

Bazı Büyüme Düzenleyici Maddelerin ‘Mayhoş-8’ Nar Çeşidinin Çiçek Tozu Çimlenmesine Etkisi

Hakan Engin, Zeliha Gökbayrak

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, 17100, Çanakkale

e-posta: hakanengin@comu.edu.tr

Özet

Bu araştırma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Dardanos Yerleşkesi içerisindeki nar koleksiyon bahçesinde bulunan ‘Mayhoş-8’ nar çeşidinde yürütülmüştür. Bitki büyüme düzenleyicilerden gibberellik asit (GA₃) 25, 50, 100 ppm, epibrassinolid (Epi-BI) 0.001, 0.01, 0.1 ppm ve naftalen asetik asit (NAA) 0.5, 1, 2.5 ppm konsantrasyonlarında çiçek tozlarını çimlendirme ortamına uygulanmıştır. Çiçek tozu çimlenme denemeleri in vitro koşullarda ‘agar petri’ yöntemi ile yapılmıştır. ‘Mayhoş-8’ nar çeşidi üzerinde bulunan erkek (steril) ve hermafrodit (fertil) çiçek tiplerinin oranları saptanmıştır. Uygulanan büyüme düzenleyicilerin çiçek tozlarının çimlenme oranlarına etkisi her iki çiçek tipinde de belirlenmiştir. İncelenen nar çeşidinde %61.5 erkek çiçek ve %38.5 oranında hermafrodit çiçek belirlenmiştir. Morfolojik olarak erselik, fizyolojik olarak erkek yapıda olan çiçeklerin başka bir ifade ile A tipi çiçeklerin çiçek tozlarının çimlenme oranı %56.3 ile en yüksek Epi-BI 0.01 ppm uygulamasında tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Punica granatum*, gibberellik asit, epibrassinolid, NAA

Effect of Plant Growth Regulators on Pollen Germination of ‘Mayhoş-8’ Pomegranate Cultivar

Abstract

This research was carried out on ‘Mayhoş-8’ pomegranate cultivar grown on the collection orchard located at Dardanos campus of Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey. Plant growth regulators, gibberellin acid (GA₃) at 25, 50 and 100 ppm, epibrassinolide (Epi-BI) at 0.001, 0.01 and 0.1 ppm, and naphthalene acetic acid (NAA) at 0.5, 1 and 2.5 ppm concentrations were applied to the pollen germination medium. pollen germination experiments were done with agar in the petri method. Ratios of male (sterile) and hermaphrodite (fertile) flower types were determined on ‘Mayhoş-8’ cultivar. Effects of the plant growth regulators on pollen germination ratios were assessed on both types of flowers. 38.5% hermaphrodite and 61.5% male flowers were found on the cultivar. The highest pollen germination percentage (56.3%) was obtained from the 0.01 ppm Epi-BI application applied to the pollens from the male flowers.

Keywords: *Punica granatum*, gibberellin acid, epibrassinolide, NAA

Giriş

Nar, monosi tür olarak değerlendirilir ve aynı ağaç üzerinde erkek (steril) ve hermafrodit (fertil) çiçek olmak üzere iki tip çiçek bulunmaktadır (Wetzstein ve ark., 2011). Bu çiçek tipleri, narda A tipi ve B tipi çiçek olarak isimlendirilmektedir. A tipi çiçekler, morfolojik olarak erselik, fizyolojik olarak erkek yapıdadırlar. Bu tip çiçeklerin dişi organları fonksiyonel olmadıklarından meyve bağlayamaz ve çiçeklenmeden bir süre sonra dökülürler. Fakat erkek organları fonksiyonel olduğundan tozlanmaya katkıda bulunurlar. B tipi çiçekler (hermafrodit) ise, morfolojik ve fizyolojik olarak erseliklerdir. Nar ağaçlarında verim bu tip çiçeklerden sağlanır (Varasteh ve Arzani, 2009). Nar ağaçlarında döllenme ve meyve tutumu, farklı çiçek yapılarındaki çiçek tozlarının çimlenme güçleriyle yakından ilişkilidir.

Brassinosteroidler 1979 yılında Grove ve ark. tarafından *Brassica napus* L. bitkisinin

polenlerinden izole edilmiştir (Grove ve ark., 1979). Birçok bitki türünde farklı fizyolojik olayda rol oynadıklarından dolayı bitki büyüme düzenleyici olarak kabul edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda brassinosteroidler bir çok türün polenlerinde tespit edilmiştir (Taylor ve ark., 1993). Araştırmalarda brassinosteroidlerin generatif büyümenin düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu ve erkek organların stimülasyonu ile polen özelliklerini değiştirmelerinin döllenmeyi etkiledikleri saptanmıştır (Kang ve Guo, 2011).

Polen çimlenmesi üzerine birçok bahçe bitkileri türü üzerinde yapılan araştırmaların ağırlıklı olarak uygun çimlendirme ortamının belirlenmesine yönelik olduğu ve bazı büyüme düzenleyicilerin (gibberellinler, oksinler vd.) polen çimlenme oranı üzerine etkilerinin tespitine yönelik çalışmaların yoğunlaştığı görülmektedir. Brassinosteroidlerin polen çimlenmesine etkilerinin araştırıldığı çalışma

yok denecek azdır. 1985 yılında rapor edilen bir çalışmada *Prunus avium*'un polen tüpünün uzaması üzerine brassinosteroidlerin çok küçük konsantrasyonlarda olumlu etkide bulunduğunu fakat polen çimlenmesini etkilemediğini belirtmiştir (Hewitt ve ark., 1985). GA_3 'ün zeytin polenlerinin çimlenmesinde in vivoda olumlu etkide bulunduğunu ifade etmiştir (Viti ve ark., 1990).

Narlarda yapılan bir çalışmada NAA'nın polen gelişimini geriletmediği ifade edilmektedir (Imani ve Nazarian, 2013). Reig ve ark., (2014) NAA'nın yeni dünya çiçeklerinde in vitro ve in vivoda polen gelişimine olumsuz etkilerini saptamışlardır.

Bu çalışma ile 'Mayhoş-8' nar çeşidinin farklı çiçek tiplerindeki polenlerin çimlenmesine bitki büyüme düzenleyicilerden gibberellik asit (GA_3), epibrassinolid (Epi-BI) ve naftalen asetik asit (NAA)'in etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde yürütülmüştür. Araştırmada belirtilen çalışmalarını yapmak için alınan çiçek örnekleri, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Dardanos Yerleşkesi'nde bulunan deneme ve araştırma bahçesindeki nar parsellerinden temin edilmiştir. Araştırmada 'Mayhoş-8' nar çeşidi kullanılmıştır.

Çiçek Tozu Elde Edilmesi

Araştırmada yer alan 'Mayhoş-8' nar çeşidinin ağaçlarının farklı yön ve yükseklikteki dallarından, henüz açmamış veya açmak üzere olan çiçekler toplanmıştır. Bu çiçeklerin erkek organlarının başçıkları laboratuvarda ayıklanarak bir kağıt üzerine yayılmış ve 25°C'de iklim odasında yaklaşık 12 saat süre ile bekletilmiştir. Elde edilen çiçek tozları şişelere konularak içerisinde $CaCl_2$ (nem çekici) bulunan desikatörde 4-5°C sıcaklıkta kullanılmaya kadar muhafaza edilmiştir.

Kullanılan Büyüme Düzenleyiciler ve Dozlar

Epibrassinolid (Epi-BI): 0.1, 0.01 ve 0.001 ppm; Gibberellik asit (GA_3): 25, 50 ve 100 ppm; Naftalen asetik asit (NAA): 0.5, 1 ve 2.5 ppm dozlarında uygulanmıştır. Kontrol uygulamasında herhangi bir büyüme düzenleyici madde uygulaması yapılmamıştır. Kontrol uygulamasında 100 ml saf suya 1 g agar

ve 20 g sakkaroz olacak şekilde ortam hazırlanmıştır.

Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri

İn vitro çiçek tozu çimlendirme testleri için agar-petri yöntemi pratik bir yöntem olduğundan çiçek tozlarının çimlenme güçlerinin tespitinde kullanılmıştır (Eti, 1991).

Çimlendirme ortamı, 100 ml kaynayan saf suya 1 g agar ve 20 g sakkaroz ilavesiyle yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda büyüme düzenleyici içerecek şekilde hazırlanmıştır. Ortamlar, petri kaplarına yaklaşık 2 mm kalınlıkta dökülerek soğumaya bırakılmış ancak, tam katılaşmadan çiçek tozu ekimi yapılmıştır. Çiçek tozu ekimi sırasında bir fırça kullanılarak çiçek tozlarının homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Çimlenme süresince gerekli nemi sağlamak amacıyla saf su ile nemlendirilmiş iki kat filtre kağıdı petri kutularının kapaklarına yerleştirilerek petriler kapatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan petriler, çimlenme için, 25°C'deki etüvde 5 saat bekletilmiştir. Daha sonra mikroskop (Olympus CX-41) altında sayımlar yapılarak, çimlenme oranları tespit edilmiştir.

Denemeden elde edilen veriler Minitab istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, her uygulama arasındaki farklılıklar Duncan testi ($P \leq 0.05$) ile belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

'Mayhoş-8' nar çeşidinin farklı çiçek tiplerinden alınan çiçek tozlarına uygulanan büyüme düzenleyici maddelerin çiçek tozlarının çimlenme oranlarına etkisi Çizelge 1'de verilmiştir. Uygulanan büyüme düzenleyici maddelerin etkisinin yanında uygulama dozlarının da çimlenme oranları üzerine istatistiki olarak etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca bazı uygulamalarda çiçek tozu çimlenme oranlarının çiçek tipine göre de değişiklik gösterdiği görülmektedir.

Farklı çiçek tipleri, büyüme düzenleyici maddeler ve uygulama dozları değerlendirildiğinde çimlenme oranları %8.9 ile %56.3 arasında değişiklik göstermektedir. En yüksek çiçek tozu çimlenme oranı 'Mayhoş-8' nar çeşidinin erkek çiçeklerinden alınan çiçek tozlarına yapılan epibrassinolid (0.01 ppm Epi-BI) uygulamasında elde edilmiştir. Bu değeri, %46.6 çimlenme oranıyla aynı büyüme düzenleyici madde uygulamasının 0.1 ppm

konsantrasyonunda hermafrodit çiçeklerinden alınan çiçek tozları takip etmektedir.

En düşük çiçek tozu çimlenme oranları ise büyümeyi düzenleyici uygulaması yapılmayarak sadece 100 ml saf suya 1 g agar ve 20 g sakkaroz şeklinde hazırlanan kontrol uygulamasında ve 0.5 ppm NAA uygulamasında %16.8 olarak belirlenmiştir.

Değişik konsantrasyonlarda büyümeyi düzenleyici içeren çimlendirme ortamlarında 'Mayhoş-8' nar çeşidinin çiçek tozu çimlenme oranları farklı olmuş, gerek ortamlar arasında, gerekse çiçek tipleri arasında önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır (Çizelge 1).

Epi brassinolid (0.01 ve 0.1 ppm Epi-BI) uygulamalarında dişi çiçeklerden alınan çiçek tozlarının tamamında çimlenme oranı artmıştır. 'Mayhoş-8' nar çeşidinin B tipi çiçeklerinden alınan çiçek tozları incelendiğinde en düşük çimlenme oranının, büyümeyi düzenleyici uygulaması yapılmayarak sadece 100 ml saf suya 1 g agar ve 20 g sakkaroz şeklinde hazırlanan kontrol uygulamasında olduğu görülmektedir. B tipi çiçeklerinden alınan çiçek tozlarının çimlenme oranı, farklı büyümeyi düzenleyici içeren bütün ortamlarda kontrol uygulamasından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Erkek çiçeklerden alınan çiçek tozları incelendiğinde en düşük çimlenme oranı, 0.5 ppm NAA uygulamasında belirlenmiştir.

Hermafrodit ve erkek olmak üzere her iki tip çiçeklerden alınan çiçek tozları incelendiğinde, erkek çiçeklerin çiçek tozlarının %32.2, hermafrodit çiçeklerin çiçek tozlarının ise %27.9 oranında çimlendikleri görülmektedir.

Büyümeyi düzenleyici maddeler ve çimlendirme ortamında bulunan şeker, hem osmotik düzenleyici olarak hem de metabolik enerji kaynağı olarak rol oynamaktadır (Vasil, 1964; O'Kelly, 1955). Bu nedenle, çimlendirme ortamların farklı konsantrasyonlarda madde içermeleri çiçek tozlarının çimlenme oranları üzerine etki etmektedir. Araştırmamızda 'Mayhoş-8' nar çeşidinin çiçek tozlarının çimlenme oranları, ortamların içerdikleri büyümeyi düzenleyici maddelere göre farklılık göstermiştir. Özellikle erkek çiçeklerden alınan çiçek tozlarına epi brassinolid ve gibberellik asit uygulaması bütün konsantrasyonlarda çiçek tozu çimlenme oranlarını artırmıştır. Singh ve Shono (2003) bir brassinosteroid bileşiği olan 24-

epibrassinolidin önemli derecede polen canlılığını teşvik ettiğini bildirmiştir. Voyiatzis ve Paraskevopoulou-Paroussi (2005) çiçek çiçeklerinin polenlerinin in vitro çimlenmesi üzerine gibberellinlerin olumlu etki ettiğini ve 50 ppm GA₃'ün polen çimlenmesini artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca, Zhou ve Chuanlai (2010), 100 mg/L GA₃'ün armutun in vitro polen çimlenmesini uyarak olumlu yönde etkilediğini bildirmiştir.

Naftalen asetik asitin çiçek tozu çimlenme oranlarına ters etki yaparak bu oranı azatmıştır. 0.5 ve 2.5 ppm NAA konsantrasyonlarında sözkonusu etki daha belirgin bir şekilde görülmektedir. Xue ve ark. (2008) NAA'nın şeftali polenleri üzerine düşük konsantrasyonda olumlu, yüksek konsantrasyonda olumsuz etkide bulunduğunu belirlemiştir.

Yapay çimlendirme ortamında sakkaroz konsantrasyonunun, nar çiçek tozlarının çimlenmesi üzerine etkisini araştıran Sharma ve Gaur (1982), ve en yüksek çimlenmenin %15 ile 20 sakkaroz içeren ortamlarda gerçekleştiğini saptamışlardır. Benzer olarak, Josan ve ark. (1980), nar çiçek tozlarında en yüksek çimlenmeyi %20 sakkaroz içeren ortamda elde etmişlerdir. Nar ağaçlarında A tipi çiçek oranının, B tipi çiçeklerden daha fazla olduğu ve bu oranın çeşit, iklim ve yıla bağlı olarak değiştiği ifade edilmektedir (Shulman ve ark., 1984). Ayrıca, B tipi çiçeklerin çiçek tozu canlılıkları A tipi çiçeklerinkinden daha düşüktür (Gözlekçi ve Kaynak, 2000). Araştırmamızda 'Mayhoş-8' nar çeşidinin iki farklı tip çiçeklerinden alınan çiçek tozlarında erkek çiçeklerin çiçek tozlarının hermafrodit çiçeklerin çiçek tozlarından %4.3 daha fazla çimlenme oranına sahip oldukları görülmektedir. Engin ve Hepaksoy (2003), onbir farklı nar çeşidinin çiçek tozlarında yaptıkları çalışmada, çiçek tozlarının çimlenme oranlarının %5.3 ile %48.7 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda 'Mayhoş-8' çeşidi için bu oran, yaklaşık olarak % 30'dur.

Sonuç

Farklı büyümeyi düzenleyici madde uygulamalarında çimlenme oranları %8.9 ile %56.3 arasında değişiklik göstermektedir. Narlarda iyi bir verim için çiçek tozlarının çimlenme oranının %30 ve daha yüksek olması gerekmektedir. Çiçek tozlarına epi brassinolid ve gibberellik asit uygulaması çiçek tozu çimlenme oranlarını artırmıştır. Bütün Epi-BI

uygulamalarında çiçek tozlarında çimlenme fonksiyonel kabul edilebilen (%30 ve daha yüksek) orandan daha yüksektir.

Kaynaklar

- Engin, H. Hepaksoy, S., 2003. Bazı nar çeşitlerinin çiçek tozu çimlenme güçlerinin belirlenmesi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 40 (3):9-16.
- Etı, S., 1991. Bazı meyve tür ve çeşitlerinde değişik in vitro testler yardımıyla çiçek tozu canlılık ve çimlenme yeteneklerinin belirlenmesi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(1):69-80.
- Gözlekçi, S., Kaynak, L., 2000. Investigations on pollen production and quality in some standards pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. Options No: 42: 71-78.
- Grove, M.D., Spencer, G.F., Rohwedder, W.K., Mandava, N.B., Worley, J.F., Warthen, J.D. Jr., Steffens, G.L., Flippen-Anderson, J.L., Cook, J.C., Jr. 1979. Brassinolide, a plant growth promoting steroid isolated from Brassica napus pollen. Nature. 281: 216-217.
- Hewitt, F.R., Hough, T., O'Neill, P., Sasse, J.M., Williams, E.G., Rowen, K.S., 1985. Effect of brassinolide and other growth regulators on the germination and growth of pollen tubes of *Prunus avium* using a multiple hanging-drop assay. Aust. J. Plant Physiol. 12:201-211.
- Imani, A., Nazarian, M., 2013. Effects of boron and growth regulators on germination of *Punica granatum* pollen grains. Advanced Crop Science, 13(4):268-272.
- Josan, J.S., Jawanda, J.S., Uppal, D.P., 1980. Studies on the floral biology of pomegranate. II. Anthesis, dehiscence, pollen studies and receptivity of stigma. Punjab Horticultural Journal, 19(1-2):66-70.
- Kang, Y.Y., Guo, S.R., 2011. Role of brassinosteroids on horticultural crops. In: Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone, 269-288.
- O'Kelly, J.C., 1955. External carbohydrates in growth and respiration of pollen tubes "in vitro". Amer. J. of Botany, 42(3):322-326.
- Reig, C., Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Agustí, M., 2014. Naphthaleneacetic acid impairs ovule fertilization and early embryo development in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). Scientia Horticulturae, 165:246-251.

- Sharma, C.M., Gaur, R.D., 1982. Studies on morphology, germination and viability of pomegranate (*Punica granatum* L.) pollen. Journal of Palynology, 20(2): 87-92.
- Shulman, Y., Fain Berstein, L., Lavee, S., 1984. Pomegranate fruit development and maturation. J. Hort. Sci., 59(2):265-274.
- Singh, I., Shono, M., 2003. Effect of 24-epibrassinolide on pollen viability during heat-stress in tomato. Ind. J. Exp. Bot. 41:174-176.
- Taylor, P.E., Spuck, K., Smith, P.M., Sasse, J.M., Yokota, T., Griffiths, P.G., Cameron, D.W., 1993. Detection of brassinosteroids in pollen of *Lolium perenne* L. by immuno cytochemistry. Planta 189: 91 -100.
- Varasteh, F., Arzani, K., 2009. Classification of some Iranian pomegranate (*Punica granatum*) cultivars by pollen morphology using scanning electron microscopy. Hort. Environ. Biotechnol. 50(1):24-30.
- Vasil, I.K., 1964. Effect of boron on pollen germination and pollen tube growth. In: Linkens, H.F. (Ed.), Pollen Physiology and Fertilization, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, pp. 107-119.
- Viti, R., Bartolini, Vitagliano, C., 1990. Growth regulators on pollen germination in olive. Acta Hort. 286: 227-230.
- Voyiatzsis, D.G., Paraskevopoulou-Paroussi, G., 2005. Factors affecting the quality and in vitro germination capacity of strawberry pollen. Int. J. of Fruit Science, 5(2): 25-35.
- Wetzstein, H.Y., Ravid, N., Wilkins, E., Martinelli, A.P., 2011. A morphological and histological characterization of bisexual and male flower types in pomegranate J. Amer. Soc. Hort. Sci. 136(2):83-92.
- Xue, X., Wang, J., Zhang, A., Lu, C., 2008. Effects of plant growth regulating substances on pollen germination and tube growth in Chaohong peach. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2008-04.
- Zhou, R., Zhang, C., 2010. Effect of gibberellin and paclobutrazol on pollen germination and tube growth in pear. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition), 2010-02.

Çizelge 1. Mayhoş-8 nar çeşidinin farklı çiçek tiplerinden elde edilen çiçek tozlarına uygulanan büyümeyi düzenleyicilerin (GA₃, NAA, Epi-BI) çimlenme oranlarına (%) etkileri

Uygulamalar	Çiçek tipi		Ortalama
	Hermafrodit (B)	Erkek (A)	
25 ppm GA ₃	36.77 ABC a*	36.70 BC a	36.73
50 ppm GA ₃	20.74 DE a	32.44 BC a	26.59
100 ppm GA ₃	21.27 DE a	34.99 BC a	27.83
0.5 ppm NAA	28.65 BCD a	16.82 D a	22.74
1 ppm NAA	32.41 ABCD a	34.13 BC a	33.27
2.5 ppm NAA	18.52 DE a	21.13 CD a	19.93
0.001 ppm Epi-BI	24.77 CD b	39.74 B a	32.26
0.01 ppm Epi-BI	41.14 AB a	56.33 A a	48.73
0.1 ppm Epi-BI	46.64 A a	36.83 BC a	41.73
Kontrol	8.88 E b	24.10 BCD a	16.49
Ortalama	27.98	32.28	

*Küçük harfler, uygulamaya göre çiçek tipleri arasındaki, büyük harfler ise çeşitteki uygulamalar arasındaki farklılığı göstermektedir.