



## Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi (International Journal of Agriculture and Wildlife Science)

<http://dergipark.org.tr/ijaws>



Araştırma Makalesi

### Ağır Metallerin Red Chief ve Granny Smith Elma Çeşitlerinde Polen Çimlenmesi ve Polen Tüpü Büyümesi Üzerine Etkileri

Ferhad Muradoğlu<sup>1\*</sup>, Zafer Sulum<sup>2</sup>, İbrahim Başak<sup>3</sup>, Gökhan Akkuş<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bolu İpekyolu Belediyesi, Van

<sup>3</sup>Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu, Van İl Müdürlüğü, Van

<sup>4</sup>GAP Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Şanlıurfa

Geliş tarihi (Received): 25.02.2019

Kabul tarihi (Accepted): 11.04.2019

#### Anahtar kelimeler:

Elma, ağır metal, polen canlılığı, polen tüp uzunluğu

**Özet.** Bitkilerde, tozlaşma ve dölleme, çevresel faktörlerden etkilenen önemli bir olaydır. Polen çimlenmesi ve polen tüpü büyümesi boyunca bitkilerin hassasiyeti artmakta ve çevresel kirliliğe karşı bitkilerin generatif organları vejetatif kısımlarından daha duyarlıdır. Bu nedenle de metal toksisitesi ve gübreleme gibi uygun olmayan koşullardaki tozlaşma ve dolayısıyla meyve tutumu olumsuz etkilenmektedir. Bu çalışmada, farklı ağır metal dozlarının (Cd, Co, Pb, Hg ve Zn) Red Chief ve Granny Smith elma çeşitlerindeki polen çimlenmesi ve tüp büyümesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çeşitlerin polen canlılığı oranları TTC (2-3-5-trifeniltetrazoliumklorid) canlılık testi ile belirlenmiş ve ortalama canlılık oranları Red Chief çeşidinde % 84.4 Granny Smith çeşidinde ise %75.4 olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, çeşitler hem ağır metaller hem de doz uygulamasından önemli ölçüde etkilenmiştir. Çeşitlerin polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu metal dozunun artışına bağlı olarak düşüş göstermiştir. Elma çeşitlerinde polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu üzerine en yüksek engelleyici etkiyi civa (Hg) düşük etkiyi ise kobalt (Co) göstermiştir.

#### \*Sorumlu yazar

muradogluf@ibu.edu.tr

### The Effect of Heavy Metal Toxicity on Pollen Viability and Pollen Tube Growth in Red Chief and Granny Smith Apple Cultivars

#### Keywords:

Apple, heavy metal, pollen viability, pollen tube length

**Abstract.** In plant, pollination is a key event for fruit set and affected by environmental factors. During pollen germination and pollen tube growth, the plant is sensitive and against the environmental pollution of the generative organs of the plant is more sensitive than vegetative parts due to the toxicity and fertilization of plant in inappropriate conditions such as pollination and fruit attitude is adversely affected. In this study, the influence of different concentration of the heavy metal (Cd, Co, Pb, Hg and Zn) on pollen germination and tube growth of two apple cultivars (Red Chief and Granny Smith) was investigated. In cultivars, pollen viability rates were determined by TTC (2-3-5-trifeniltetrazoliumklorid) and they were average 84.4% in Red Chief and 75.4% in Granny Smith. In additionally, cultivars were significantly affected by both heavy metal and levels of them. Pollen germination and tube length of cultivars were decrease with increase in metal concentrations. Cobalt (Co) showed lowest inhibitory effect on pollen germination and tube length in apple varieties while Mercury (Hg) had the highest effect.

## GİRİŞ

Çevresel kirlilik, dünya çapında ciddi bir sorundur ve son yirmi yılda teknolojinin gelişmesine paralel olarak artış göstermiştir. Çevresel kirlenmeler arasında ağır metaller; insan sağlığı, toprak, su ve ekosistem üzerinde olumsuz etkilerinden dolayı ciddi bir yer tutmaktadır (Durube, 2007). Ağır metaller bitkilerde birçok enzim ve diğer proteinlerin ayrılmaz bir parçası olan bir metalik element grubunu temsil etmesine rağmen, yüksek konsantrasyonları toksisite semptomlarına yol açarak büyüme ve gelişme süreçlerini olumsuz etkilemektedir (Darrah ve Staunton, 2000; Shaul, 2002; Kramer ve ark., 2007). Metal kirlenmelerin etkisi, sanayileşmenin hızla artması, kentleşme ve ekosistemdeki değişiklikler doğal ve insan aktiviteleri ile son yıllarda yüksek oranda artış göstermiştir. Ağır metallerin kaynağı olarak inorganik metalik atıkların imha edilmesi bazı proses döküntüleri, madencilik, eritme, elektro kaplama, enerji iletimi ve yakıt üretimi gösterilebilir. Ayrıca tarım topraklarına ağır metallerle kirlenmiş arıtma çamuru uygulamaları bu metallerin biyosferde harekete geçirilmesi nedeniyle toprak, su ve hava yoluyla dolaşımını büyük ölçüde arttırmıştır (Ghosh ve Singh, 2005; Kavamura ve Esposito, 2010; Yabe ve ark., 2010; Chatterjee ve ark., 2013).

Ağır metaller, endüstrinin ve agro-teknolojinin gelişmekte olan alanlarında artan kullanımı, yüksek biyolojik birikim ve toksisiteden dolayı canlı organizmalar ve bitkilerde ürün kalitesi ve verim düşüklüğüne yol açan başlıca abiyotik streslerden biri olarak kabul edilmektedir. Ağır metal fitotoksitesini enzimleri etkisiz hale getirerek, metabolik olarak önemli moleküllerin fonksiyonel gruplarını bloke etmekte, temel elementleri yer değiştirme veya ikame ederek ve membran bütünlüğünü bozarak, hücresel/moleküler düzeyde meydana gelen çok sayıda fizyolojik sürecin değişimlerine neden olmakta (Sergio ve ark., 2000; Rakhshaeve ve ark., 2009; Douchiche ve ark., 2010) ve sıklıkla ilerleyen yaşlanma süreçleriyle ilgili olarak fotosentez aktivitesinin azalmasına, toprak üstü ve toprak altı kısımların büyüme süreçlerinin güçlü ve hızlı bir şekilde engellenmesine etki etmektedir (Krupa ve ark., 1993; Alaoui-Sosse ve ark., 2004; Lin ve ark., 2005).

Ağır metal birikimi insanlarda olduğu kadar bitkilerde de ciddi bozukluklara neden olabilmekte çeşitli morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve temel protoplazmik yapısal değişikliklere neden olmakta (Basharat ve ark., 2015; Gill ve ark., 2015), fotosentez, mineral beslenme ve su ilişkisi dahil olmak üzere temel fizyolojik süreçlerin engellenmesi (Li ve ark., 2013; Shafaqat ve ark., 2013; Muradoğlu ve ark., 2016) ve genellikle köklerde kısalma, kalınlaşma veya kötü gelişme üzerine etki etmektedir (Casella ve ark., 1988).

Polenler, kapalı tohumlu türlerin üremeleri için gerekli olan erkek gamet veya sperm hücresi üreten bitkinin üreme organında bulunan tohumlu bitkilerin olgunlaşmamış endosporik erkek gametofitleridir (Simpson, 2006; Mildenhall, 2006). Polenin canlılığı bitkilerin üremesi için son derece önemlidir, bu nedenle üreme başarısı büyük ölçüde popülasyonlar arasında ve popülasyonlar arasındaki polen dağılımı ile etkili tozlaşmaya bağlıdır (Wronska-Pilarek ve ark., 2010; Batos ve ark., 2013; Soares ve ark., 2013; Mourelle, 2016).

Polen canlılığı; genetik bir ıslah programında, yapay hibridizasyon için önemli bir faktördür (Soares ve ark., 2008). Ayrıca polen çimlenmesi ve polen tüpünün büyümesi morfolojik, fizyolojik, biyoteknolojik, ekolojik, biyokimyasal ve moleküler genetik çalışmalar için önemli materyallerdir (Dane ve ark., 2004). Bu nedenle, polen canlılığının belirlenmesi meyve ıslahında çok önemlidir. Polen canlılığı, polen kalitesi yanında; ağır metal etkisi (Muradoğlu ve ark., 2017), polen kaynağı ve ortamdaki sıcaklık (Jackson, 2003; Petropoulou ve Alston, 1998), dölleyici seçimi, anter sayısı ve polen miktarı (Albuquerque Jr. Ve ark., 2010), minimum besin ve farklı bitki büyüme düzenleyicileri gibi birçok faktörlerden etkilenmektedir (Qiu ve ark., 2005).

Polenlerin hava kirlenmelerine karşı bitkinin vejetatif kısımlarından daha fazla duyarlı oldukları ayrıca tozlaşma için havada dolaşan ve tozlaşma sırasındaki polenlerin hava kirlenmelerine daha fazla maruz kaldıkları düşünülmektedir. Bu nedenle polenlerin canlılığı havada bulunan ağır metal toksisitesinden olumsuz etkilenerek canlılıklarının bozulmasına ve çimlenme yeteneğini kaybetmesine neden olmaktadır. Ağır metallerin bitkilerin vejetatif gelişmeleri üzerine olan olumsuz etkileri bilinmekle birlikte bu çevresel kirlenmelerin bitkilerin üreme süreçleri üzerine olan fiziksel ve biyokimyasal etkileri hakkında bilgiler oldukça yetersizdir. Bu çalışma ile Red Chief ve Granny Smith elma çeşitlerinde polenlerin çimlenme ve tüp uzunluğunun ağır metal stresine karşı gösterdikleri tepki araştırılmıştır.

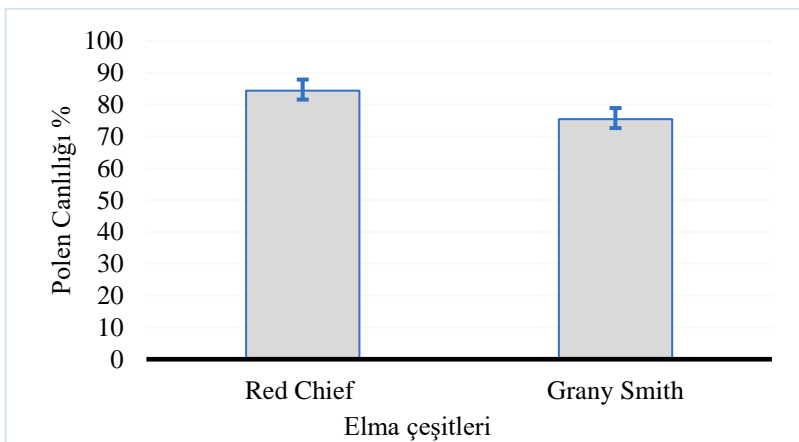
## MATERYAL VE METOT

Çalışma, 1675 m rakımlı Van ilinde standart yetiştirme şartlarına sahip üretici bahçesindeki M9 anacı üzerine aşıllı sekiz yaşındaki Red Chief ve Granny Smith elma çeşitleri üzerinde yürütülmüştür. Araştırmadaki ağır metal uygulamaları, polen çimlenme oranları ve polen tüpü uzunluk ölçümleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü laboratuvarlarında yapılmıştır. Araştırma kapsamında elma çeşitlerine ait açmak üzere olan

iek tomurcukları toplanarak laboratuvara getirilmiştir. iek tomurcuklarının petalleri açılmadan önce oda sıcaklığında 24 saat muhafaza edilmiş ve çeşitlerin iek tozu canlılık oranları Eti (1991,) tarafından belirlenen TTC (2-3-5-trifeniltetrazoliumklorid) canlılık testi ile tespit edilmiştir. iek tozu çimlenme kùltür ortamı Brewbaker ve Kwack (1963) ve Munzurođlu ve Gür (2000) göre yapılmıştır. iek tozlarının çimlenme oranları ve polen tüp uzunluğunun belirlenmesinde 3 lam ve kùltür ortamı ile ağır metal özelteleri birlikte kullanılmıştır. Ağır metal çözeltisi olarak Cd ( $CdSO_4 \cdot 8 H_2O$ ), Co ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ) ve Pb ( $Pb(NO_3)_2$  için 50, 100, 250, 300, 400 ve 500  $\mu M$  kullanılırken Hg ( $HgCl_2$ ) ve Zn ( $ZnCl_2$ ) için 25, 50, 75, 100, 125 ve 150  $\mu M$  kullanılmıştır. İlk olarak 50  $\mu L$  kùltür ortamı lam üzerine damlatılmış daha sonra 50  $\mu L$  ağır metal çözeltisi damlatılmıştır. Kontrol grubunda ağır metal çözeltisi yerine saf su kullanılmıştır. iek tozları ışık mikroskopu altında bir iđne yardımıyla lam üzerinde bulunan kùltür ve ağır metal ortamına saçılmıştır. Daha sonra bu lamlar nemli cam çubuklar üzerinde petri kaplarında karanlık ortamda  $22 \pm 2$  °C'de 3 saat tutulmuştur. Bu süre sonunda lam üzerine birkaç damla 10% ethanol damlatılarak lamel kapatılmıştır. Polen imlenme yüzdesi ve polen tüp uzunlukları ışık mikroskopu altında oculer micrometre kullanılarak gerekli ölçümler yapılmıştır (Shivanna ve Rangaswamy, 1992). Çalışma, tam şansa bağlı tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmıştır. Polen canlılığı, çimlenmesi ve tüp uzunluğu ölçümleri üç tekrarlı olarak yapılmış ve verilerin istatistiksel analizlerinde SPSS (22.0) paket programı kullanılmıştır.

## BULGULAR VE TARTIşMA

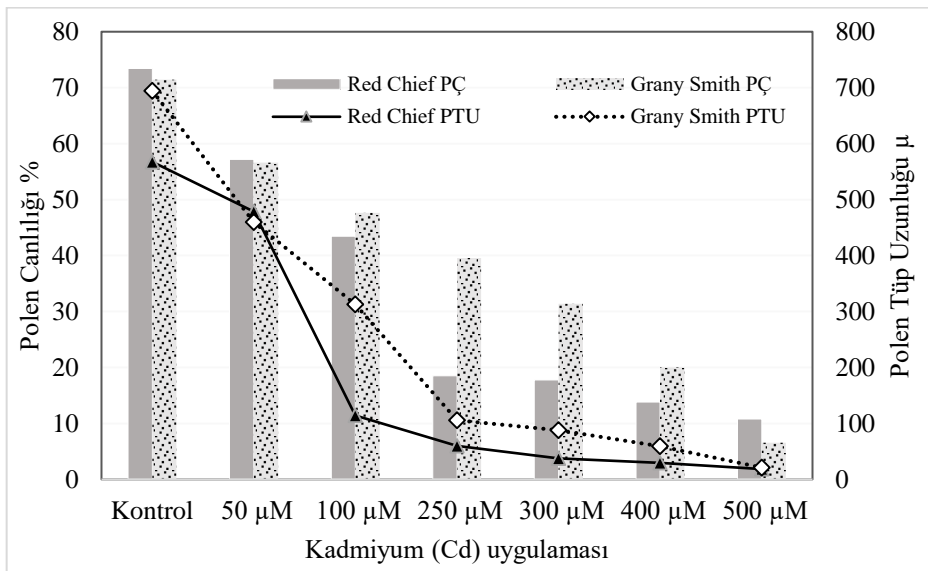
iekli bitkilerde polen, bitkilerin generatif olarak generasyonun devamı yanında meyve ağaçlarında düzenli verim ve meyve kalitesi üzerine önemli etki etmektedir. Elma eşitlerinin büyük çoğunluğu kendiyile uyuşur olmasına karşın verimli meyve tutumu için yabancı tozlanmaya ihtiyaç duymaktadır. Tozlanma esnasındaki asit yağmuru, sıcaklık, ağır metaller, yağış ve şiddetli rüzgâr gibi olumsuz evre faktörleri polen canlılığı üzerine olumsuz etki etmektedir. Araştırmada, Red Chief ve Granny Smith elma çeşitlerine ait polenlerin canlılık oranları TTC (2,5-diphenyl tetrazolium bromide) testi kullanılarak belirlenmiştir. TTC testi sonucunda Red Chief (%84.4) eşidinin polen canlılık yüzdesinin Granny Smith çeşidinden (%74.4) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (şekil 1). Elma polenlerinin canlılıkları üzerine yürütölen çalışmalarda araştırmacılar, Mantet, Summerred ve Golden Delicious gibi diploid elma çeşitlerinde pollen çimlenmesinin %50 den yüksek olduğu (Visser ve Verhaeg, 1980) ayrıca diploid elma çeşitlerinin ise %98-99 oranında yüksek çimlenme oranına sahip olduğunu bildirmişlerdir (Florin, 1972). Elma eşitlerinde TTC testi kullanılarak polen canlılık durumlarının belirlenmesi üzerine yapılan çalışmada polen canlılık yüzdelерinin %81.32 (Braeburn)- %70.67 (Fuji) arasında değiştiği belirlenmiştir (Muradoğlu ve ark., 2017). On elma çeşidi üzerine yürütölen bir çalışmada çeşitlerin polen canlılık durumlarının %52.55 (Jonagold) ile %89.92 (Pinova) arasında değiştiği belirtilmiştir (Petrisor ve ark., 2012). Bazı meyve türleri üzerine yürütölen benzer çalışmalarda, TTC testinde nar çeşitlerinde polen canlılıklarının %75.24 (Hicaz erkek çiçekte) ve %68.61 (33N26 ift eşeyli çiçeklerde) arasında değiştiği belirtilmiştir (Derin ve Eti, 2001). Polen çimlenmesinde canlılık testinde IKI (iodine+potasium iodide) testi kullanılarak 7 ayva çeşidinde yürütölen bir çalışmada çeşitlerin iek tozu çimlenme oranlarının %90.8-98.1 arasında değiştiği belirlenmiştir (Dalkılıç ve Mestva, 2011).



**şekil 1.** Elma eşitlerinin polen canlılık seviyeleri (Tetrazolium testi)

Figure 1. Pollen viability level of tested (TTC) apple cultivars

Polen çimlenmesi ve polen tüpünün büyümesi bitkilerin üremesinde kilit olaylardandır Başarılı bir dölleme için yüksek polen çimlenme oranı ve hızlı tüp büyümesine ihtiyaç duyulmaktadır. Düşük oranlardaki polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu ise düşük meyve oluşumuna neden olabilmektedir (Wu ve ark., 2008; Sharafi, 2011). Bu çalışmada Red Chief ve Granny Smith elma çeşitlerinin polenleri farklı dozlardaki ağır metal dozlarına maruz bırakılarak polenlerin çimlenme ve tüp uzunluklarının ağır metal dozlarına olan tepkileri belirlenmiştir. Ağır metal ve doz artışına paralel polen çimlenmesi ve tüp uzunluğunda önemli düşüşler belirlenmiştir. Kontrol uygulamalarında polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu Red Chief çeşidinde %73.45 ve 567.49  $\mu$  belirlenirken, Granny Smith çeşidinde %71.44 ve 694.54  $\mu$  olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Çalışmada bulunan sonuçlar elma çeşitlerinin polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu üzerine yürütülen önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Nitekim yedi elma çeşidinde polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu üzerine yürütülen çalışmada en yüksek polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu oranı %47.76 (Mahali Sheikh) ve 153.62  $\mu$ m (Sib Gol) en düşük ise %18.86 (Glob elsfahan) ve 99.65  $\mu$ m (Golab e Isfahan) aralığında tespit edilmiştir (Moshtagh ve ark., 2015). Elma çeşitlerinde yürütülen benzer çalışmalarda polen çimlenme oranları ve tüp uzunlukları %52.55-89.92 ve 99.65-153.62  $\mu$ m (Petrisor ve ark, 2012); %64.20-73.23 ve 327.39-524.93  $\mu$  (Muradoğlu ve ark., 2017), %92.3-96.5 ve 593.4-642.3 $\mu$  (Munzuroğlu ve Gür, 2000) ve Sharafi, (2011), tarafından ise polen çimlenmesi %47.2-96.0 polen tüp uzunluğu ise 181.3-721.2  $\mu$ m arasında belirlenmiştir. On bir badem genotipinde yapılan bir çalışmada ise polen çimlenme oranlarının %60.36-79.83 arasında değiştii ve bu genotiplerin çim borusu uzunluğunun ise 161.53-199.56  $\mu$ m arasında olduğu bildirilmiştir (Güçlü ve ark., 2011). Kadmiyum uygulamasının polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu üzerine önemli derecede olumsuz etkisinin olduğu ve kadmiyum dozun artışına paralel olarak polen çimlenmesi ve tüp uzunluğunda önemli düşüşler belirlenmiştir. Red Chief çeşidinde kadmiyumun 250  $\mu$ M uygulamasının kontrolle kıyaslandığında polen çimlenmesinde %74.80 polen tüp uzunluğunda ise %89.42 oranında düşüş belirlenirken kadmiyumun 500  $\mu$ m uygulamasında bu düşüş oranı %85.28 ve %96.75 olarak belirlenmiştir. Granny Smith çeşidinde ise 250  $\mu$ M kadmiyum uygulamasında polen çimlenmesi %44.61 polen tüp uzunluğunda ise %84.80 oranında düşüş belirlenmiştir. Kadmiyum 500  $\mu$ M uygulamasında ise bu oran %90.85 ile %96.96 olarak belirlenmiştir. Yüksek dozdaki kadmiyum uygulamasında polen çimlenme oranı bakımında Granny Smith çeşidi Red Chief çeşidine göre daha hassas olduğu, polen tüp uzunluğu bakımından ise Red Chief çeşidi daha hassas olarak belirlenmiştir (Şekil 2).

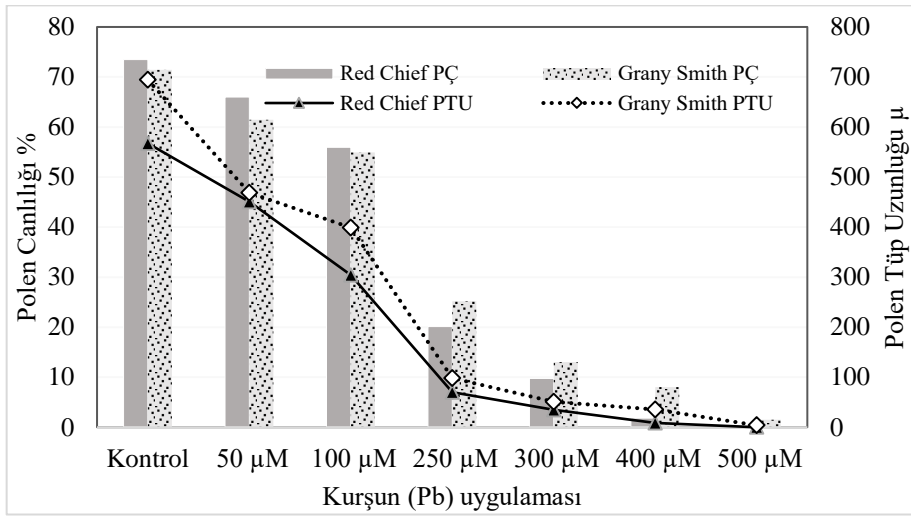


**Şekil 2.** Kadmiyum uygulamalarının polen çimlenmesi ve polen tüp uzunluğu üzerine etkileri.

Figure 2. The effect of Cadmium (Cd) treatment on pollen germination rates and tube length in apple cultivars.

Farklı kurşun dozlarının polen çimlenmesi ve polen tüp uzunluğu üzerine etkileri Şekil 3'de gösterilmiştir. Red Chief ve Granny Smith çeşitlerinde polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu doz artışına bağlı olarak düzenli bir düşüş göstermiştir. Red Chief çeşidinde polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu %73.45 ve 567,49  $\mu$  belirlenirken (Kontrol) bu oran 50  $\mu$ m kurşun dozunda sırasıyla %10.1 (%65.97) ve %14.0 (468.1  $\mu$ m) düşüş göstermiştir. Fakat yüksek kurşun 400-500  $\mu$ m uygulamasında polen çimlenmesinde %97.5-100.0 oranında düşüş belirlenmiştir. Polen tüp uzunluğunda ise düşüş %94.85-99.45 olarak belirlenmiştir. Granny Smith çeşidinde ise 400-500  $\mu$ m kurşun

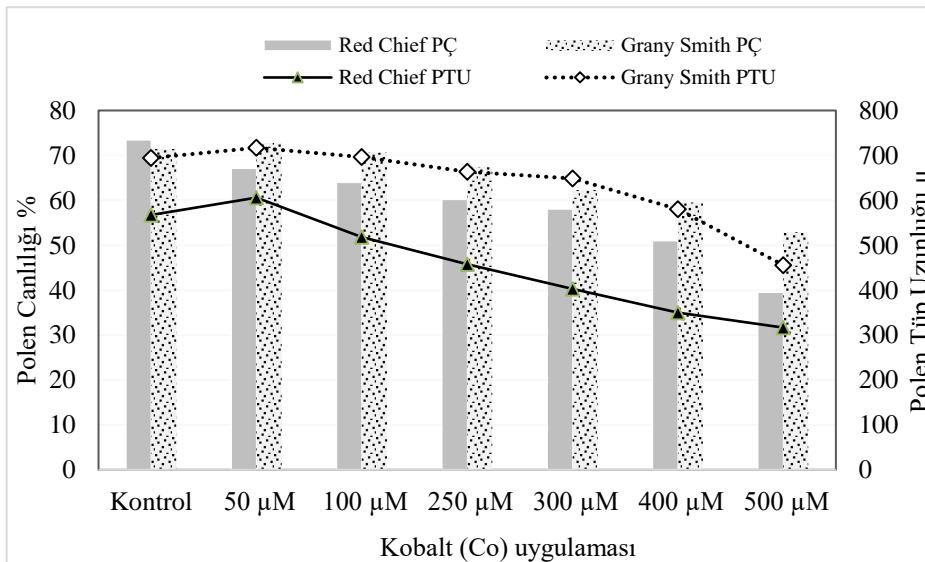
uygulamasında polen çimlenmesi %88.73-97.86 oranında düşüş olurken polen tüp uzunluğunda ise bu oran %94.85-99.45 olarak belirlenmiştir (Şekil 3).



**Şekil 3.** Kurşun uygulamalarının polen çimlenmesi ve polen tüp uzunluğu üzerine etkileri.

*Figure 3. The effect of Lead (Pb) treatment on pollen germination and tube length in apple cultivars.*

Red Chief çeşidinde polen çimlenmesi, kontrole (%73.45) kıyasla artan kobalt uygulamasına bağlı düşüş belirlenirken, bunun aksine 50 µM kobalt uygulaması tüp uzunluğunda %6.78 (605.96 µ) oranında artış göstermiştir. Ayrıca 500 µM kobalt uygulamasında ise polen çimlenmesinde %46.21 (39.51) ve tüp uzunluğunda ise %44.21 (316.6 µ) oranında düşüş belirlenmiştir. Granny Smith çeşidinde ise polen çimlenmesinin kontrole (%71.44) kıyasla 50 µM uygulamasında polen çimlenmesinde %1.92 (%72.81) ve tüp uzunluğunda ise kontrole (694.54) kıyasla 50 µM kobalt uygulamasında %3.22 (716.88 µ), 100 µM uygulamasında ise %0.26 (696.33 µ) oranında bir artış belirlenmiştir. Bunların aksine yüksek dozlarda kobalt uygulamaları hem polen çimlenmesi hem de tüp uzunluğu üzerine olumsuz etki etmiştir. Kobaltın 500 µM uygulamasında polen çimlenmesinde %25.92 ve tüp uzunluğunda ise %34.38 oranında düşüş belirlenmiştir. Yüksek dozdaki kobalt uygulaması hem polen çimlenmesi hem de tüp uzunluğu üzerine olumsuz etkisi belirlenmiş ve Red Chief çeşidinde bu etki daha fazla tespit edilmiştir (Şekil 4).

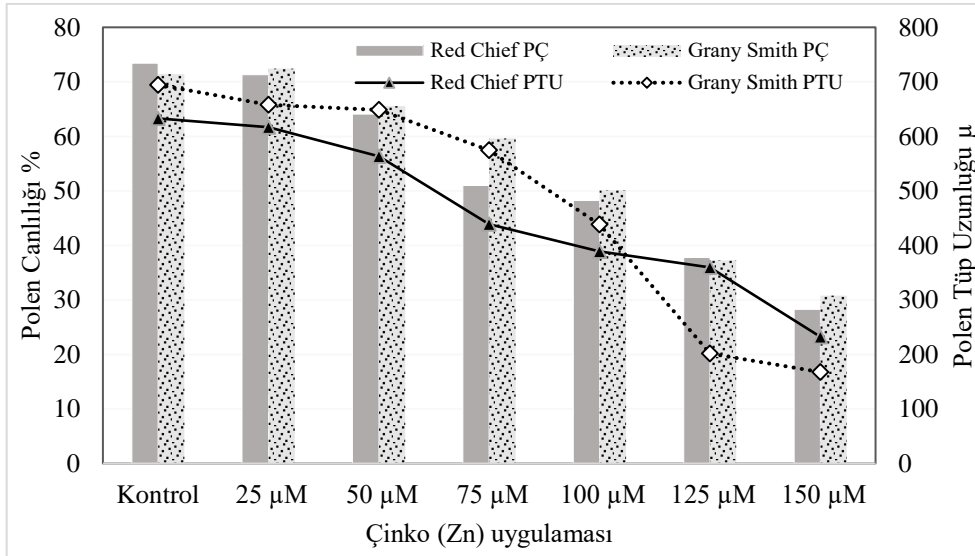


**Şekil 4.** Kobalt uygulamalarının polen çimlenmesi ve polen tüp uzunluğu üzerine etkileri.

*Figure 4. The effect of Cobalt (Co) treatment on pollen germination and tube length in apple cultivars.*

Şekil 5'de görüldüğü gibi düşük çinko (25 µM) uygulamasının kontrole kıyaslandığında polen çimlenmesi Red Chief çeşidinde %2.89 düşüğe neden olurken, Granny Smith çeşidinde %1.36 artışa neden olmuştur. Çinko uygulamalarında 50 µM den 150 µM uygulamalarına kadar polen çimlenmesi ve tüp uzunluğunda düzenli bir düşüş belirlenmiştir. En yüksek çinko (150 µM) uygulamasında polen çimlenmesinde %61.47 (Red Chief) ile

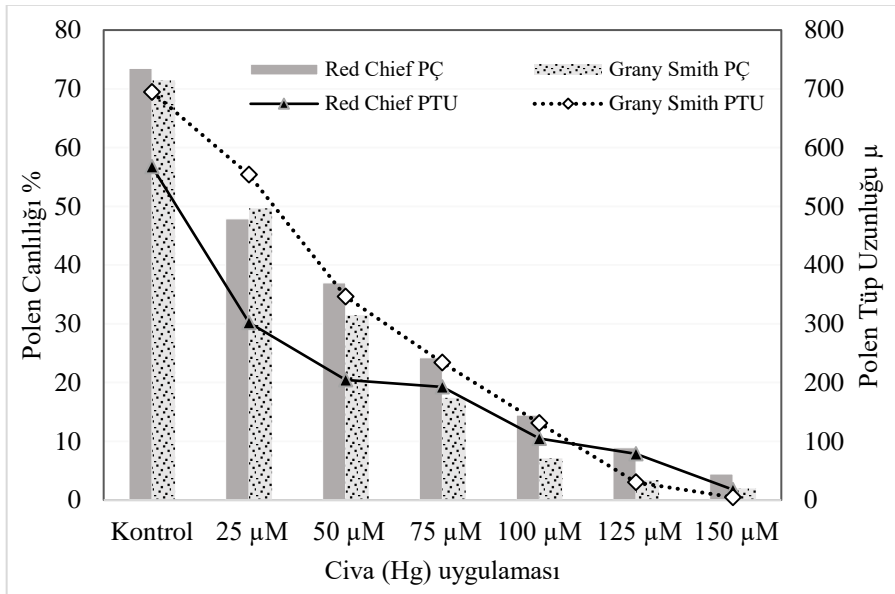
%56.89 (Granny Smith) oranında düşüş ve tüp uzunluğunda ise %63.27 (Red Chief) ile %75.85 (Granny Smith) oranında düşüşe neden olmuştur (Şekil 5).



**Şekil 5.** Çinko uygulamalarının polen çimlenmesi ve polen tüp uzunluğu üzerine etkileri.

Figure 5. The effect of Zinc (Zn) treatment on pollen germination and tube length in apple cultivars.

Çalışmada civa uygulamalarındaki doz artışına bağlı olarak polen çimlenmesi ve tüp uzunluğunda keskin düşüşler belirlenmiştir. En düşük Civa dozunun (25 µm) uygulamasında Red Chief ve Granny Smith çeşitlerinde polen çimlenme oranlarında sırasıyla %34.98 ve %30.50, tüp uzunluğunda ise yine sırasıyla %46.73 ve %20.29 oranında düşüş belirlenmiştir. Bu düşüş oranları, 150 µm civa uygulamasında ise polen çimlenmesinde %93.98-97.26 ve tüp uzunluğunda %97.26-99.31 olarak belirlenmiştir. Yüksek civa uygulaması sonucu hem polen çimlenmesi hem de tüp uzunluğunda en büyük düşüş Granny Smith çeşidinde belirlenmiştir (Şekil 6).



**Şekil 6.** Civa uygulamalarının polen çimlenmesi ve polen tüp uzunluğu üzerine etkileri.

Figure 6. The effect of Mercury (Hg) treatment on pollen germination and tube length in apple cultivars.

Bu çalışmada ağır metal türü ve uygulama dozuna bağlı olarak elma çeşitlerinin polen çimlenmesi ve tüp uzunluğunun önemli derecede engellendiği belirlenmiştir. Çalışmada Granny Smith çeşidi civa ve çinko uygulamalarında, Red Chief çeşidi ise kadmiyum, kurşun ve kobalt uygulamalarına karşı daha hassas olarak belirlenmiştir. Ağır metallerin aynı doz uygulamalarında her iki çeşitte polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu üzerine kurşunun engelleyici etkisi, kadmiyum ve kobalttan daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte civa ve çinko uygulamalarında ise civanın etkisi çinkoya göre daha yüksek bulunmuştur. Ağır metaller üzerine yürütülen farklı çalışmalarda; bitki tür ve çeşitlerinin vejetatif ve generatif organlarının olumsuz etkilendiği bununla birlikte bazı

tür/çeşitler ağır metal stresine hassas iken, bazı tür/çeşitlerin daha az hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir. Cox (1988), bildirdiğine göre, polenlerin hava kirliliğine hassas bitkisel ayıraçlar arasında olduğu ve polenlerin bitkinin vejatatif kısımlarından daha hassas olduğu belirtilmiştir. Bulduğumuz sonuçlarla paralellik gösteren ağır metallerin farklı tür ve çeşitlerin polenleri üzerine olan engelleyici etkileri yapılan çalışmalarla da ifade edilmiştir. Nitekim ağır metallerin polen çimlenmesi ve tüp uzunluğunu önemli derecede engellediği, elma çeşitlerinde civanın diğer metallerden daha yüksek toksisite gösterdiği (Munzuroğlu ve Gür, 2000; Muradoğlu ve ark., 2017), ayrıca *M. sylvester* and *C. Vulgaris* türlerinin kadmiyum ve bakır tarafından olumsuz etkilendiği (Topdemir ve ark., 2015), soya fasulyesinde kadmiyum ve bakır (Sabrine ve ark., 2010) kirazda ise kadmiyumun en yüksek toksisiteyi gösterdiği belirtilmiştir (Sharafi ve ark., 2017).

Ağır metaller önemli kirleticilerdir ve ağır metallerin konsantrasyonlarının yüksek düzeylere ulaşması durumunda bazı hassas bitkiler canlılıklarını kaybedebilirler. Ağır metallerin evre kirliliği vasıtasıyla polen canlılığı ve tüp uzunluğu üzerine engelleyici etkisinden dolayı polen canlılığı azalmakta, bunun doğal sonucu olarak da polenler üreme yeteneklerini kaybetmektedirler. Bu çalışmada farklı ağır metal dozlarının Red Chief ve Granny Smith elma çeşitlerinin polen canlılığı, polen çimlenmesi ve tüp uzunluğu üzerine etkileri belirlenmiştir.

Sonuç olarak ağır metallerin elma polenlerinin canlılığını olumsuz etkilediği, artan doza bağlı olarak bu etkinin şiddetinin arttığı ve polenlerin üreme yeteneklerini kaybettiği belirlenmiştir. Ayrıca polen canlılığı ve tüp uzunluğunun en çok civa ve en az ise kobalttan etkilendiği belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Alaoui-Sosse, B., Genet, P., Vinit-Dunand, F., Toussaint, M. L., Epron, D., & Badot, P. M. (2004). Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science*, 166, 1213-1218.
- Albuquerque J. C. L. de., Denardi, F., Dantas, A. C. de M., & Nodari, R. O. (2010). Number of anthers per flower, pollen grains per anther and pollen germination capacity of different cultivars of apple trees. *Revista Brasileira Fruticultura*, 32, 1255-1260.
- Basharat, A., Gill, R. A., Yang, S., Gill, M. B., Farooq, M. A., Liu, D., Daud, M. K., Shafaqat, A., & Zhou, W. (2015). Regulation of cadmium-induced proteomic and metabolic changes by 5-aminolevulinic acid in leaves of *Brassica napus* L. *PLoS One*, 24, 1-23.
- Batos, B., & Nikolić, B. M. (2013). Variability of *in vitro* germination of *Picea omorica* pollen. *Dendrobiology*, 69, 13-19.
- Brewbaker, J.L., & Kwack, B. H. (1963). The Essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany*, 50, 859-865.
- Casella, S., Frassinetti, S., Lupi, F., & Squartini, A. (1988). Effect of cadmium, chromium and copper on symbiotic and free-living *Rhizobium leguminosarium* biovar *trifolii*. *FEMS Microbiol Letters*, 49, 343-347.
- Chatterjee, S., Datta, S., Mallick, P. H., Mitra, A., Veer, V., & Mukhopadhyay, S. K. (2013). Use of wetland plants in bioaccumulation of heavy metals. In: Gupta DK (ed) *Plant-based remediation processes* (pp. 117-119) Springer, Germany.
- Cox, R. M. (1988). The sensitive of pollen from various coniferous and broad-leaved trees to combinations of acidity and trace metals. *The New Phytologist*, 109, 193-201.
- Dalkilic, Z., & Mestav, H. O. (2011). In vitro pollen quantity, viability and germination tests in quince. *African Journal of Biotechnology*, 10, 16516-16520.
- Dane, F., Olgun, G., & Dalgı, Ö. (2004). In vitro pollen germination of some plant species in basic culture medium. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3, 71-76.
- Darrah, P. R., & Staunton, S. (2000). A mathematical model of root uptake of cations incorporating root turnover, distribution within the plant, and recycling of absorbed species. *European Journal of Soil Science*, 51, 643-653.
- Derin, K., & Eti, S. (2001). Determination of pollen quality, quantity and effect of cross pollination on the fruit set and quality in the pomegranate. *Türkish Journal of Agricultural and Forestry*, 25, 169-173.
- Douchiche, O., Driouich, A., & Morvan, C. (2010). Spatial regulation of cell-wall structure in response to heavy metal stress: Cadmium-induced alteration of the methyl-esterification pattern of homogalacturonans. *Annals of Botany*, 105, 481-491.
- Duruibe, J. O. (2007). Heavy metal pollution and human bio toxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2, 112-118.
- Eti, S. (1991). Determination of pollen viability and germination capability of some fruit species and cultivars by different *in vitro* test. *ukurova University, Journal of Agricultural Faculty*, 6, 69-80.
- Florin, R. (1972). Pollen production and incompatibilities in apples and pears. *The Horticultural Society of New York*, 3, 87-118.

- Ghosh, M., & Singh, S. P. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research*, 3, 1-18.
- Gill, R. A., Zang, L., Basharat, A., Farooq, M. A., Cui, P., Yang, S., Shafaqat, A., & Zhou, W. (2015). Chromium-induced physiochemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere*, 120, 154-164.
- Güçlü, F., Koyuncu, F., Yıldırım, A., & Celepaksoy, F. (2011). Seçilmiş bazı bedem genotiplerinin dölleme biyolojileri üzerine araştırmalar: II. Bazı kimyasal uygulamaların polen performansları üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6, 28-33.
- Jackson, J. E. (2003). *The Biology Of Apples And Pears*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Kavamura, V. N., & Esposito, E. (2010). Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnology Advances*, 28, 61-69.
- Kramer, U., Talke, I. N., & Hanikenne, M. (2007). Transition metal transport. *FEBS Letters*, 581, 2263-2272.
- Krupa, Z., Siedlecka, A., Maksymiec, W., & Baszyn'ski, T. (1993). In vivo response of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. *Journal of Plant Physiology*, 142, 664-668.
- Li, X., Yang, Y., Jia, L., Chen, H., & Wei, X. (2013). Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 150-157.
- Lin, C. C., Chen, L. M., & Liu, Z. H. (2005). Rapid effect of copper on lignin biosynthesis in soybean roots. *Plant Science*, 168; 855-861.
- Mildenhall, D. (2006). Hypericum pollen determines the presence of burglars at the scene of a crime: An example of forensic palynology. *Forensic Science International*, 163, 231-35.
- Moshtagh, F., Dadar, A., Moghadam, E. G., & Asgharzadeh, A. (2015). Investigation on Pollen Viability, Germination and Tube Growth in Some Apple Cultivars in Climate Conditions of Shirvan. *Journal of Applied Environmental and Biological Science*, 4, 295-302.
- Mourelle, D., Gaiero, P., Speroni, G., Millán, C., Gutierrez, L., & Mazzella, C. (2016). Comparative pollen morphology and viability among endangered species of *Butia* (Arecaceae) and its implications for species de-limitation and conservation. *Palynology*, 40, 160-171.
- Munzuroğlu, O., & Gür, N. (2000). Ağır Metallerin Elma (*Malus sylvestris* Miller cv. Golden)'da Polen Çimlenmesi ve Polen Tüpü Gelişimi Üzerine Etkileri). *Turkish Journal of Biology*, 24, 677-84.
- Muradoğlu, F., Beyhan, Ö., & Sönmez, F. (2017). Response to heavy metals on pollen viability, germination and tube growth of some apple cultivars. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26, 4456-4461.
- Muradoğlu, F., Encu, T., Gündoğdu, M., & Canal, S. B. (2016). Influence of lead stress on growth, antioxidative enzyme activities and ion change in root and leaf of strawberry. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25, 623-632.
- Petrisor, C., Mitre, V., Mitre, I., Jantschi, L., & Balan, M. (2012). The Rate of Pollen Germination and the Pollen Viability at Ten Apple Cultivars in the Climatic Conditions of Transylvania. *Bulletin UASVM Horticulture*, 69, 1843-5254.
- Petropoulou, S. P., & Alston, F. H. (1998). Selecting for improved pollination at low temperatures in apple. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73, 507-512.
- Qiu, D. L., Liu, X. H., & Guo, S. Z. (2005). Effects of simulated acid rain on fertility of litchi. *Journal of Environmental Sciences*, 17, 1034-1037.
- Rakhshae, R., Giahi, M., & Pourahmad, A. (2009). Studying effect of cell wall's carboxyl-carboxylate ratio change of Lemna minor to remove heavy metals from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 163, 165-173.
- Sabrine, H., Afif, H., Mohamed, B., Hamadi, B., & Maria, B. (2010). Effects of cadmium and copper on pollen germination and fruit set in pea (*Pisum sativum* L. *Scientia Horticulturae*, 125, 551-555.
- Sergio, C., Figueira, R., & Viegas Crespo, A. M. (2000). Observations of heavy metal accumulation in the cell walls of *Fontinalis antipyretica*, in a Portuguese stream affected by mine effluent. *Journal of Bryology*, 22, 251-255.
- Shafaqat, A., Farooq, M. A., Yasmeen, T., Hussain, S., Arif, M. S., Abbas, F., Saima, A. B., & Zhang, G. (2013). The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 89, 66-72.
- Sharafi, Y. (2011). Study of pollen germination in pome fruit tree of rosaceae family in vitro. *African Journal of Plant Science*, 5, 483-488.
- Sharafi, Y. (2017). effect of heavy metals on male gametes of sweet cherry. *Caryologia*, 70, 166-173.
- Shaul, O. (2002). Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. *Biometals*, 15, 309-323.



- Shivanna, K. R., & Rangaswamy, N. S. (1992). *Pollen Biology. A Laboratory Manual*. New York, Springer-Verlag, Berlin.
- Simpson, M. (2006). *Plant systematics*. Academic Press, New York.
- Soares, T. L., de Jesus, O. N., dos Santos-Serejo, J. A., & de Oliveira, E. J. (2013). *In vitro* pollen germination and pollen viability in passion fruit (*Passiflora* spp.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35, 1116-1126.
- Soares, T. L., de Oliveira e Silva, S., de carvalho Costa, M.A. P., dos Santos-Serejo, J. A., Souza, A., Morais-Lino, L. S., Souza, E. H., & de Jesus, O. N. (2008). In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8, 111-118.
- SPSS. (2015). IBM SPSS Statistics 23.0 for Windows. Armonk, NY.
- Topdemir, A., Gür, N., & Koçak, K. (2015). Çeşitli Ağır Metallerin (Cu<sup>++</sup>, Pb<sup>++</sup>, Hg<sup>++</sup>, Cd<sup>++</sup>) *Malus sylvestris* Miller (elma) ve *Cerasus vulgaris* Miller (vişne) Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri. *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 6, 108-112.
- Visser, T., & Verhaeg, J. J. (1980). Pollen and polination experiments. II. The influence of the first pollination on the effectiveness of the second one in apple. *Euphytica*, 29, 385-390.
- Wronska-Pilarek, D., & Tomlik-Wyremblewska, A. (2010). Pollen viability and *in vitro* germination of selected Central European species from genus *Rosa* analysed with different methods. *Dendrobiology*, 64, 43-53.
- Wu, J., Qin, Y., & Zhao, J. (2008). Pollen tube growth is affected by exogenous hormones and correlated with hormone changes in styles in *Torenia fournieri* L. *J. Plant Growth Regulation*, 55, 137-148.
- Yabe, J., Ishizuka, M., & Umemura, T. (2010). Current levels of heavy metal pollution in Africa. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 72, 1257-1263.