarında pratik ve etkin çözüm arayışı sürekli devam etmektedir. Klasik marul ıslahındaki melezlemelerde kullanılan polenlerin toplanarak muhafazası işgücünde önemli tasarruf sağlayacağından özellikle ıslah çalışmaları ve ıslahçılar için avantaj sağlayabilmektedir.

Sonuç olarak; marul polenlerinin saat camları içinde desikatörlere yerleştirilerek vakum yapılan koşullarda hem 4°C'de hem de oda sıcaklığında

(24°C’de) canlılıklarını ilk üç gün %80’lerin üzerinde koruduğu, 4°C’deki buzdolabında 5. güne kadar %53.5 oranında canlılık ve %33.33 oranında çimlenme gücü gösterebildikleri belirlenmiştir.

KAYNAKÇA

1. Aşkın, M.A., İlhan, G., Aktaş, H. 2018. Kumluca bölgesinde biyolojik ve kimyasal mücadele yapılan üç farklı biber çeşidinin çiçek tozlarında biyolojik ve morfolojik incelemeler. Ziraat Fakültesi Dergisi, 13(1):52-59.
2. Eenink, A.H. 1983. Preliminary results of research on storage and in vitro germination of lettuce pollen as an aid in lettuce breeding. Euphytica, 32(2):521-526.
3. Erbaş, S., Alagöz, M., Baydar, H. 2015. Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)’nün çiçek morfolojisi ve polen canlılığı üzerine bir araştırma. Ziraat Fakültesi Dergisi 10(2):40-50.
4. Ercişli, S. 2007. Determination of pollen viability and in vitro pollen germination of *Rosa dumalis* and *Rosa villosa*. Bangladesh Journal of Botany 36(2):185-187.
5. Eti, S., 1990. Çiçek tozu miktarını belirlemede kullanılan pratik bir yöntem. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 5(4):49-58.
6. Hartman, Y., Hoofman, D.A., Uwimana, B., Schranz, M.E., Van de Wiel, C.C., Smulders, M.J., Van Tienderen, P.H. 2014. Abiotic stress QTL in lettuce crop-wild hybrids: comparing greenhouse and field experiments. Ecology and Evolution 4(12):2395-2409.
7. Hassan, M.N., Mekawy, S. A., Mahdy, M., Salem, K.F., Tawfik, E. 2021. Recent molecular and breeding strategies in lettuce (*Lactuca* spp.). Genetic Resources and Crop Evolution 68(8):3055-3079.
8. Macovei, A., Caser, M., Mattia, D.O.N.À., Valassi, A., Giovannini, A., Carbonera, D., Balestrazzi, A. 2016. Prolonged cold storage affects pollen viability and germination along with hydrogen peroxide and nitric oxide content in *Rosa hybrida*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 44(1):6-10.
9. Miceli, A., Moncada, A., Sabatino, L., Vetrano, F. 2019. Effect of gibberellic acid on growth, yield, and quality of leaf lettuce and rocket grown in a floating system. Agronomy 9(7):382.
10. Snope, A.J., Ellison, J.H. 1963. Storage of asparagus pollen under various conditions of temperature, humidity and pressure. J. Am. Soc. Hort. Sci. 83:447-452.
11. Wageningen, PGR Portal, 2022. <https://research.wur.nl/en/publications/pgr-lettuce-lettuce-crop-portal>.