



## **Mercimek (*Lens culinaris M.*) Polen Morfolojisi ve Etkileyen Faktörler**

Derleme / Review

**Ahmet Kasım BAL<sup>1</sup> Nurdoğan TOPAL<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Uşak Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Uşak-Türkiye

<sup>1</sup> Uşak Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Uşak-Türkiye

\*sorumlu yazar: [nurdogan.topal@usak.edu.tr](mailto:nurdogan.topal@usak.edu.tr)

### **Yayın Bilgisi**

Geliş Tarihi: 26.09.2021

Revizyon Tarihi: 30.09.2021

Kabul Tarihi: 16.10.2021

### **Anahtar Kelimeler**

Mercimek, *Lens culinaris M.*, Polen,

Polen Morfolojisi

### **Keywords**

Lentil, *Lens culinaris M.*, Pollen, Pollen

Morphology

### **Özet**

Ülkemiz açısından önemli bir protein bitkisi olan mercimek Hindistan alt kıtasında, batı Asya'da, Afrika'nın bazı bölgelerinde ve güney Avrupa'da geniş bir alanda yetiştirilen önemli bir soğuk mevsim baklagilidir. Verim, kalite ve dayanıklılık başlıkları altında mercimek ıslah çalışmaları uluslararası ve ulusal resmi ve özel sektörlerde olmak üzere devam etmektedir. Klasik ıslah yöntemleri uygulamaları ile mercimek bitkisinde özellikle de dar genetik tabana sahip olması nedeni ile arzu edilen varyasyonlara ulaşamamaktadır. Bu nedenle biyoteknolojik uygulamalar ile bu varyasyonlar sağlanmaya çalışılmakta ve kısa sürede arzu edilen özellik bakımından saflaştırmalara gidilebilmektedir. Bu biyoteknolojik uygulamalardan olan anter, polen ve yumurtalık kültürü ıslah çalışmalarında kullanılmaktadır. Literatürler incelendiğinde bu tür generatif yapıların gelişiminde çevre (sıcaklık vb.) ve kültürel uygulamalar (çeşit, sulama, gübreleme, ekim zamanı, lokasyon vb.) önemli etkilerde bulunduğu görülmektedir. Çevre ve kültürel uygulamanın optimum olduğu koşullarda biyoteknolojik uygulamaların başarı şansını arttırmaktadır. Bu derleme, mercimek bitkisi özelinde ıslah çalışmalarında kullanılan polenin teşekkülü esnasında çevre ve kültürel uygulamalar ile olan ilişkisini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

### **Lentil (*Lens culinaris M.*) Pollen Morphology and Affecting Factors**

#### **Abstract**

Lentil, which is an important protein plant for our country, is an important cold season legume grown in a wide area in the Indian subcontinent, western Asia, some parts of Africa and southern Europe. Lentil breeding activities under the titles of yield, quality and resistance continue in international and national public and private sectors. With the classical breeding methods applications, the desired variations cannot be achieved in the lentil plant, especially since it has a narrow genetic base. For this reason, these variations are tried to be provided with biotechnological applications and purification can be achieved in a short time in terms of desired properties. Anther, pollen and ovary cultures, which are among these biotechnological applications, are used in breeding studies. When the literature is examined, it is seen that the environment (temperature, etc.) and cultural practices (variety, irrigation, fertilization, sowing time, location, etc.) have important effects on the development of such generative structures. It increases the chances of success of biotechnological applications in conditions where environmental and cultural application is optimum. This review was made in order to reveal the relationship between the environment and cultural practices during the formation of the pollen used in breeding studies, specifically for the lentil plant.

## 1. GİRİŞ

Mercimek, nohut ve bezelyeden sonra dünyanın en önemli üçüncü serin mevsim baklagildir (Sehgal ve ark., 2021). Dünya genelinde yaklaşık 4,8 milyon ha alandan 5,73 milyon ton ürün elde edilen mercimek, ülkemizde yemeklik tane baklagiller arasında nohuttan sonra 281 741 ha alandan elde edilen 353 631 ton ile ikinci sırada yer almaktadır (FAO, 2019). Mercimek (*Lens culinaris* MEDİK.), erken neolitik zamanlarda yakın doğu ve çevresinde, bezelye, nohut ve bakla gibi diğer baklagiller ile birlikte kültüre alınmış eski kültür bitkilerinden biridir (Muehlbauer ve McPhee, 2005). Bitkiye 1787 yılında Alman botanikçi ve doktor olan Friedrich Kasimir Medikus (1738-1808) tarafından *Lens culinaris* bilimsel adı verilmiştir (Cokkizgin ve Shtaya, 2013).

*Lens* cinsinin taksonomisi, genetik, biyokimyasal, morfolojik, plastid ve melezleme verilerinin tür ve alt tür seviyelerinde sınıflandırılmasıyla ilgili çelişkili sonuçlar vermesiyle uzun süredir tartışma konusu olmuştur (Oliveira ve ark., 2021). Mercimek cinsi (*Lens* MİLLER) sadece *Lens culinaris* MEDİK.'in kültüre alındığı beş türü içermektedir. *Lens montbretii* (FISCH & MEY.) DAVIS & PLIT., *Lens ervoides* (BRIGN.) GRANDE, *Lens nigricans* (BIEB.) GODR. ve *Lens orientalis* (BOISS.) M. POPOV yabancı mercimek türleri olarak bilinmekte ve *Lens nigricans* (BIEB.) GODR. ve *Lens orientalis* (BOISS.) M. POPOV türleri kültürü yapılan *Lens culinaris* MEDİK. ile Morfolojik benzerlik taşımaktadır. Bu üç tür de aynı kromozom sayısına ( $2n = 14$ ) sahiptir (Ladizinsky, 1979).

Kültür ve altı yabancı mercimek türlerinin taksonomik ilişkilerini incelendiği bir çalışmada Rastgele Amplifiye Polimorfik DNA (RAPD) belirteçleri kullanılmış ve ssp. *orientalis* kültürü yapılan ssp. *culinaris*'e en fazla oranda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Kültür mercimeğine (*Lens culinaris* M.) en uzak olanın ise *Lens ervoides* olduğu aynı çalışmada ifade edilmiştir (Sharma ve ark., 1995). Merceğin tüm üyeleri kendi kendine tozlanan diploidler ( $2n=2x=14$ ) ve tek yıllık otsu bitkilerdir. Kültürü yapılan tek tür olan *Lens culinaris* mikrosperma (küçük tohumlu) ve makrosperma (büyük tohumlu) olmak üzere iki ana varyete tipine ayrılır (Alam ve ark., 2011). Mercimek dar genetik tabana sahip bir bitki türüdür (Roy ve ark., 2013).

Mercimek (*Lens culinaris* Medik subsp. *culinaris*), Hindistan alt kıtasında, batı Asya'da, Afrika'nın bazı bölgelerinde ve güney Avrupa'da geniş bir alanda yetiştirilen önemli bir soğuk mevsim baklagilidir. Besleyici tohumlara olan büyük talebi göz önünde bulundurarak, yüksek verim kabiliyeti, hastalık ve haşere direnci ve tohum ağırlığı ile iyileştirilmiş bitki türlerinin geliştirilmesi için farklı araştırma enstitülerinde çabalar devam etmektedir (Kumar ve ark., 2014).

Mercimek büyük oranda kendine tozlanan (%0,8 ve altı yabancı tozlanma) bir bitkidir (Muehlbauer ve ark., 1980). Mercimekte çiçeklenme sınırsız (indeterminat) bir özellik göstermektedir. Çiçekler ana gövde ve dallardaki koltuklarda tomurcuklardan

meydana gelir. Çiçeklenme alt boğumlardan yukarıdakilere doğru (akropetal) ilerler (Erskine ve ark., 1990). Mercimek, kuraklık, sıcaklık, don, azot eksikliği, mekanik hasar veya kuruma gibi bir tür stresle karşılaşana kadar çiçek açmaya devam etmektedir. Bu sınırsız büyüme durumu geç olgunlaşan çeşitlerde daha belirginlik taşımaktadır, ancak mevcut tüm mercimek çeşitlerinin sınırsız büyüme görülmektedir (Abraham, 2015).

Tipik bir baklagil olarak tam çiçek yapısına sahip olan mercimek çiçeğinde çanak ve taç kısımları beş parçalı olup erkek organlar diadelphous (dokuz artı bir) yapıdadır. Yumurtalık bir veya iki yumurta (bazen üç yumurta) içerir ve kısa kavisli bir tarzda sonlanır. Stil iç kısımda tüylüdür ve stigma hafifçe şişmiş ve beze gibidir. Taç yaprakları her 24 saatte bir çanak uzunluğunun yaklaşık dörtte birine eşdeğer bir oranda genişler ve çoğu çiçek, taç yaprakların uzunluğu, çanak yaprakların dörtte üçünü aştığında tozlaşma görülmektedir. Bu nedenle, melezleme programlarında erkek organ uzaklaştırma zamanlaması kritiktir (Erskine ve ark., 2009).

Mercimek çeşitlerini geleneksel yetiştirme teknikleri kullanarak geliştirmek için birtakım girişimlerde bulunulmuştur, ancak bu çabalar, genetik tabanın dar olması ve mercimek ıslahı için mevcut ve uygun germplazm eksikliği nedeniyle istenen sonuçları elde edememiştir. Bu koşullar altında, mercimek ıslahı için biyoteknolojik yaklaşımlar önemini arttırmaktadır. Nitekim, uygun in vitro rejenerasyon sistemleri geliştirmek ve mercimek iyileştirme programlarına biyoteknoloji uygulama olasılığını araştırmak için daha önce bir dizi çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte, özellikle etkili bir in vitro kök gelişim sisteminin geliştirilmesine ilişkin olarak, inatçı doğası nedeniyle mercimek biyoteknolojik yöntemlerle iyileştirilmesinin zor olduğu kanıtlanmıştır (Sharker ve ark., 2012).

Mercimek gibi yüksek oranda kendi kendine tozlaşan türlerde yapay melezleme, ıslahta varyasyon elde etmek için önemli bir uygulamadır. Bazı bitki taksonlarında, polen çimlenmesi ve polen tüpü büyümesi, ilgili türler arasındaki üreme uyumsuzluğuna katkıda bulunur ve bu durum prezigotik engellerden kabul edilir (Fratini ve ark., 2006).

Islah öncesi yetiştiricilikte karşılaşılan bazı sorunlar, tohumdan tohuma olan döngünün uzunluğu (Bermejo ve ark., 2016) ve az sayıdaki ıslah materyalinin ıslah programlarında tekrar tekrar kullanılması nedeniyle genetik tabanın darlığı söz konusudur. Klasik ıslahın kullandığı geleneksel yöntemlerin karşılaştığı sorunlar in vitro (doku kültürü vb.) yeni teknolojilerin kullanılmasıyla çözülebilecektir (Gatti ve ark., 2016).

Bu yeni yöntemlerden biri de anter ve polen kültürüdür. Bitki ıslahı programlarında klasik yöntemler ile (Seçim, Melezleme vb.) bitkiye göre değişmekle birlikte dördüncü (f4) veya beşinci (f5) nesilden sonra istenilen saflığa (homozigotluk oranına) ulaşılabilen yumurtalık, anter ve polen kültürleri ile bu saflığa birinci (f1) nesilde ulaşılabilir (van Rheenen ve ark., 1988).

Bu nedenle haploitlerin ve dihaploitlerin çok sayıda üretimi bitki ıslahçıları için çok önemlidir (Sangwan ve Sangwan-Norreel, 1990). Haploid bitkiler, döllenme olmaksızın erkek veya dişi gametlerden geliştikleri için hücresel totipotensin mükemmel bir örneğini sağlarlar (Powell, 1990).

Bitki üreme biyolojisi, üretkenlik üzerinde büyük etkisi olan önemli bir gelişim sürecidir. Polen tanelerinin oluşumu, anter içindeki polen ana hücrelerin vejetatif ve generatif hücrelere farklılaşmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Polen gelişimi ve dışının stigmatında çimlenmesi, sıcaklık, su durumu, UV-b radyasyonları ve besin kaynağı gibi çeşitli çevresel koşullar tarafından belirlenir (Pandey ve ark., 2006).

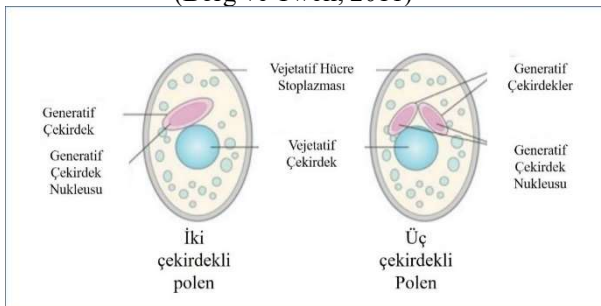
İn vitro yaklaşımların çoğuna karşı inatçı yapıları ile iyi bilinen baklagillerde double haploid uygulaması baklagil yetiştirme programlarında rutin olarak kullanılmamaktadır (Croser ve ark., 2007). Mercimek (*Lens culinaris* Med.) baklagiller içerisinde haploit üretiminde en sorunlu olan tür olarak bilinmektedir (Deswal, 2018).

Bu derlemenin amacı, Dünyada ve ülkemizde önemli bir tarımsal ürün olan mercimek (*Lens culinaris* Medik.) bitkisinin ıslahında polen özelliklerinin etkisi ve polen gelişimine etki eden faktörlerin etki mekanizmalarını ortaya koyarak bitki ıslahında kullanılan anter ve polen kültüründe avantaj sağlayabilecek uygulamaları tartışmaktır.

## 2. POLEN MORFOLOJİSİ

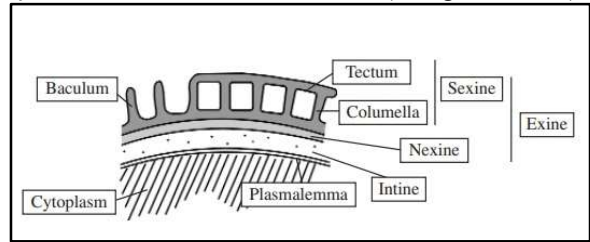
Polen kelimesinin Yunanca da “serpmek-yaymak” anlamına gelen paluno veya palunein kelimesinden geldiği düşünülmektedir (Grant-Downton, 2009). Polen taneleri, eşeyli üreme için gerekli olan erkek gametleri üreten tohumlu bitkilerin mikro gametofitleridir (erkek eşey hücreleri). Polen hücrelerini oluşturmak için birkaç hücre bölünmesini tamamlayan endosporik bir mikrogametofitin sporofitik tutulması ve hücre duvarının farklılaşması ile gymnospermlerin (açık tohumlular) ve angiospermlerin (kapalı tohumlular) sahip oldukları polen şekline sahip olmuşlardır. Angiospermlerde polen olgunlaştığında iki çekirdekli (bicellular) veya üç (tricellular) çekirdekli haploid şeklindedir (Şekil 1). Her iki polen türü de tek bir kompakt üretici (veya germ) hücre veya iki sperm hücresi içeren büyük bir vejetatif hücreye sahiptir (Borg ve Twell, 2011).

Şekil 1. Farklı Çekirdek Sayılarına Sahip Polenler (Borg ve Twell, 2011)



Canlı polen tanesinde duvar iki katmandan oluşur; dış katmana exine adı verilir ve çok sıra dışı bir madde olan ve kimyasal olarak en durağan biyolojik polimerlerden biri olan sporopollenin'den oluşur. İç katman yapı olarak selülozdan oluşan ve hücre duvarına benzeyen ve intine denilen bir maddeden oluşmaktadır (Şekil 2). Işık mikroskobu altında polenin tanımlanmasında kullanılan duvar kısmı exine dir ve intine üstünde bulunan sexine ve nexine adlı iki kısımdan oluşmaktadır (Frenguelli, 2004).

Şekil 2. Polen duvarı ve Kısımları (Frenguelli, 2004)



Polen duvarında açıklık (aperture) denilen, polen duvarının morfolojisi veya anatomisi bakımından duvarın geri kalanından önemli ölçüde farklı olan ve genellikle çimlenme yeri olarak işlev gördüğü ve uyumda rol oynadığı varsayılan bir yapı bulunmaktadır (Edlund ve ark., 2004). Polen tanelerinin ve sporların çimlenme noktaları olan açıklıkların (aperture) spesifik yapısal özellikleri, polen tanelerinin veya sporların ait olduğu taksonun belirlenmesine izin veren temel özelliklerdir. Farklı türlerdeki açıklıklar arasında bağlantıların kurulması, cinslerin, familyaların ve hatta daha yüksek bitki taksonlarının evriminin seyrini izlemeye yardımcı olabilir. Angiospermlerin (kapalı tohumlular) polen tanelerinin açıklık tipi sayısı diğer bitki gruplarındakine karşılaştırıldığında oldukça fazladır (Kupriyova, 1967).

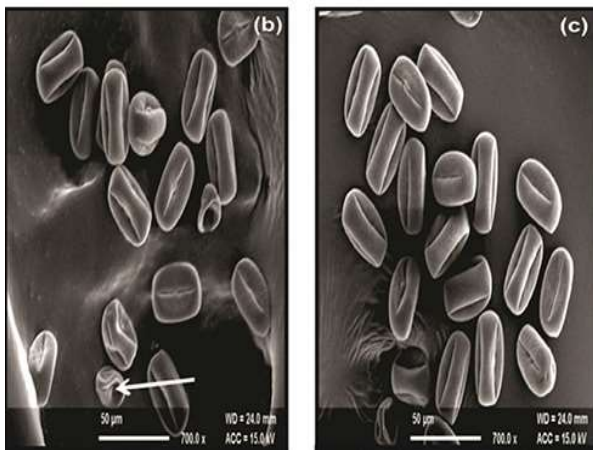
Söz konusu açıklıklar gözenek (pori/porus) ve oluk (colpi) olarak ifade edilebilirler. Polenler bu açıklıklara göre isimlendirilebilirler. Sadece gözeneklere (pori/porus) sahip polenlere porat, sadece oluklara (colpi) sahip polenlere colpate, hem gözenekli (pori/porus) hem de oluklara (colpi) sahip polenlere ise colporat denilmektedir. Gözenek (pori/porus) ve olukların (colpi) yüzeyde dağılımlarına göre de farklı isimlendirmeler yapılmaktadır. Eğer gözenek (pori/porus) ve oluklar (colpi) ekvatorial düzlemde dizilmişler ise bu polen tipine Prefix-zono/stephano, gözenek veya oluklar tüm yüzeyde dağılım gösteriyorsa bu tip polenlere Prefix-panto, gözenek (pori/porus) veya oluklar (colpi) kutup düzleminde yer alıyorsa bu tür polenlere de Prefix-axi denilmektedir (Şekil 3) (Frenguelli, 2004).

Şekil 3. Açıklıkların sayısı ve düzenine göre polen türlerinin sınıflandırılması (Noktalı çizgiler farklı bir odak düzlemini gösterir) (Frenguelli, 2004).

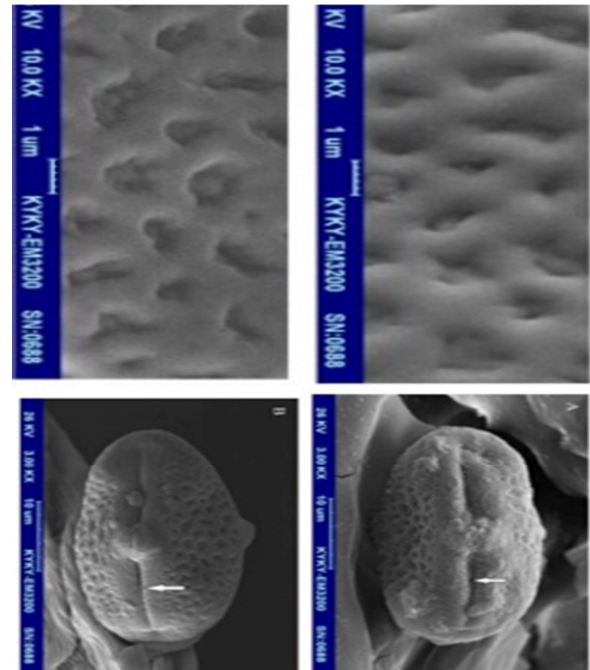
	DI-		TRI-		TETRA-		PENTA-		HEXA-		POLY-	
	polar	eq.	polar	eq.	polar	eq.	polar	eq.	polar	eq.	polar	eq.
ZONOPORATE												
	e.g. <i>Colchicum</i>		e.g. <i>Betula</i>		← e.g. <i>Alnus, Ulmus</i> →							
ZONOCOLPATE												
	e.g. <i>Tofieldia</i>		e.g. <i>Acer</i>		e.g. <i>Hippuris</i>		← e.g. <i>Labiatae, Rubiaceae</i> →					
ZONOCOLPORATE												
		e.g. <i>Parnassia</i>		e.g. <i>Rumex</i>		e.g. <i>Viola</i>		e.g. <i>Sanguisorba</i>		e.g. <i>Urticularia</i>		
PANTOPORATE												
		← e.g. <i>Urtica</i> →		e.g. <i>Plantago</i>						Chenopodiaceae		
PANTOCOLPATE												
			e.g. <i>Ranunculaceae</i>			e.g. <i>Spergula</i>		e.g. <i>Polygonum amphibium</i>				
PANTOCOLPORATE												
			e.g. <i>Rumex</i>			e.g. <i>Polygonum raii</i>						

Mercimek polen yüzeyi açıklığı bakımından tricolpate (üç kanallı) ve ağsı (Şekil 4) özelliği taşımaktadır (Şekil 5) (Sita ve ark., 2017; Azimi ve ark., 2018).

Şekil 5. Mercimek Polenini SEM İmajı (Sita ve ark., 2017).



Şekil 4. Mercimek Polen Yüzeyi SEM İmajı (Azimi ve ark., 2018).



### 3.MERCİMEKTE POLEN MORFOLOJİSİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

#### 3.1. Sıcaklığın Etkileri

Yaprak ve polen özelliklerinden yüksek sıcaklıklara dayanıklı mercimek genotiplerinin belirlenmesi amacı ile yapılan bir çalışmada sıcaklık stresi altında sıcaklığa toleranslı genotiplerde önemli ölçüde daha yüksek polen çimlenmesi, polen canlılığı, yumurta canlılığı, stil boyunca polen tüpü büyümesi ve bakla bağlamanın olduğu belirtilmiştir (Sita ve ark., 2017). Isı stresine önemli oranda duyarlı olan mercimek stres koşullarında (35/25 0C) önemli oranda biyokütlede azalma, polen canlılığı, çimlenme, polen tüpü büyümesi ve stigma üzeri işlevler ile ilgili sorunlar göstermiştir (Bhandari ve ark., 2020). Bir başka çalışmada dokuz mercimek genotipinin in vitro polen çimlenmesi ile ısı stresine toleransını değerlendirmek için yapılan bir çalışmada varyans analizi yapılmış ve polen çimlenme yüzdesi ve tüp büyümesi için genotipler arasında önemli farklılıkların olduğu bildirilmiştir (Barghi ve ark., 2013).

Agwaral (2016) mercimek bitkisinde geç ekim yapmak sureti ile sıcaklığın etkisini araştırdığı (>32/20oC) çalışmasında bakla teşekkülünde, polen canlılığı, yükü ve çimlenmesinde azalmaların olduğunu bildirmiştir. Bir çalışmada birinci uygulama olarak mercimek tohumlarına ön uygulama (priming) şeklinde 6 saat süresince 35 0 C sıcaklık uygulanmış, ikinci uygulamada ise yapraktan iki farklı zamanda 1 mM yoğunluğunda  $\gamma$ -aminobutyric asit (GABA) tatbik edilmiştir. Bu uygulamaların ısı stresine hassas ve dayanıklı hatlarda etkileri araştırılmış polen tanelerinin çimlenmesi ve canlılığı, stigmanın alıcılığı ve yumurtaların canlılığı olarak ölçülen üreme işlevi, her iki uygulamanın birlikte tatbik edilmesi ile önemli ölçüde iyileştirildiği, bununla bakla sayısının artmasıyla sonuçlandırıldığı ifade edilmiştir (Bhardwaj ve ark., 2021).

20 genotip ve üç farklı ekim tarihi ile yapılan bir çalışmada, ekimlerdeki gecikme nedeniyle, oldukça yüksek bir sıcaklık döneminin genellikle mercimek çiçeklenme ve tane doldurma evrelerine denk geldiği ve sonuçta çiçek ve bakla düşmesine neden olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada farklı sıcaklıklarda polen çimlenmesinin önemli ölçüde değiştiği, artan sıcaklıklarda polen tüpü spiralleşip kıvrıldığı ve sıcaklığın daha da artması polenin patlamasına neden olduğu, mercimek ILL-10893 ve L-13-113 genotiplerinin üreme evresindeki erkenciliğe bağlı olarak ısı stresinden kurtulduğu tespitler arasında yer almıştır (Baidya ve ark., 2021).

#### 3.2. Kültürel Uygulamaların Etkileri

Mercimekte çiçeklenme zamanı ile fonksiyonel belirteçlerin ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada lokasyon ve yıl gibi farklı koşulların çiçeklenme zamanı üzerinde önemli etkileri olduğu ifade edilmiştir (Kumar ve ark., 2018). Bir başka çalışmada

mercimekte yıl ve lokasyonun çiçeklenme zamanı ile ilişkili ana kantitatif özellikleri belirlenemeye çalışılmış ve yapılan varyans analizi sonrasında çiçeklenme zamanı üzerinde bütün yıl ve lokasyonların önemli oranda etkide bulunduğu bildirilmiştir (Kahriman ve ark., 2015).

Rhizobium inokulasyonu ve 50 kg/ha N uygulamasının kontrol ile kıyaslandığı bir başka çalışmada sekiz mercimek çeşidinde yaprakta, gövdede ve baklada biriken kuru madde ve N miktarları ölçülmüş çiçeklenme sonrasında her iki ölçülen için %85'den fazla oranda biriktiği gözlemlenmiştir (Zakeri ve Bueckert, 2015).

Başka bir çalışmada polenin morfolojik ve in vitro çimlenme özellikleri farklı mercimek (*Lens culinaris* Medik.) çeşitleri ve yabani türler arasında morfolojik bir karşılaştırma yapmak ve ayrıca morfolojik ve fonksiyonel istatistikleri çaprazlama başarısına ilişkin verilerle ilişkilendirmek için pistil ve stil uzunluğu ile birlikte analiz edilmiştir. Çalışmada farklı genotiplerde polen uzunluğu ve genişliğinin pistil ve stil uzunluğu ve in vitro polen tüp uzunluğu ile pozitif ve oldukça anlamlı bir korelasyona sahip olduğu bulunmuştur. (Frattini ve ark., 2006).

Manyetik olarak artırılmış suyun vejetatif büyüme hızı ve üreme organlarının gelişim aşamaları ve polen tanesinin (*Lens culinaris* L.) üst yapısı üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan diğer bir çalışmada sonuçlar, manyetik olarak işlenmiş su ile sulamanın mercimek çiçeklenme hızını arttırdığını göstermiştir. Çalışmada ağsı mimariye sahip tricolpate (üç oluklu) mercimek polen tanelerinin ağsı yapısı, manyetik olarak artırılmış su ile sulanan bitkilerde kontrol bitkilerine göre daha kalın ve daha geniş bulunmuştur (Azimi ve ark., 2018).

Mercimekte Gamma ışını uygulamasının mutant erkek kısır bitki elde edilmesinde kullanımına yönelik yapılan çalışmada 100 Gy doz gamma ışınlanması sonrasında tamamen erkek kısır mutant elde edilmiştir. Işın uygulaması sonrasında çiçek boyutu artış gösterirken anter boyutu azalma göstermiştir. Yine mutant erkek kısır bitkilerin polen tanelerinin sayıca az, yuvarlak şekilli fakat içinin boş olduğu ve boyar maddeye tepki vermediği görülmüştür (Sirivastava ve Yadav, 2001).

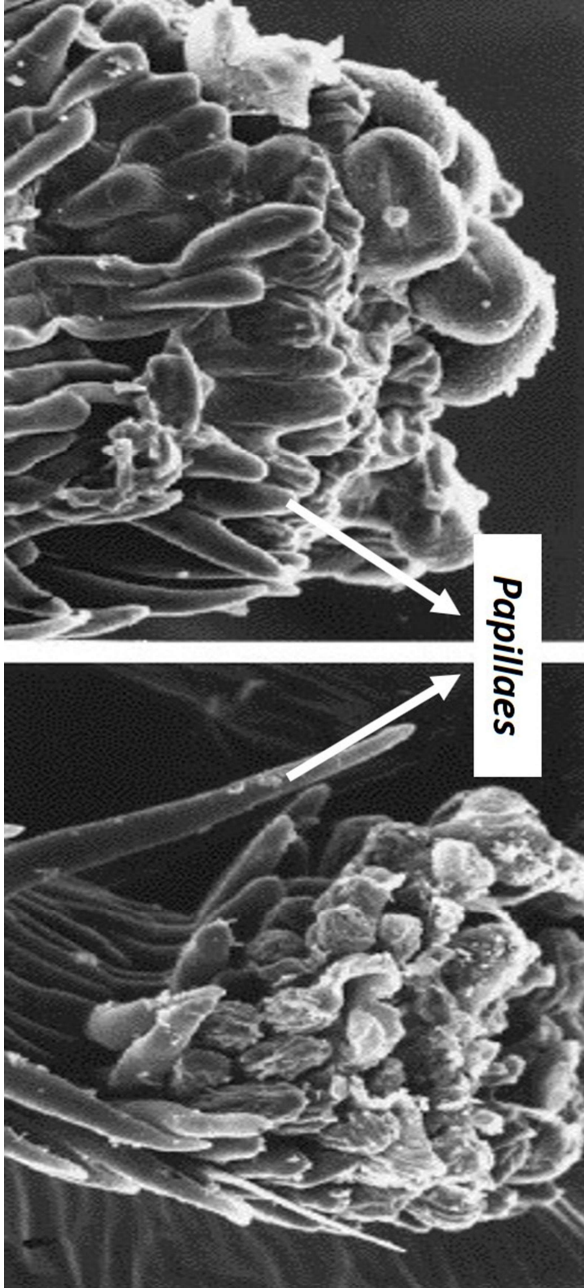
Çinko bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda esansiyel bir besin maddesidir. İnsanda Zn eksikliği, fiziksel büyüme, bağışıklık sistemi ve öğrenme kapasitesi, DNA hasarı ve kanser gelişimi gibi ciddi sağlık komplikasyonlarına neden olur. Dünya nüfusunun %30'undan fazlasının Zn eksikliği olduğu ve Zn eksikliğinin dünyada hastalık veya ölüme neden olan 11. en önemli faktör olduğu bildirilmiştir (Toğay ve ark., 2018).

Çinko, mercimekte polen işlevi için gereklidir, çünkü Çinko'nun düşük arzı, polen tanelerinin çimlenmesini, boyutlarını ve canlılığını, anterlerin boyutunu, polen tüplerinin büyümesini, polen üretme kapasitesini, tohumların yerleşmesini ve canlılıklarını etkileyebilir (Ahmad ve ark., 2017).

Mercimekte polen fonksiyonu ve gübreleme için çinkonun önemini araştırdığı bir çalışmada düşük

Zn uygulamasını (0,1 µmol/L) anterlerin boyutunu, polen üretme kapasitesini ve polen tanelerinin boyutunu ve canlılığını azalttı bildirilmiştir. Çalışmada in vitro koşullarda polen tanelerinin çimlenmesinin çinko eksikliği durumunda %50 oranında azaldığı da bulgular arasında yer almıştır. Çinko yeterli bitkilerin aksine çinko yetersiz bitkiler stigmatik papillaların (Şekil 6) etrafındaki kütikül tabakanın bozulmadan kaldığı, polen tanesi ile stil boyunca polen tüpünün gelişimini sağlayan stigmatik salgılar arasındaki ilişkinin bozulmasıyla gelişimin engellendiği, sonuç olarak, polen tanelerinde indüklenen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler ve Zn eksikliği olan bitkilerin stigmaları ve buna bağlı olarak mercimek tohum tutumundaki azalma, polen fonksiyonu ve döllenme için kritik bir Zn gereksinimine işaret ettiği bulgusuna ulaşılmıştır (Pandey ve ark., 2006).

Şekil 6. Stigmatik Papillalar (Pandey ve ark., 2006)



Kabak bitkisinde (Cucurbita pepo ) toprak fosforunun polen üretimi, polen tane boyutu, polen tanesi başına fosfat konsantrasyonu ve polenin üreme yeteneği üzerindeki etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada fosfor yeterli bitkiler tarafından üretilen polenin, fosfor yetersiz bitkiler tarafından üretilen polenden önemli ölçüde daha fazla tohum ürettiği belirlenmiştir. Fosfor gübresi uygulamasının polen büyüklüğü (en/boy) üzerinde çok önemli ( $p<0,01$ ) etkiye bulunduğu ifade edilmiştir (Lau ve Stephenson, 1994).

Başka bir çalışmada toprak verimliliğinin (iki seviye toprak azotu ve iki seviye toprak fosforu) ve mikorizal uygulamanın polen üretimi ve polen tane büyüklüğü üzerindeki etkileri, iki adet kabak (Cucurbita pepo) çeşidinde incelenmiştir. Çalışmada N uygulamaları arasında çiçek başına polen sayısı bakımından çok önemli ( $p<0,01$ ), polen çapları bakımından önemli ( $p<0,05$ ) farklılıklar belirlenmiştir. Mikoriza uygulamaları arasında ise çiçek başına polen sayısı bakımından istatistiksel manada önemli bir fark belirlenemez iken polen çapları bakımından önemli ( $p<0,05$ ) farklılık bulunmuştur. Fosfor uygulamaları arasında da mikorizaya benzer olarak çiçek başına polen sayısında bir farklılık belirlenememiş, polen büyüklükleri bakımından ise çok önemli ( $p<0,01$ ) farklılık tespit edilmiştir (Lau ve ark., 1995).

Domates bitkisinde yapılan bir diğer çalışmada mikorizal uygulamanın ve fosfor uygulamasının bitkisel vegetatif ve generatif özelliklerine etkileri incelenmiş ve inceleme sonucunda her iki uygulamanın (mikoriza ve yüksek fosfor) bitki başına polen üretimini ve çiçek başına ortalama polen üretimini artırdığı belirlenmiştir (Poulton ve ark., 2002).

İki farklı elma çeşidinde (Jerseymac ve Golden Delicious) 2001-2005 yılları arasında Eğridir lokasyonunda yürütülen bir çalışmada ağaç başına 0-30-60 ve 90 gr N uygulaması yapılmış ve polen üretimine olan etkisi araştırılmıştır. 60 g N uygulamasının polen miktarı ve polen çimlenme oranlarını artırdığı belirlenmiştir (Atasay ve ark., 2013).

Gübrelemenin mercimek polen morfolojisine etkileri ile ilgili yapılan literatür taramalarında çinko harici bir elementin etkisini belirten literatüre rastlanılmamıştır. Bu nedenle diğer bitkilerden literatürlere yer verilmiştir.

#### 4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünyada ve ülkemizde önemli bir baklagil bitkisi olan mercimek ile ilgili ıslah çalışmalarında geleneksel ıslah yöntemleri genetik tabanın darlığından dolayı uygulama sorunları yaşamaktadır. Bu sorunların aşılması adına doku, anter, polen ve yumurtalık kültürü ve gen aktarımları gibi yöntemler kullanılmaktadır. İn vitro yaklaşımların çoğuna karşı inatçı yapıları ile iyi bilinen baklagillerde double haploid uygulaması baklagil yetiştirme programlarında rutin olarak kullanılmamaktadır. Mercimek baklagiller içerisinde haploid üretiminde en sorunlu olan tür olarak bilinmektedir. Bu nedenlerle

mercimek ıslahında başarıyı arttırmak adına mercimek polen morfolojisinin ve polen gelişimini etkileyen faktörlerin bilinmesi önemlidir. Literatürler değerlendirildiğinde invitro polen uygulamalarında önemli olan polen sayı ve büyüklüklerinin çevre, kültürel uygulamalar (ekim zamanı, lokasyon, çeşit, gübre vs) ve özellikle sıcaklık koşullarından etkilendiği görülmektedir. Bu bağlamda çevre şartlarını iyileştirme ile biyoteknolojik uygulamaların daha sağlıklı yürütülebileceği görülmektedir. Yapılan literatür taramalarında gübre uygulamaları ile ilgili fazla bir çalışmaya rastlanmaması bu alandaki yeni çalışmalara daha fazla ihtiyacın olduğunu bizlere göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Abraham, R., 2015. Lentil (*Lens culinaris Medikus*) Current status ve future prospect of production in Ethiopia. *Adv Plant Agric Res*, 2, 0004.
- Agrawal, S. K., 2016. Effects of heat stress on physiology ve reproductive biology of chickpea ve lentil. <https://hdl.handle.net/20.500.11766/6324>
- Ahmad, W., Arshad, I. R., Naeem, M., Hussain, S., ve Khan, F., 2017. Lentil Yield ve Nodulation In Response To Foliar S ve Zn Combined With NPK ve Their Interaction With Farmyard Manure. *Pakistan Journal of Agriculture, Agricultural Engineering ve Veterinary Sciences*, 33(2), 201-211.
- Alam, A. K. M. M., Podder, R., ve Sarker, A., 2011. Estimation of genetic diversity in lentil germplasm. *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 33(2), 103-110.
- Atasay, A., Akgül, H., Uçgun, K., ve Şan, B., 2013. Nitrogen fertilization affected the pollen production ve quality in apple cultivars "Jerseymac" ve "Golden Delicious". *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B–Soil & Plant Science*, 63(5), 460-465.
- Azimi, N., Majd, A., Nejadstari, T., Ghanati, F., ve Arbabian, S., 2018. Effects of magnetically-treated water on vegetative growth period, development of gynoecium ve anther, ve ultrastructure of pollen grains of lentil (*Lens culinaris L.*). *Developmental Biology*, 9(3), 23-32.
- Baidya, A., Pal, A. K., Ali, M. A., ve Nath, R., 2021. High-temperature Stress ve the Fate of Pollen Germination ve Yield in Lentil (*Lens culinaris Medikus*). *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(2).
- Barghi, S. S., Mostafaii, H., Peighami, F., Zakaria, R. A., ve Nejjhad, R. F., 2013. Response of in vitro pollen germination ve cell membrane thermostabilty of lentil genotypes to high temperature. *International Journal of Agriculture*, 3(1), 13.
- Bermejo, C., Gatti, I., ve Cointry, E., 2016. In vitro embryo culture to shorten the breeding cycle in lentil (*Lens culinaris Medik*). *Plant Cell, Tissue ve Organ Culture (PCTOC)*, 127(3), 585-590.
- Bhandari, K., Sita, K., Sehgal, A., Bhardwaj, A., Gaur, P., Kumar, S. ve Nayyar, H., 2020. Differential heat sensitivity of two cool-season legumes, chickpea ve lentil, at the reproductive stage, is associated with responses in pollen function, photosynthetic ability ve oxidative damage. *Journal of Agronomy ve Crop Science*, 206(6), 734-758.
- Bhardwaj, A., Sita, K., Sehgal, A., Bhandari, K., Kumar, S., Prasad, P. V., ve Nayyar, H., 2021. Heat Priming of Lentil (*Lens culinaris Medik.*) Seeds ve Foliar Treatment with  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA), Confers Protection to Reproductive Function ve Yield Traits under High-Temperature Stress Environments. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5825.
- Borg, M., ve Twell, D., 2011. Pollen: structure ve development. *eLS*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0002039.pub2>.
- Cokkizgin, A., ve Shtaya, M. J., 2013. Lentil: Origin, cultivation techniques, utilization ve advances in transformation. *Agricultural Science*, 1(1), 55-62.
- Deswal, K., 2018. Progress ve opportunities in double haploid production in lentil (*Lens culinaris Medik.*), soybean (*Glycine max L. Merr.*) ve chickpea (*Cicer arietinum L.*). *J Pharmacogn Phytochem*, 7(3), 3105-3109.
- Edlund, A. F., Swanson, R., ve Preuss, D., 2004. Pollen ve stigma structure ve function: the role of diversity in pollination. *The Plant Cell*, 16(suppl\_1), S84-S97.
- Erskine, W., Muehlbauer, F. J., ve Short, R. W., 1990. Stages of development in lentil. *Experimental Agriculture*, 26(3), 297-302.
- Erskine, W., Muehlbauer, F. J., Sarker, A., ve Sharma, B., 2009. The lentil: botany, production ve uses. Pg:41-42. ISBN-13: 978 1 84593 487 3
- FAO, 2019. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Erişim Tarihi: 14.08.2021
- Fratini, R., García, P., & Ruiz, M. L., 2006. Pollen ve pistil morphology, in vitro pollen grain germination ve crossing success of *Lens* cultivars ve species. *Plant breeding*, 125(5), 501-505.
- Frenguelli, G., 2004. Pollen structure ve morphology. *Advances in Dermatology ve Allergology/Postępy Dermatologii Alergologii*, 20(4), 200-204.
- Gatti, I., Guindón, F., Bermejo, C., Espósito, A., ve Cointry, E., 2016. In vitro tissue culture in breeding programs of leguminous pulses: use ve current status. *Plant Cell, Tissue ve Organ Culture (PCTOC)*, 127(3), 543-559.
- Grant-Downton, R., 2009. Pollen terminology. *An illustrated handbook. Annuals of Botany, Volume 105, Issue 2, February 2010, Pages viii–ix*. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp289>
- Kahriman, A., Temel, H. Y., Aydoğan, A., ve Tanyolac, M. B., 2015. Major quantitative trait loci for flowering time in lentil. *Turkish Journal of Agriculture ve Forestry*, 39(4), 588-595.
- Kumar, J., Srivastava, E., Singh, M., Mahto, D., Pratap, A., ve Kumar, S., 2014. Lentil. In *Alien Gene Transfer in Crop Plants, Volume 2* (pp. 191-205). Springer, New York, NY.
- Kumar, J., Gupta, S., Biradar, R. S., Gupta, P., Dubey, S., ve Singh, N. P., 2018. Association of functional markers with flowering time in lentil. *Journal of applied genetics*, 59(1), 9-21.
- Kuprianova, L. A., 1967. Apertures of pollen grains ve their evolution in angiosperms. *Review of Palaeobotany ve Palynology*, 3(1-4), 73-80.
- Ladizinsky, G., 1979. The origin of lentil ve its wild genepool. *Euphytica*, 28(1), 179-187.
- Lau, T. C., ve Stephenson, A. G., 1994. Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, ve the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (*Cucurbitaceae*). *Sexual Plant Reproduction*, 7(4), 215-220.
- Muehlbauer, F. J., Slinkard, A. E., ve Wilson, V. E., 1980. Lentil. Hybridization of *Crop Plants*, 417-426.
- Muehlbauer, F. J., ve McPhee, K. E., 2005. Lentil (*Lens culinaris Medik.*). *Genetic resources ve chromosome*

- engineering ve crop improvement. *Grain legumes, 1*, 219-230.
- Oliveira, H. R., Liber, M., Duarte, I., ve Maia, A. T., 2021. The history of lentil (*Lens culinaris subsp. culinaris*) domestication ve spread as revealed by Genotyping-by-Sequencing of wild ve landrace accessions. *Frontiers in Plant Science*, 12, 355.
- Pandey, N., Pathak, G. C., ve Sharma, C. P., 2006. Zinc is critically required for pollen function ve fertilisation in lentil. *Journal of Trace Elements in Medicine ve Biology*, 20(2), 89-96.
- Poulton, J. L., Bryla, D., Koide, R. T., ve Stephenson, A. G., 2002. Mycorrhizal infection ve high soil phosphorus improve vegetative growth ve the female ve male functions in tomato. *New Phytologist*, 154(1), 255-264.
- Powell, W., 1990. Environmental ve genetical aspects of pollen embryogenesis. In *Haploids in Crop Improvement*, Edited by: YPS, B. 45-65. Berlin: Springer-Verlag. vol 12.
- Roy, S., Islam, M. A., Sarker, A., Malek, M. A., Rafii, M. Y., ve Ismail, M. R., 2013. Determination of genetic diversity in lentil germplasm based on quantitative traits. *Australian Journal of Crop Science*, 7(1), 14-21.
- Sangwan, R. S., ve Sangwan-Norreel, B. S., 1990. Anther ve pollen culture. In *Developments in crop science (Vol. 19, pp. 220-241)*. Elsevier.
- Sehgal, A., Sita, K., Rehman, A., Farooq, M., Kumar, S., Yadav, R., ve Siddique, K. H., 2021. Lentil. In *Crop Physiology Case Histories for Major Crops (pp. 408-428)*. Academic Press.
- Sharma, S. K., Dawson, I. K., ve Waugh, R., 1995. Relationships among cultivated ve wild lentils revealed by RAPD analysis. *Theoretical ve Applied Genetics*, 91(4), 647-654.
- Sarker, R. H., Das, S. K., ve Hoque, M. I., 2012. In vitro flowering ve seed formation in lentil (*Lens culinaris Medik.*). In *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 48(5), 446-452.
- Srivastava, A., ve Yadav, A. K., 2001. Gamma ray induced male sterility mutant in lentil. *International Atomic Energy Agency (IAEA). Report Number: INIS-XA—427. Seibersdorf (Austria); 56 p; Jul 2001; p. 22-23; 5 refs.*
- Sita, K., Sehgal, A., Kumar, J., Kumar, S., Singh, S., Siddique, K. H., ve Nayyar, H., 2017. Identification of high-temperature tolerant lentil (*Lens culinaris Medik.*) genotypes through leaf ve pollen traits. *Frontiers in plant science*, 8, 744.
- Toğay, Y., Toğay, N., & Gülser, F., 2018. Effects of Zinc Applications on Nutrient Contents of Up Ground Parts in Lentil (*Lens Culinaris Medic.*) Varieties. *Yüüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(5), 268 - 275.
- van Rheenen, H. A., Bond, D. A., Erskine, W., ve Sharma, B., 1988. Future breeding strategies for pea, lentil, faba bean ve chickpea. In *World crops: Cool season food legumes (pp. 1013-1029)*. Springer, Dordrecht.
- Zakeri, H., ve Bueckert, R., 2015. Post-flowering biomass ve nitrogen accumulation of lentil substantially contributes to pod production. *Crop science*, 55(1), 411-419.