

**T.C**  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRAKYA BÖLGESİNDEKİ GRAMİNEAE FAMILYASINA**  
**AİT, BAZI TÜRLERİN POLEN MORFOLOJİSİNİN**  
**İNCELENMESİ VE POLEN**  
**EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI**

**EVREN CABİ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**  
**DANIŞMAN: PROF. DR. GÖKSEL OLGUN**  
**2005**  
**EDİRNE**

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRAKYA BÖLGESİNDEKİ GRAMİNEAE FAMILİYASINA AİT, BAZI TÜRLERİN  
POLEN MORFOLOJİSİNİN İNCELENMESİ VE  
POLEN EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI**

**Evren CABİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**Danışman: Prof. Dr. Göksel OLGUN**

Bu tez 29.09.2005 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. Göksel OLGUN**

**Prof. Dr. Sevil PEHLİVAN**

**Doç. Dr. Feruzan DANE**

**EDİRNE-2005**

**T.C**  
**TRAKYA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRAKYA BÖLGESİNDEKİ GRAMİNEAE FAMILİYASINA AİT, BAZI TÜRLERİN**  
**POLEN MORFOLOJİSİNİN İNCELENMESİ VE**  
**POLEN EKSTRELERİNİN HAZIRLANMASI**

**Evren CABİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**BIYOLOJİ ANA BİLİM DALI**  
**Danışman: Prof. Dr. Göksel OLGUN**

**2005**

**EDİRNE**

**(Yüksek Lisans Tezi)****“Gramineae Familyasına ait Bazı Türlerin Polen Morfolojisinin İncelenmesi ve  
Polen Ekstrelerinin Hazırlanması”****Trakya Üniversitesi****Fen Bilimleri Enstitüsü****Biyoloji Anabilim Dalı****ÖZET**

Bu çalışmada, Trakya bölgesinde üretimi yapılan, Gramineae familyasına ait 5 türün (*Avena sativa* L., *Triticum aestivum* L., *Secale cereale* L., *Hordeum vulgare* L., *Oryza sativa* L.) alerjen polenlerinin morfolojileri ışık ve elektron mikroskobu ile incelenmiş ve bu türlerden polen ekstreleri hazırlanmıştır.

Morfolojik çalışmalarda kullanılan materyaller, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Polen preparatları, Wodehouse (1935) metoduyla hazırlanmış, polenlerin morfolojik özellikleri ışık ve elektron mikroskobunda saptanmış, daha sonra mikrofotografaları çekilmiştir.

Işık mikroskobu ile yapılan morfolojik çalışmalar sonucunda, polen boyutlarının, türler arasında farklılıklar gösterdiği ve polenlerin ortak özellikleri olarak sphaeroidea, oblata-sphaeroidea, monoporate, operculate ve ekzin'in tectatae olduğu belirlenmiştir.

SEM incelemelerine göre *Avena sativa* L., *Triticum aestivum* L., *Secale cereale* L. ve *Hordeum vulgare* L. için ekzin skulptürleri spinulose iken *Oryza sativa* L.'da granüle olduğu görülmüştür.

Toplanan polenlerin ekstrelerinin hazırlanması için Aytuğ ve Arkadaşları (1991) tarafından uygulanan ekstraksiyon yöntemi kullanılmış, ekstraktif olarak Coca solüsyonu ve sterilizasyon için steril filtrasyon tekniği uygulanmıştır.

Elde edilen ham polen ekstreleri bu bölge florasında yetişmiş olan bitkilere aittir. Alerjik hastalıkların teşhisinde yararlanabileceğimiz bu ham ekstraktlar birçok major ve minör alerjenler içermektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgular hem sistematik çalışmalara katkı sağlama hemde polenlerden kaynaklanan alerjik hastalıkların tedavisine yardımcı olacak niteliktedir.

Yıl: 2005

Sayfa Adeti: 40

**Anahtar kelimeler:** Gramineae, polen morfolojisi, SEM, polen ekstraksiyon

(Ms Thesis)

**“An Examination of Pollen Morphology of Some Species Belonging to Gramineae  
Family and Preparation of Pollen Extracts ”**

**Trakya University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology**

**SUMMARY**

In this research, the morphology of allergen pollens of five species (*Avena sativa* L., *Triticum vulgare* L., *Secale cereale* L., *Hordeum vulgare* L., *Oryza sativa* L.) belonging to Gramineae family which is cultivated in Trakya region have been examined through light and electron microscopes and pollen extracts of these species have been prepared.

The materials used in morphological studies were gained from Trakya Agricultural Research Institute. Pollen preparations have been made through Wodehouse (1935) method, morphological features of the pollen grains have been determined through light and electron microscopes and then photomicrographs of pollens were taken.

As a result of the morphological studies of pollens with light microscope, it has been understood that pollens' size showed differences among species and as common features of pollens it were determined sphaeroidea, oblata-sphaeroidea, monoporate, operculate and exine were tectatae.

According to SEM examinations while exine sculptures were spinulose for *Avena sativa* L., *Triticum vulgare* L., *Secale cereale* L. and *Hordeum vulgare* L, granule was observed in *Oryza sativa* L.

The extraction method which was applied by Aytuğ et. al. (1991) was used for preparing the extracts of collected polen, as an extractive Coca solution and for sterilization sterile filtration technique were used.

The crude polen extracts which were obtained belongs to plants grown in this region. These crude extracts ,we can use them for diagnosis allergic diseases, include lots of major and minor allergens. The findings of this study can both contribute to systematical studies and help the treatment of allergies that stem from pollens.

Year: 2005

Page Number: 40

**Key words:** Gramineae, pollen morphology, SEM, polen extraction

## ÖNSÖZ

Alerjenler spesifik IgE ( İmmüoglobulin E ) antikorunu oluşumunu uyaran ve bu antikor ile reaksiyona giren antijenler olarak tanımlanabilirler. Alerjene duyarlı bir kişide alerjenin etkisinde kalma, dünya popülasyonunun üçte birini etkileyen, alerjik solunum yolu hastalıklarının gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. 1873 yılında Charles Blackley'in polenlerin alerjik hastalıklara neden olduğu keşfinden sonra yapılan bu konudaki çalışmalarda alerjik hastalıkların temelinde polenlerin önemli olduğu belirtilmektedir (Brusic ve ark. 2003).

Alerjenler genelde protein veya glikoprotein yapıda olup 5- 50 kilodalton (kDa) molekül ağırlığındadırlar. Polende bulunan proteinler insan metabolizmasında önemli alerjik etkilere sahiptir (Armentia ve ark., 2004). Dünyanın ve Avrupa'nın pek çok yerinde polen alerjisi klinik açıdan büyük önem taşımaktadır ve polenlerin neden olduğu alerjik solunum yolu hastalıklarının görülme sıklığı hızla artmaktadır. Görülme sıklığı bölgeden bölgeye değişiklik gösterse de dünyanın birçok yerinde alerjiye neden olan polenlerin başında Gramineae familyasına ait bitkilerin polenleri gelmektedir. Bu familyaya ait polenler birçok ülkede önemli aeroalerjenler olarak rapor edilmiştir. Alerji hastalarının % 50'ye yakın kısmı çayır (Gramineae) polenine karşı duyarlıdır (Schappi ve ark., 1999, Fahlbusch ve ark., 2000). Türkiye'de alerjen polenlere yönelik ilgi giderek artmasına rağmen, bu konuda daha birçok çalışmanın yapılması gerekmektedir.

Trakya Bölgesi sosyo-ekonomik yapısı itibari ile ülke tarımı açısından önemli bir yer teşkil etmektedir. Bölge insanı için tarım önemli bir gelir kaynağıdır ve başlıca tarım ürünlerinin büyük bir miktarını Gramineae familyasına ait bitkiler oluşturmaktadır. Bıçakçı vd. (2004), Edirne ilinde yapmış oldukları aeropalnolojik çalışmalarında Gramineae polenlerinin atmosferdeki %15.04'lük konsantrasyon yüzdesi ile birinci sırayı aldığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla bölge insanı alerjen etkisi olduğu bilinen Gramineae familyasına ait bitkilerin polenleri ile sıklıkla karşılaşmaktadır.

Klinik anlamda polen alerjisinin teşhis ve tedavisinde polen ekstralerinden yararlanılır. Bu ekstraler alerjen polenlerden hazırlanır ve ekstraler hazırlanırken kullanılan polenler için genellikle hastaların yaşadığı yörelerdeki bitkilerin polenleri tercih edilmelidir. Çünkü hastalığın nedenini oluşturan etmenler o yörenin polenleridir. Her yörenin alerjen polenleri farklı özelliklere sahip olabilir. Ancak ülkemizde, bu alerjik rahatsızlıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan ekstraler çoğunlukla ithal edilmektedir. Ancak bu ekstraler ülkemizdeki polen alerjisi rahatsızlıklarında faydalı olamamaktadır. Bu nedenle polen ekstralerinin o bölgedeki bitkilerin polenlerinden elde edilmesi, bölge insanların sağlığı açısından daha önemli olacağı ve ithal edilen polen ekstraleleri yerine yerli polen ekstralerinin kullanımı da ülke ekonomisine katkı sağlayacağı kanısındayız.

Bu çalışmayı yapmakla, konusunda uzman olan hekimlere astım, saman nezlesi gibi hastalıkların teşhis ve tedavisinde yardımcı olma amacını taşımaktayız. Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, şu an bulunduğum akademik pozisyona ulaşmamda büyük desteği bulunan Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Botanik Anabilim Dalı Başkanı, hocam Sayın Prof. Dr. Göksel OLGUN'a, Türkiye'de Palinoloji bilim dalının kurulması ve gelişmesinde büyük emeği geçen, polen ekstraksiyonu konusundaki bilgilerini benimle paylaşan İ.Ü. Orman Fakültesi emekli öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Burhan AYTUĞ hocama, yine kıymetli tecrübelerinden yararlandığım, Gazi Üniversitesi Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Sevil PEHLİVAN'a, yüksek lisans ders aşaması sırasında değerli bilgilerinden yararlandığım T.Ü. Genel Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Feriżan DANE'ye, sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Palinoloji konusundaki değerli bilgilerini benimle paylaşan, elektron mikroskobu preparasyon çalışmalarında büyük desteğini gördüğüm Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi Sayın Dr. Hülya ÖZLER'e elektron mikroskobu çekimlerini gerçekleştiren Fizik Yük. Müh. Abdullah ÖNER'e, polenlerin toplanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünde görev yapmakta olan Ziraat Yük. Müh. Göksel EVCİ'ye sonsuz şükranlarımı sunarım.

**İÇİNDEKİLER****Sayfa**

<b>ÖZET.....</b>	<b>I</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>II</b>
<b>ÖNSÖZ.....</b>	<b>III</b>
<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>V</b>
<b>SİMGELER DİZİNİ.....</b>	<b>VII</b>
<b>ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....</b>	<b>VIII</b>
<b>ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....</b>	<b>3</b>
2.1 Alerji ve Alerjenler.....	3
2.2. Alerji Tipleri.....	4
2.2.1. Kaynaklarına Göre Alerji Tipleri.....	4
2.2.2. Polen alerjisi.....	5
2.3. Kaynak Araştırması.....	6
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>13</b>
3.1. Materyalin Temini.....	13
3.2. Materyalin Toplanması.....	13
3.3. Işık Mikroskobu Yöntemi.....	14

3.3.1. Wodehouse metodu.....	14
3.3.2. Safraninli gliserin jelatin hazırlanması .....	15
3.4. Polenlerin Ölçümü.....	15
3.5. Polen Fotoğraflarının Çekimi.....	16
3.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Yöntemi.....	16
3.7. Ekstre Yapımında İzlenen Yol.....	16
3.8. Ekstraksiyon İçin Gerekli Reaktifler.....	17
3.8.1 “ Coca “ çözeltisinin hazırlanması.....	17
3.9. Ekstraksiyon.....	18
3.10. Filtrasyon (Süzme) İşlemleri.....	18
3.11. Polenin Kuru Ağırlığının Saptanması.....	19
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>20</b>
4.1. Araştırılan Taksonların Polen Morfolojileri.....	20
4.1.1. <i>Triticum aestivum</i> L. ....	20
4.1.2. <i>Secale cereale</i> L. ....	21
4.1.3. <i>Oryza sativa</i> L. ....	22
4.1.4. <i>Avena sativa</i> L. ....	23
4.1.5. <i>Hordeum vulgare</i> L. ....	24
<b>5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....</b>	<b>28</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>32</b>
<b>7. EKLER.....</b>	<b>39</b>
Ek-A –TERMİNOLOJİ.....	39
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>42</b>

## SİMGELER DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış, fakat tez metni içerisinde açıklanmamış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
A	Sferoit polenin uzun ekseni
B	Sferoit polenin kısa ekseni
E	Ekvatorial eksen
P	Polar eksen
Pa	Elipsoid porun uzun ekseni
Pb	Elipsoid porun kısa ekseni
$\mu\text{m}$	Mikrometre
$\sigma$	Standart sapma
M	Aritmetik ortalama

## Kısaltmalar

Ect	Ektezin
End	Endekzin
IgE	Immüoglobülin E
IM	Işık Mikroskobu
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı E.M.)
T.P.A.O.	Türkiye Petrolleri Anonim Ortaklığı
(W)	Wodehouse metodu, taze polen.

**ÇİZELGELERİN LİSTESİ**

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1 Topladığımız polenlerin disseminasyon dönemleri, toplama yerleri ve tarihleri.....	13
Çizelge 4.1. Çalışılan türlere ait polenlerin parametreleri ( $M \pm S$ ).....	25

**ŞEKİLLERİN LİSTESİ**

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.1. <i>Triticum aestivum</i> L., <i>Oryza sativa</i> L., <i>Secale cereale</i> L. türlerine ait mikrofotograflar	26
Şekil 4.2. <i>Hordeum vulgare</i> L. ve <i>Avena sativa</i> L türlerine ait ışık mikroskobu ve SEM mikrofotografarı	27

## 1. GİRİŞ

Çevremizde, yaşam için gerekli olan hava ve su içerisinde ve de dokunduğumuz her yerde gözle göremediğimiz polenler, çiçeklerin stamenlerindeki anterlerde bulunan polen ana hücrelerinden gelişen erkek gametofitlerdir (Ünal, 2004).

Botanik biliminin bir alt dalı olan, polen ve sporların araştırılması anlamına gelen *palinoloji*, oldukça genç bir bilim dalıdır. *Palynos* sözcüğü Eski Yunanca'da hava içerisindeki toz, *paluno* ise serpmek, dağıtmak, toz yapmak anlamlarına gelmektedir. *Palinoloji terimi* ilk defa 1944 de H. A. HYDE tarafından kullanılmıştır. 1945 yılından sonra *palinoloji* ilmi ilerleyerek polen kimyası, polen morfolojisi, polen fizyolojisi gibi yan dallara ayrılmıştır (Pehlivan, 1995) .

Polenin alerjik hastalıkların etiolojisindeki rolü Reidlin'in 1690'da güllerin astıma neden olduğunu öne sürmesiyle önem kazanmıştır. Bostock 1819'da deri, göz ve burun testleri ile polenlerin hastalığa neden olduğunu göstermiştir. Charles Blackley ise 1873'te İngiltere'de *Lolium italicum* L. (İtalyan Çimi) türünün saman nezlesine sebep olduğunu deri testleri ile göstermiştir (Pehlivan, 1995).

Belirli aylarda solunum sistemi hastalığına neden olan polenler, her ülkede veya bölgede, çiçeklenme dönemlerine bağlı olarak, çevreye dağılırlar. "**Polinosis**" olarak adlandırılan solunum sistemi alerjik hastalıklarına neden olmasından dolayı bu konu son zamanlarda artan bir öneme sahiptir (Pehlivan, 1995).

Alerjen polenlerden hazırlanan ekstreler alerjinin tanısı ve tedavisi için çok büyük önem taşımaktadırlar, bu ekstreler alerjinin teşhisi için deri testlerinde, tedavi amacıyla da cilt altı enjeksiyonu olarak kullanılırlar. Alerjik hastalığın tedavisi immünoterapi ile yapılır. Hastanın hangi polene karşı alerjisi var ise o polenden hazırlanan ekstreler, hastaya gittikçe artan dozlarda verilerek bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi yoluyla tedavi edilir.

Türkiye’de bu tip alerji tedavilerinde kullanılan ekstreler, yabancı ülkelerde hazırlanmış olan polen ekstreleri olup, ülkemizdeki ilaç firmaları tarafından ithal edilmektedir. Bunların birçoğu da tedavide faydalı olmadığı bilinmektedir. Oysa ülkemizdeki alerjik hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan ekstrelerin Türkiye’de yetişen bitkilerden elde edilmesi ve Türkiye’de alerji tedavilerinde kullanılması gerekmektedir. Çünkü bu tür rahatsızlıkları meydana getiren nedenler bu ülkenin alerjen maddeleridir.

Trakya Bölgesi sosyo-ekonomik yapısı itibari ile ülke tarımı açısından önemli bir yer teşkil etmektedir. Bölge insanı için tarım önemli bir gelir kaynağıdır ve başlıca tarım ürünlerinin büyük bir miktarını Gramineae familyasına ait bitkiler oluşturmaktadır. Bıçakçı vd. (2004) Edirne ilinde yapmış oldukları aeropalinolojik çalışmalarında Gramineae polenlerinin atmosferdeki % 15.04’lük konsantrasyon yüzdesi ile birinci sırayı aldığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla bölge insanı alerjen etkisi olduğu bilinen Gramineae familyasına ait bitkilerin polenleri ile sıklıkla karşılaşmaktadır.

Trakya’nın alerjen polenleri üzerinde (Aytuğ vd., 1990) yapılan çalışmalarda Trakya bölgesindeki 2204 bitki taksonundan 405 ’inin alerjen olduğu belirtilmiştir. Bu alerjen polenlere sahip bitkiler arasında da Gramineae familyasına ait bitkiler hem alerjen etki yönünden hem de yayılış alanı olarak Trakya bölgesi için büyük önem teşkil etmektedir. Trakya bölgesindeki bitkiler ile ilgili sistematik çalışmalar oldukça fazla olmasına rağmen Gramineae’lerin polen morfolojileri ile ilgili ayrıntılı çalışmalara da rastlanmamıştır.

Bu amaçla yapılan bu çalışmada, alerjen etkisi yüksek olan, Trakya bölgesinde üretimi yapılan bazı Gramineae taksonlarının polenlerinin, morfolojik özellikleri incelenmiş ve polen ekstreleri hazırlanmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Alerji ve Alerjenler

Alerji kelimesi eski Yunancada normal olmayan cevap ya da aşırı reaksiyon anlamına gelmektedir. Yaygın olan kanının aksine alerjik rahatsızlıkların sebebi bağışıklık sistemimizin zayıf ya da yetersiz olması değildir. Buna göre temel olarak alerjik bir durumda bağışıklık sistemimiz normalden daha fazla çalışır ve daha fazla antikor oluşturur. Bu sebeptendir ki hekimler alerji kelimesi yerine aşırı duyarlılık kelimesini sıklıkla kullanırlar.

Alerjik bireylerin bağışıklık sistemleri, bir molekülü zararlı olarak algılayarak gerekenden çok daha şiddetli bir tepki geliştirir. Bu tepki bazen bir iki hapşırık şeklinde ortaya çıkarken bazen öldürücü dahi olabilir.

Normal bireylerde lenfositler tehlikeli ve tehlikesiz proteinleri ayırt edecek gerekli bilgiyi taşırlar. Alerjik bireylerde ise lenfositler bu ayırımı yapamaz ve zararsız maddeleri bile tehlikeli olarak algırlar. Bu bireylerin B hücreleri genetik düzeyde yanlış bilgilendirilmişlerdir. Bu nedenle de gereksiz şekilde çok fazla IgE üretirler. IgE molekülleri de bütün vücuttaki mast hücreleri ve bazofillere bağlanarak bunları aşırı duyarlı hale getirirler. Bu hücreler, vücudu enfeksiyonlara karşı koruyan histamin içerirler. Ancak bol miktarda ya da gereksiz yere salgılanan histamin, tahrip edici etkiye sahiptir.

Alerjenler, spesifik Immünoglobülin E (IgE) antikorunu uyaran ve bu antikor ile reaksiyona giren moleküller olarak tanımlanabilir. Alerjenler genelde protein veya glikoprotein yapıda olup 5-50 kDa molekül ağırlığındadırlar. Bir alerjen ekstraktının içinde çok sayıda antijen bulunmaktadır. Bu antijenlerin tümü duyarlılığa neden olmazlar, az sayıda hastada duyarlanmaya yol açanlar **minör alerjenler** olarak,

hastaların yarısından fazlasında duyarlanmaya neden olan alerjenler ise **majör alerjenler** olarak adlandırılırlar ve ekstraktın toplam ağırlığının %1'ini oluşturur (Paşaoğlu ve Çelik, 2002). Genelde bir alerjen ekstraktının içinde 1 ile 4 arasında majör alerjen bulunur. Alerjenin immün duyarlanmaya neden olan, özel bir aminoasit dizilimi gösteren bölgesi “ epitop” veya “antijenik determinant” olarak adlandırılır. Duyarlı kişilerde aynı alerjen molekülünün farklı epitoplarına yanıt oluşabilmektedir.

Çeşitli yollarla (çoğunlukla solunum yolu ile) insan vücuduna giren alerjenler, immün sisteminin harekete geçmesini sağlarlar ve bir dizi reaksiyonlar zincirini başlatırlar. Beyaz kan hücreleri IgE antikorlarını oluştururlar. Bu antikorlar mast hücreleri olarak adlandırılan hücrelerle birleşerek, bazı diğer hücrelerden histamin gibi kimyasalların serbest kalmasını aktive ederler. Bu kimyasallar alerjik rahatsızlıklarda görülen semptomların oluşumunu sağlarlar.

Genellikle alerjik reaksiyonlarda Ig E antikor düzeyini araştıran testler uygulanır ve bu testlerin sonucu negatif çıkmışsa vücutta herhangi bir alerjenik reaksiyonun görülmediği anlaşılmaktadır. Ancak bu test sonuçları tamamen doğru değildir, çünkü IgE antikor düzeyinin ölçülemediği alerjik durumlar da söz konusu olabilmektedir.

## **2.2. Alerji Tipleri**

Birçok çeşit alerji çeşidi olmasına rağmen alerji tipleri genel olarak kaynaklarına göre ve semptomlarının ne olduklarına bakılarak sınıflandırılır.

### **2.2.1. Kaynaklarına göre alerji tipleri**

1. İnhalan (solunum yolu ile vücuda giren) alerji, polen veya toz kökenli alerji

2. Enfeksiyon alerjisi, belirtileri soğuk algınlığı ya da nezle etkisi ile artan alerjiler
3. Böcek alerjisi, genellikle bazı spesifik böcek ısırıkları sonucu
4. İlaç alerjisi, oldukça tehlikeli olan anaflaktik şoklarla sonuçlanabilen alerji, örnek olarak penisilin verilebilir.
5. Fiziksel ajan alerjisi, soğuk, sıcak, aşırı egzersiz durumlarında vücutta ortaya çıkan alerji
6. Kontakt (Temas) alerji, lateks ya da evlerde kullanılan kimyasal ajanların oluşturduğu alerji
7. Besin alerjisi, mide ve sindirim sistemini başlıca etkileyen.

### **2.2.2. Polen alerjisi**

Polenler ilk ayırt edilen alerjenlerdir. Çayır, ağaç, ve yabani ot polenleri başlıca sorumlu alerjenlerdir. Polen, tohumlu bitkilerin anterlerinde bulunan erkek gametofittir. Boyutları bitkiye göre değişmekle birlikte 2 µm ile 250 µm arasındadır. Rüzgar, su, böcekler gibi çeşitli taşınma şekilleri bulunmaktadır (Esch vd., 2001).

Rüzgarların etkisi ile taşınan polenler oldukça aerodinamiktir ve polen kaynağından çok uzaklara (200 km) taşınarak birçok kişide duyarlılığa neden olabilirler. Rüzgarla taşınan polenlerinin çoğunun çapı 15-50 µm arasında değişmektedir. Eliptik veya yuvarlak şekildedirler.

Böceklerle taşınan polenler ise renkli ve çiçekli bitkilerin polenleri olup nemli ve yapışkandırılar. Bu tip polenler ile direkt olarak temas eden kişilerin, alerjik hastalıklara yakalanma olasılıkları daha yüksektir (Ör. Çiftçiler, çiçekçiler..vs.).

Polenler, belirli aylarda çiçeklenme dönemlerine bağlı olarak çevreye dağılırlar ve çeşitli yollarla (solunum, deri ve sindirim) insan vücuduna girerek alerjik hastalıklara

yol açabilirler. Polenlerin alerjen özellikleri ekzin ve intin tabakalarında bulunan protein, glikoprotein, lipoprotein ve polisakkaritlerden ileri gelir. Polenlerin alerjenlik dereceleri, bu polenleri çevrelerine saçan bitkilerin az veya çok olmalarına ve bu bitkilerin az ya da çok polen vermelerine bağlıdır. Bu hastalıkların tanı ve tedavisine yardımcı olmak amacı ile alerjen olan polenlerin morfolojileri ve havadaki miktarının yanı sıra, çevredeki bitki örtüsünün tanınması ve adlandırılması, çiçeklenme periyodunun saptanması son derece önemlidir. Alerjen etkisi bulunan polenlerin havaya saçıldığı dönemlerin başlangıcı, en yüksek yoğunluğa ulaştığı ve sona erdiği dönemler günlük meteoroloji bültenleri verilirken, radyo, televizyon ve gazetelerde sürekli olarak halka duyurulmalıdır. (Pehlivan S, 1984, 1995, Esch vd., 2001).

Polen alerjisi, tüm dünyada dikkate değer klinik öneme sahiptir ve polenlerin neden olduğu alerjik reaksiyonların yaygınlığında büyük ölçüde artış görülmektedir. Avrupa'da yapılan polen kökenli alerji araştırmalarında disseminasyon periyodunun ilkbahardan sonbahara kadar uzanan altı aylık bir periyodu kapsadığı belirtilmektedir (D'Amato vd., 1998).

Gramineae familyasına ait bitkilerin polenleri dünya genelinde en önemli alerjen kaynakları olarak kabul edilirler. Bu familyaya ait polenler birçok ülkede önemli aeroalerjenler olarak rapor edilmiştir (Baldo vd., 1982; Bousquet vd., 1984; Malik vd., 1991) Alerjik hastaların yaklaşık olarak % 50'si Gramineae polenlerine karşı duyarlılık göstermektedir. Bu alerjik hastalıkların teşhisinde ve tedavi yöntemlerinde genel olarak alerjenik ve alerjenik olmayan moleküllerin karışımı olan kompleks alerjen ekstraktları kullanılmaktadır. Ancak bu kompleks alerjen ekstraktların standardizasyonu, içeriğinin tam olarak bilinmemesinden dolayı zordur (Corti vd., 2005).

Alerjik reaksiyonların oluşumunda etken olan Gramineae polenlerinin majör alerjenleri, grup 1 ve grup 5 proteinleri olarak karakterize edilmişlerdir. Grup 1 alerjenler molekül ağırlığı yaklaşık olarak 30-35 kDa olan glikoproteinleri, grup 5 alerjenler ise molekül ağırlığı 28-32 kDa arasında olan proteinleri içermektedir (Singh ve Bhalla, 2003).

### 2.3. Kaynak Araştırması

Türkiye atmosferindeki polenlerin varlığı üzerine yapılan çalışmalar 1967 yılında Özkaragöz ve Karamanoğlu'nun Ankara ili atmosferindeki alerjenik polen ve sporların araştırılması ile başlamıştır. Bu tarihten sonra 1994 yılında Ankara'daki atmosferik polen konsantrasyonu adlı çalışma ile İnceoğlu vd. Aeropalinolojik çalışmalara katkıda bulunmuşlardır. Bu çalışmalarında 1990-1993 yılları arasında Ankara ili atmosferindeki polenlerin varlığını ve konsantrasyon düzeylerini incelemişler ve meteorolojik faktörlerin polen konsantrasyonlarına etkilerini araştırmışlardır.

Davies ve Smith (1973), havadaki polen konsantrasyonunun mevsim, yağış, gün ışığı, sıcaklık, rüzgar gibi havayla ilgili faktörler tarafından etkilendiğini belirtmişlerdir.

Aytuğ vd. (1974), "Belgrat Ormanı'nın ve İstanbul Çevresi Bitkilerinin Polinizasyon Olayının Tespiti ve Değerlendirilmesi" adlı araştırmada, sürekli olarak üç yıl her gün havadaki polenlerin analizlerini yapmışlar ve meteorolojik bazı verilerin polen dağılımı ile ilişkisini kurmuşlardır. Araştırmanın bir parçası olan İstanbul çevresi iklim şartlarında yetişen bitkilerin polenlerini kapsayan bir polen atlası oluşturmuşlardır.

Moseholm vd. (1987) yapmış oldukları çalışmalarda zaman serileri analizi tekniğini kullanarak atmosferik çayır polenlerinin mevsimsel trendlerini ve günden güne konsantrasyon farkını tahmin etmeye çalışmışlardır. Buna göre Gramineae familyasına ait polenlerin yani çayır polenlerinin, özel atmosferik koşullar olmadığı sürece genellikle ana bitkiden bir kilometreden daha fazla uzaklaşamayacağını belirtmişlerdir.

Bryant vd. (1989) bölgesel seviyede yapmış oldukları aeropalinolojik çalışmalar sonucunda atmosferik polen konsantrasyonunun dikey yönde artış gösterdiğini özellikle Gramineae familyasına ait polenlerin varlığının 10 m yükseklikten sonra daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Aytuğ vd. (1990), “Trakya’nın Alerjen Polenleri” adlı yayınlarında Trakya Bölgesinin alerjen bitkilerini incelemişler; polen analizlerinin öneminden bahsetmişler, İstanbul ve yöresi için alerjen polen takvimi hazırlamışlardır. Aynı araştırmacılar, yaptıkları araştırmaların yönteminden ve sonuçlarından bahsetmişler; alerjen polen takvimlerinin kullanımının ve polenlerin disseminasyon dönemlerinin halka duyurulmasının önemini belirtmişlerdir. Araştırmacılar yapmış oldukları aeropalinojik incelemeler sonucunda Gramineae polenlerine Mart ayının ikinci yarısından Kasım ayının 15’ine kadar rastlanılabileceğini ancak Mayısın ilk haftasından başlayarak Temmuz ayı ortalarına kadar olan dönemde konsantrasyonlarının maksimum düzeye ulaştığını belirtmişlerdir. Yapmış oldukları ölçümler sonucu Haziran ayı ortalarında  $14.4 \text{ m}^3$  hava içerisinde 24 saatlik bir periyotta Gramineae polenlerinin ortalama sayısını 821 olarak saptamışlardır.

Emberlin vd. (1994) İngiltere de 1987-1992 yılları arasındaki atmosferik Gramineae polen verilerini kullanarak bu yıllar arasındaki polen mevsiminin başlangıç zamanları ile mayıs ve haziran aylarındaki kümülatif sıcaklık ve yağış arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Pehlivan (1995), bir kentin ya da bir bölgenin iklim ve ekolojik koşullarına bağlı olan polen takvimlerinin, yalnızca o yöre için ve belirli dönemlerde geçerli olduğunu ve bu polen takvimlerinin gerek hekimler, gerekse hastalar için önemli bilgiler içerdiğini “Türkiye’nin Alerjen Polenleri Atlası” adlı kitabında belirtmiştir. Yine aynı çalışmada Poaceae polenlerine Mart ayının ikinci yarısından Ekim ayının sonuna kadar rastlanabileceğini ve Mayıs’ın ilk haftası ile Temmuz ayı ortaları arasındaki dönemde konsantrasyonlarının genellikle çok yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Spieksma ve Nikkels (1998), 1969-1994 yılları arasındaki çalışmalarında, Gramineae familyasına ait bitkilerin polen mevsimlerinin başlangıcının 12 Mayıs-19 Haziran tarihleri arasında değişebildiğini göstermişlerdir.

Ayvaz (2001), Trabzon atmosferindeki aeroalerjenlerin mevsimsel dağılımı incelemiş ve Poaceae (Buğdaygiller) familyası polenlerini Nisan ayı haricinde yıl

boyunca havada bulunduğunu belirtmiştir. Poaceae polenlerinin, Trabzon atmosferinde sürekliliği en fazla olan ikinci bitki grubu olduğunu, Haziran ayının ilk haftalarından itibaren yoğunluğunun giderek arttığını Ağustos ayında ise yoğunluğun en üst düzeyde olduğunu saptamıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak bir polen takvimi hazırlanmıştır.

Arnold vd. (2002), yapmış oldukları aeropalinolojik çalışmada 1969-2000 yılları arasında sıcaklık ve iklim değişikliğinin Hollanda'daki polen disseminasyon zamanı üzerindeki etkisini araştırmışlar ve polen mevsiminin başlangıcı ile sıcaklık arasında güçlü bir korelasyon olduğu sonucuna varmışlardır.

Beggs (2004), iklim değişikliklerinin, aeroalerjenler ve onların neden oldukları alerjik rahatsızlıklar üzerindeki etkilerinin öneminin yeteri derecede önemsenmediğini belirtmiş ve bu amaçla yapmış olduğu derleme çalışmasında polen miktarı, polen alerjenitesi, polen mevsimi, bitki ve polen yayılışı kavramları ile iklim değişikliklerinin nasıl bir korelasyon içinde olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada polen miktarının, atmosferdeki CO<sub>2</sub> miktarı ve sıcaklık ile doğru orantılı olduğunu ve polen miktarı ile sıcaklık arasındaki korelasyonun polen alerjenitesinde de mevcut olduğunu, bu konu hakkında yapılan çalışmaları örnek göstererek desteklemiş ve yıl içerisindeki kümülatif sıcaklığın artmasına bağlı olarak erken başlayan ve uzun süren polen mevsimlerinin olabileceğini ileri sürmüştür.

Avrupada yapılan çalışmalar göstermiştir ki polinozisin en önemli kaynağını çayır polenleri oluşturmaktadır. Ancak çeşitli Avrupa merkezlerinde saman nezlesi, alerjik astım prevelansı artarken, atmosferdeki çayır poleni konsantrasyonu azalmaktadır. Çayır poleni konsantrasyonundaki düşüşün nedeni olarak var olan çayır ve mera alanlarının azaltılması gösterilmektedir. Aslında Avrupa kıtası için son 25 yılda çayır ve mera alanlarında %40 lık bir azalma söz konusudur, ne var ki çayır ve mera alanlarının azalmasına karşılık hava kirliliği gibi diğer bazı faktörler bu alerjik rahatsızlıkların prevelansını arttırmıştır (D'Amato vd., 1998, Emberlin vd., 1993, D'Amato 2000).

Stennet ve Beggs (2004), yapmış oldukları çalışmada polenin insan sağlığı açısından önemini vurgulamışlar ve Sidney’de yapmış oldukları atmosferik polen incelemeleri sonucunda havadaki polen konsantrasyonları ile meteorolojik verileri kıyaslamışlar ve toplam polen miktarının sıcaklık, çiğ noktası sıcaklığı ve rüzgar hızı ile doğru orantılı olduğunu, hava basıncı ile ters orantılı olduğunu belirtmişlerdir.

Günümüz şehir mimarisinde mekandan tasarruf amacıyla genellikle yüksek binalar tercih edilir hale gelmiştir. Ancak bu mimari yapılaşma özellikle alerjik hastalar için beraberinde birtakım problemler de oluşturmaktadır. Çünkü alerji hastalarının büyük çoğunluğu Gramineae polenlerine karşı duyarlılık göstermektedir. Yapılan çalışmalara göre, polenlerin atmosferde dikey olarak artış gösterdiği bilinmektedir. Armentia vd. (2004), klinik çalışmalar sonucu elde ettikleri verileri yorumlamışlar ve İspanya’nın Valladolid şehrindeki alerjik hastaların % 72’lik bir kısmının şehir merkezinde yaşadığını tespit etmişlerdir. Özellikle tahıl üretiminin çok yaygın olduğu kırsal kesimlerde yaşayanların değil de şehir merkezinde yaşayanların alerjen polenlere daha fazla duyarlılık gösterdiğini saptamışlardır.

Aytuğ ve Peremeci (1987), “ Polen, Saman Nezlesi ve Polen Ekstreleri” adlı yayınlarda polen, alerji ve alerjen kavramlarına değinmiş; polen takvimleri ve polen analizlerinin önemini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, İstanbul ve benzer iklim koşullarına sahip yöreler için polenlerin disseminasyon dönemi, yaygınlık ve alerji etkisini gösteren bilgiler içeren bir tablo hazırlamışlardır. Bu tabloda odunsu bitkiler, otsu bitkiler ve Gramineae’ler olmak üzere toplam 67 adet tür incelenmiş ve bunlarla ilgili bilgilere yer verilmiştir. Bunlardan 16 tanesinin önemli alerjen etkiye sahip olduğunu, alerjen etkisinde polenin içerdiği proteinin önemli olduğunu ve ekstre yapımında izlenecek yol ve ekstre yapımında kullanılacak polenlerin özellikleri üzerinde durmuşlardır.

Aytuğ ve Güven (1985), “ Türkiye’de Satılan Polen Preparatları Analizi” adlı yayınlarda; polen preparatlarının yapımındaki dikkat edilecek en önemli unsurun alerjen polen içermemesi olduğunu belirtmişler ve bu düşünceyle, Türkiye’de satılan iki polen preparatını incelemişlerdir. İki polen preparatında da alerjen polen ve yabancı

madde tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bu şekilde hiçbir kontrole tabi tutulmadan piyasaya sunulan bu tip preparatların insan sağlığı açısından alerji etkisi doğurabileceğini söyleyerek konunun önemini belirtmişlerdir.

Kalyoncu (1994), alerjik astım ve diğer alerji hastalıklarının dünya üzerindeki konumunu değerlendirmek üzere bir derleme çalışması yapmışlardır. Aynı zamanda Türkiye'deki alerjik hastalıkların durumu hakkında veriler sunmuşlardır.

Aydilek ve Kartaloğlu (1994), “ Polenler (Aeroalerjen olarak)” adlı yayınlarında insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen polenlerin alerjik önemlerini, morfolojik özelliklerini, alerjenik etkilerini, polenlerin taşınma şekillerini ve polenlerin yayılmasına etki eden etmenleri (sıcaklık, yağmur vb.) araştırmışlardır

Aydilek ve Kunter (1994), “Alerjik Hastalıklarda İmmünoterapi” adlı çalışmasında İmmünoterapinin tanımı, yöntemleri ve alerjinin teşhisi konularında derleme çalışması yapmışlardır.

Saraçlar ve Kuyucu (1997), çeşitli yollarla ( inhalasyon yoluyla, deri teması, oral alım vb.) alınan antijene karşı duyarlı hale gelen insan vücudunun alerjen ile ikinci kez karşılaştığında buna alerjenik bir cevap vereceğini belirtmişlerdir.

Pehlivan vd. (1995, 2001, 2003) alerjik hastalıkların teşhis ve tedavisinde polenlerin miktarlarının ve morfolojilerinin bilinmesinin yanı sıra protein miktarının da bilinmesi gerektiğini vurgulamışlar bu amaçla alerjen olduğu bilinen ve Ankara'da park ve bahçelerde oldukça yaygın olan bazı ağaç türlerinin toplam protein analizlerini ülkemizde ilk defa yapmışlardır.

Paşaoğlu ve Çelik (2002) yapmış oldukları çalışmalar neticesinde alerjik hastalıkların gelişiminde alerjenlerin biyokimyasal aktivitelerinin, özellikle de immunojenitelerinin oldukça önemli olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte immünojenitenin büyüklük, yoğunluk ve maruz kalınan süreye bağlı olduğunu hatta, son yıllarda giriş yolunun ve antijenin depolandığı yerinde önemli olduğunu

vugulamışlardır. Aynı çalışmada, dünyanın ve Avrupa'nın pek çok yerinde çayır polenlerinin en alerjenik polenler olduğu ancak prevalansının bölgelere göre değişim gösterdiği de ifade edilmiştir.

Çolakoğlu (2002), yapmış oldukları çalışmada *Rhizopus nigricans* Ehrenberg ve *Penicillium expansum* (Link) Thom türlerinden Coca solüsyonu kullanarak ekstraksiyonlarını hazırlamıştır. Bu amaçla yapılan çalışmada sterilizasyon için steril filtrasyon tekniğinden yararlanmıştır.

Liu vd. (2004), *Artemisia apiacea* polenlerindeki majör alerjenleri tespit edip bu alerjenleri ham ekstraktan izole etmişlerdir. Yapılan çalışmada *Artemisia apiacea* polenleri Coca solüsyonu içerisinde ekstrakte edilmiştir.

Gramineae familyasına ait polenlerin morfolojik olarak düz yada çok az skülpür ekzin yapısı itibari ile birbirine çok benzedikleri bilinmektedir ( Wodehouse 1935, Faegri ve Iversen 1989, Erdtman 1986) ancak ne var ki çoğunlukla Amazon havzasında yetişen bir tür olan *Pariana stenolemma* polenleri diğer Gramineae polenlerinden morfolojik olarak ayrılmaktadır. Salgado-Labouriau ve ark. (1985) Venezuela dağlarından toplamış oldukları 49 adet Gramineae familyasına ait bitkilerin polenlerini incelemişler ve çalışmalarının sonucunda yeni bir *Pariana stenolemma* tip polen gözlemişlerdir. Bu tip polen diğer familya polenlerinin aksine belirgin bir annulus içermez ve sekzin tabakası da ışık mikroskopunda (X400 büyütmede) gözlenebilecek kadar kalındır.

Gramineae familyasına ait morfolojik çalışmalara bir diğer örnek olarak Chaturvedi vd. (1998)'in *Oryza* cinsinden 19 türün polenlerinin ışık ve SEM mikroskopundaki morfolojik gözlemleri verilebilir. *Oryza* polenleri genel olarak Gramineae familyasına ait polenlerin tipik özelliklerini taşırlar. Chaturvedi vd. *Oryza* türlerinde spinulose, insular, ve granulose ornemantasyon tiplerini gözlemişler, diğer bir çalışmada ise Datta ve Chaturvedi (2004) *Oryza sativa* L.'da ekzin skulptürünü insular, spinulose, karışık spinulose olarak belirlemişlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyalin temini

İncelenen *Triticum aestivum* L.(Buğday), *Hordeum vulgare* L. (Arpa), *Avena sativa* L. (Yulaf), *Oryza sativa* L. (Pirinç), *Secale cereale* L. (Çavdar) türlerine ait polen örnekleri, Edirne İli sınırları içinde bulunan Tarım ve Köyişleri Bakanlığına bağlı Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünün arazilerinden temin edilmiştir. (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1 Topladığımız polenlerin disseminasyon dönemleri, toplama yerleri ve tarihleri**

Polen	Toplama yeri	Disseminasyon Dönemi	Toplama Tarihi
<i>Triticum aestivum</i> L.	Tarımsal Araştırma	Nisan-Temmuz	20.5.2004-25.5.2005
<i>Hordeum vulgare</i> L.	Tarımsal Araştırma	Nisan-Temmuz	20.5.2004-25.5.2005
<i>Avena sativa</i> L.	Tarımsal Araştırma	Nisan- Temmuz	20.5.2004-25.5.2005
<i>Oryza sativa</i> L.	Tarımsal Araştırma	Temmuz-Ağustos 2. yarı	02.8.2004-06.8.2005
<i>Secale cereale</i> L.	Tarımsal Araştırma	Mayıs –Ağustos	20.5.2004-25.5.2005

#### 3.2. Materyalin Toplanması

Polen çalışması için polen toplama yöntemi çok büyük önem taşımaktadır. Genellikle ekstraksiyon amacı ile toplanan polenler, literatürde belirtildiği (Aytuğ ve Peremeci, 1987) gibi taze polenler olmalıdır. Bunun için en uygun zaman anterin açılmasından hemen sonraki evredir.

Yapılan çalışmada bu hususlar dikkate alınarak önceden tespit edilen bitkilerin polenleri, disseminasyon dönemlerine göre ve polen toplama yöntemlerinden biri olan

buket toplama tekniği ile toplanmış (Guerin, 1980) ve 30- 60 cm uzunluktaki iek sürgünleri kesilerek, erkek çiçekler kullanılmıştır. Daha sonra toplanan materyal, kontaminasyonun olmaması için iyi aydınlatılmış farklı odalarda kurutulmuştur. Daha sonra aralıklarla buketlerin üzerine küçük bir çubukla vurularak polenlerin steril beyaz kağıtlar üzerine dökülmesi sağlanmıştır. Dökülen polenler bir spatül ile toplanarak koyu renkli cam şişelere

konulmuştur. Kurumasını sağlamak amacıyla 24 saat desikatörde tutulmuştur. Kurutma işleminden sonra kuruyan çiçekler polenlerinden steril elek ile ayrılmıştır. Eleme işleminden sonra polenlerin içinde bulunabilecek bitki parçacıkları vb. yabancı maddeleri ayırmak için asetonla yıkama yöntemi uygulanmıştır. Bu yönteme göre polenlerin üzerine aseton ilave edilip, çalkalanır ve yabancı maddelerin yüzdürülerek polenlerden ayrılması sağlanır ve daha sonra santrifüj edilerek çöktürülen polenler iklim dolabında 20  C – 37  C arasında kurutulur. Kurutma işlemi vakum altında desikatörde yapılır ve bu sayede küflenmenin önüne geçilmesi sağlanır. Daha sonra elde edilen polenler koyu renkli cam şişelere doldurularak şişe kapağı parafinle kaplanır ve buzdolabına yerleştirilir. Böylece polenler çalışmaya hazır hale gelmiş olur.

### **3.3. Işık Mikroskobu Yöntemi:**

Araştırılan taksonlara ait polenlerin preparatları Wodehouse (1959) metoduna göre hazırlanmıştır.

#### **3.3.1. Wodehouse metodu:**

Her türe ait bitki örneklerinin anterlerinden alınan polenler temiz bir lam üzerine konarak, üzerine reçine ve yağların erimesi için %96'lık alkolden 2-3 damla damlatılır. Alkolün buharlaşması için preparat, ısıtıcı üzerine konarak, alkol

buharlaşıncaya kadar bekletilir. Daha önce hazırlanmış olan safraninli gliserin jelatinden 1-2 mm<sup>3</sup> alınarak polenlerin üzerine konur ve biraz ısıtılarak, erimesi sağlanır. Lamelle kapatılır, ters çevrilerek kurumaya bırakılır.

### **3.3.2. Safraninli gliserin jelatin hazırlanması:**

Jelatin plaklar 2-3 saat distile suda bırakılır. 1 l jelin 1,5 l gliserin ile karıştırılarak, safranin ilave edilir. Kflenmeye engel olmak için %2-3 oranında asit fenik ilave edilir. Bu karışım 80°C'ye kadar ısıtılır. Belli bir kıvamda temiz petri kaplarına dökülerek, soğumaya bırakılır. Bu materyal uzun zaman kullanılabilir, ancak her seferinde kullanılacak kadar az bir miktar alınması ve havada bulunması muhtemel olan polen ve sporların içine girmemesine dikkat edilmelidir.

### **3.4. Polenlerin lm:**

Wodehouse (1959) metoduna göre hazırlanan preparatlardaki her türe ait polen lmleri A, B, pa, pb, ekzin, intin, annulus kalınlığı ve operkulum çapı için bir gauss eğrisi oluşuncaya kadar tekrarlanmış ve bu değerlerin aritmetik ortalamaları (M) ve standart sapmaları (S) ve varyasyonları (V) bilgisayar ortamında SPSS 13.0 istatistik yazılım programı kullanılarak hesaplanmıştır. Işık mikroskopunda polenlerin morfolojik alışmaları Prior marka mikroskop ile yapılmış olup ölümler için X100 oil immersiyon plan objektif kullanılmıştır. Oküler mikrometresindeki cetvelin her bir aralığı ise 0,86 m'dir. Ekzin tabakalarının adlandırılmasında Faegri İversen terminolojisi kullanılmıştır (1989).

### **3.5. Polen Fotoğraflarının Çekimi:**

İncelenen türlerin polenlerine ait mikrofotoğraflar Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümündeki Olympus marka mikroskoba bağlı tam otomatik mikrofotografi cihazı ile çekilmiştir. Polen mikrofotoğraflarının kart üzerindeki büyütmesi X400 ve X1000 'dir.

### **3.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Yöntemi:**

Her taksona ait polenler, üzerinde iki taraflı yapıştırıcı bant bulunan metal polen taşıyıcılar (stap) üzerine binoküler mikroskop altında yerleştirilerek, polenlerin elektron mikroskopunda görünüşü sağlayabilmek için altınla kaplanır. İncelenen polenlere ait polen görünüşleri ve ayrıntılı yüzey ornamentasyonları T.P.A.O.'da bulunan Jeol JSM-840A mikroskopunda çekilmiştir. Her takson için X 1500-X 10000 büyütmede çekilen mikrofotoğraflar elde edilmiştir (Pehlivan, 1994).

### **3.7. Ekstre Yapımında İzlenen Yol:**

1. Alerjen polenlerin olgunlaşmalarından az önce toplanıp, kurutulması
2. Temizlenmesi: bu amaçla polen büyüklüğüne göre gerekli eleklerden geçirilmesi
3. Saflık, temizlik kontrolünün belirli örnek alma yöntemleriyle mikroskop altında yapılması
4. Özel ekstraktör içerisinde ekstrakte edilerek kaba filtrasyon santrifügasyonlardan geçirilmesi,
5. Filtrasyon: 0.80 ve 0,45 mikron porlu filtrelerle

6. Kuru tartı: mg/ml değerinin saptanması amacıyla
7. Seyrelti: elde edilen ekstrenin özel seyreltici ile istenilen konsantrasyonlara indirgenmesi
8. Steril filtrasyon: laminer kabinde, U.V. altında, porları 0,22 mikron olan filtrelerle

Ekstraksiyona başlamadan önce kullanılması planlanan cam eşya ve aletler steril edildi. Bunun için; cam ve metal maddeler 150°C'ye ayarlanmış sterilizatörde 2 saat bırakıldı. Flakonların kapakları plastik olduğundan bunların sterilazasyonu için % 0.5 lik Benzalkonyum klorit çözeltisi kullanıldı.

### 3.8. Ekstraksiyon İçin Gerekli Reaktifler

#### 3.8.1 “Coca “ çözeltisinin hazırlanması

Polenin içindeki etken maddenin ekstraksiyon materyaline geçebilmesi için ekstraksiyon materyali olarak “coca” çözeltisi kullanıldı.

“Coca “ çözeltisi Pasteur Enstitüsünde uygulanan yöntemeye göre, aşağıda gösterildiği gibi hazırlandı (Aytuğ, 1996).

NaCl.....	9 gr
NaHCO <sub>3</sub> .....	3 gr
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH.....	5 gr
+ Destile Su.....	

TOPLAM: 1000 ml

Destile su içerisinde sırasıyla NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH eritildi. Hazırladığımız “coca” çözeltisinin pH’sı % 10 luk NaOH den birkaç damla ilave edilerek 8.2’ye ayarlandı (Aytuğ, 1996).

### **3.9. Ekstraksiyon**

Bu çalışmada polenlerin saflık derecesi saptandıktan sonra içerdikleri etken maddelerin ekstre edilebilmesi için Aytuğ vd. (1991) tarafından uygulanmış olan ekstraksiyon yöntemleri kullanıldı. Her polenden 500 mg tartıldı ve 4.5 ml coca çözeltisi ilave edildi. Karışım +4 °C de manyetik karıştırıcı ile 24 saat karıştırıldı. Bu sürenin sonunda karışım 2750 devir/dakika olmak üzere 10’ar dakika süreyle santrifüj edilerek polenler çöktüldü. Üstte kalan sıvı tekrar santrifüj edilmek üzere ayrıldı. Bu uygulama sıvıdan çökelen polen kalmayınca kadar 8 ile 10 kez tekrarlandı. İçinde polen artığı kalmamasına rağmen çözeltinin diğer tortulardan da arındırılabilmesi için süzme (filtrasyon) yöntemi uygulandı.

### **3.10. Filtrasyon (Süzme) İşlemleri**

Ekstraksiyon sonucunda elde edilen çözeltiler, Aytuğ ve arkadaşlarının (1991) uyguladığı süzme işleminden geçirildi. Bunun için santrifüj sonucunda elde kalan ekstraktın üzerine “coca” çözeltisi eklenerek 5 ml ye tamamlandı ve “coca” çözeltisi ile ıslatılmış kaba filtre kağıdından süzüldü. Bundan sonra Laminer kabinde; toz, mikroorganizma ve bakterilerden arındırılmış U.V. ışını ile steril edilmiş bir ortamda steril filtrasyon tekniği uygulandı. Bu aşamada Sartorius steril enjektörü kullanılarak

sırası ile 0.80, 0.45 ve 0.22  $\mu\text{m}$  por  $\text{çaplı}$  membran filtrelerden süzülerek, steril filtrasyon işlemi sona erdirildi.

Daha sonra ekstreler gliserin ile % 50 oranında karıştırılarak flakonlara konuldu ve steril şartlarda ağızları kapatıldı. Böylece % 50 gliserin eklenen ekstreler buzdolabında +4  $^{\circ}\text{C}$  de 3 yıl korunabilir.

### **3.11. Polenin Kuru Ağırlığının Saptanması**

Kuru ağırlığın saptanmasında kullanılmak üzere iki dara kabı alındı ve ağırlıkları belirlendi. Bunun için desikatör içerisinde konulan dara kapları 110 $^{\circ}\text{C}$ 'lik etüvde 2 saat bırakıldıktan sonra soğutuldu ve tartıldı. Polen örneğinden 10 mg tartıldı ve üzerine 3 ml saf su ilave edildi. Bu karışımdan 1'er ml alındı ve dara kaplarına konuldu. 110 $^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış bir etüvde suyu buharlaştırıldı. Buharlaşmanın kolaylaşması için etüve nem çekici olarak kuru bakır sülfat ( $\text{CuSO}_4$ ) konuldu. Bu işlemin sonunda cam kaplar soğutuldu ve tartıldı. Elde edilen ağırlıktan daranın ağırlığı çıkarılarak, materyalin kuru ağırlığı hesapla bulundu. Kuru madde miktarının hesabı polen ekstrelerinin standardizasyonu için yapılmaktadır. Aynı türe ait birden çok ekstrenin seri üretimine geçildiği takdirde; tüm ekstrelerdeki kuru madde miktarının aynı olabilmesi için bu işlemin her polen ekstresi için 10 kez tekrarlanarak yapılması gereklidir (Aytuğ, 1996).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Araştırılan Taksonların Polen Morfolojileri

#### 4.1.1. *Triticum aestivum* L.

**Polen Tipi:** Monoporatae

**Polen Şekli:** Sphaeroidae, A/B= 1.09

**Apertürler:** Porus belirgin, sınırları muntazam, operkulum mevcut ve yuvarlak şekilli, poru tamamı ile örtmemekte, operkulum çapı 4.09  $\mu\text{m}$ . Annulus kalınlığı 2.28  $\mu\text{m}$ . Porus şekli pa/pb: 1.43 sphaeroidae

**Strüktür:** Tectatae

Ex/end=2/1

**Skulptür:** Işık mikroskopunda skulptür granüle olup SEM mikrofotografilerinde de spinulose ekzin yüzeyi gözlenmiştir. Apertür yakınında 1  $\mu\text{m}^2$ 'de yaklaşık 12-15 spin gözlenmiştir. Diğer kısımlarda ise spin sayısı daha az olup yaklaşık 9-12 arasında değişim göstermektedir.

**İntin:** İntin kalın. Porus altında fazla kalınlaşma görülmektedir. Porus altında Ex/int: 2/3. diğer kesimlerde Ex/int:2/1

	<u>M</u>	<u><math>\pm\sigma</math></u>
<b>A :</b>	51.29 $\mu\text{m}$	$\pm 2.31$
<b>B :</b>	46.66 $\mu\text{m}$	$\pm 3.28$
<b>pa :</b>	6.78 $\mu\text{m}$	$\pm 0.91$
<b>pb :</b>	4.71 $\mu\text{m}$	$\pm 0.66$
<b>I :</b>	3.15 $\mu\text{m}$	$\pm 0.54$
<b>İ :</b>	1.01 $\mu\text{m}$	$\pm 0.20$
<b>Ex :</b>	0.91 $\mu\text{m}$	$\pm 0.15$

#### 4.1.2. *Secale cereale* L.

**Polen tipi:** Monoporatae

**Polen şekli:** Sphaeroidae, A/B=1.09

**Apertürler:** Porus belirgin, sınırları muntazam, operkulum mevcut ve polygonal şekilli, poru tamamen kapatmamakta, operkulum çapı ise 3.76  $\mu\text{m}$ . Annulus kalınlığı 2.57  $\mu\text{m}$ . Porus şekli pa/pb: 1.16 Sphaeroidae

**Strüktür:** Tectatae

**Skulptür:** Işık mikroskobunda skulptür granüle olup SEM mikrofotografilerinde de spinulose ekzin yüzeyi gözlenmiştir. Spinüller sık olarak dağılım göstermektedir. Por çevresinde 1  $\mu\text{m}^2$ 'de yaklaşık 11-14 spin gözlenmiştir, diğer kısımlarda ise 8-11 arasında değişim göstermektedir.

**İntin:** İntin kalın. Porus altında fazla kalınlaşma görülmektedir. Porus altında Ex/int: 2/2. diğer kesimlerde Ex/int:2/1

	<u>M</u>	<u><math>\pm\sigma</math></u>
<b>A :</b>	49.63 $\mu\text{m}$	$\pm 3.15$
<b>B :</b>	45.50 $\mu\text{m}$	$\pm 3.07$
<b>pa :</b>	4.71 $\mu\text{m}$	$\pm 0.58$
<b>pb :</b>	4.04 $\mu\text{m}$	$\pm 0.47$
<b>I :</b>	2.65 $\mu\text{m}$	$\pm 0.73$
<b>İ :</b>	0.60 $\mu\text{m}$	$\pm 0.16$
<b>Ex :</b>	0.99 $\mu\text{m}$	$\pm 0.10$

#### 4.1.3. *Oryza sativa* L.

**Polen Tipi:** Monoporatae

**Polen Şekli:** Sphaeroidea, A/B= 1.07

**Apertürler:** Porus belirgin, sınırları muntazam, operkulum mevcut ve elips şeklinde olup poru tamamen kaplamamaktadır, operkulum çapı 1.42  $\mu\text{m}$ 'dir. Annulus kalınlığı 1.73  $\mu\text{m}$ . Porus şekli pa/pb: 1.10 Sphaeroidea

**Strüktür:** Tectatae  
Ect/end=1/1

**Skulptür:** Işık mikroskobunda skulptür granüle olup SEM mikrofotografilerinde de granüle ekzin yüzeyi gözlenmiştir.

**İntin:** İntin kalın. Porus altında fazla kalınlaşma görülmektedir. Porus altında Ex/int: 1/3. diğer kesimlerde Ex/int:1/1

	<u>M</u>	<u><math>\pm\sigma</math></u>
<b>A :</b>	27.30 $\mu\text{m}$	$\pm 1.71$
<b>B :</b>	25.40 $\mu\text{m}$	$\pm 0.99$
<b>pa :</b>	2.77 $\mu\text{m}$	$\pm 0.54$
<b>pb :</b>	2.51 $\mu\text{m}$	$\pm 0.46$
<b>I :</b>	1.18 $\mu\text{m}$	$\pm 0.11$
<b>İ :</b>	0.59 $\mu\text{m}$	$\pm 0.94$
<b>Ex :</b>	0.86 $\mu\text{m}$	$\pm 6.92$

#### 4.1.4. *Avena sativa* L.

**Polen Tipi:** Monoporatae

**Polen Şekli:** Sphaeroidea, A/B= 1.07

**Apertürler:** Porus belirgin, sınırları muntazam, operkulum mevcut ve yuvarlak şekilli olup poru hemen hemen kaplamış durumdadır, operkulum çapı 3.34µm. Annulus kalınlığı 1.73 µm. Porus şekli pa/pb: 0.83 Sphaeroidea

**Strüktür:** Tectatae

Ekt/end=1/1

**Skulptür:** Işık mikroskobunda skulptür granüle olup SEM mikrofotografilerinde gruplaşmış spinulose ekzin yüzeyi gözlenmiştir.

**İntin:** İntin kalın. Porus altında fazla kalınlaşma görülmektedir. Porus altında Ex/int: 1/2. diğer kesimlerde Ex/int:1/1

	<b><u>M</u></b>	<b><u>±σ</u></b>
<b>A :</b>	41.60 µm	± 4.09
<b>B :</b>	38.55 µm	± 4.55
<b>pa :</b>	5.44 µm	± 0.92
<b>pb :</b>	6.48 µm	± 0.99
<b>I :</b>	1.34 µm	± 0.53
<b>İ :</b>	0.63 µm	± 0.19
<b>Ex :</b>	0.94 µm	± 0.21

#### 4.1.5. *Hordeum vulgare* L.

**Polen Tipi:** Monoporatae

**Polen Şekli:** Oblat Sphaeroidea, A/B= 1.00

**Apertürler:** Porus belirgin, sınırları muntazam, operkulum mevcut ve polygonal şekilli olup poru tamamen kaplamamaktadır, operkulum çapı 2.02  $\mu\text{m}$ 'dir. Annulus kalınlığı 2.05  $\mu\text{m}$ . Porus şekli pa/pb: 0.79 Oblat Sphaeroidea

**Strüktür:** Tectatae

Ect/end=1/1.

**Skulptür:** Işık mikroskopunda skulptür granüle olup SEM mikrofotografilerinde spinülose ekzin yüzeyi gözlenmiştir. Spinler sık olarak dağılım göstermemiştir (şekil 4.2.).

**İntin:** İntin kalın. Porus altında fazla kalınlaşma görülmektedir. Porus altında Ex/int: 2/3. Diğer kesimlerde Ex/int:1/1

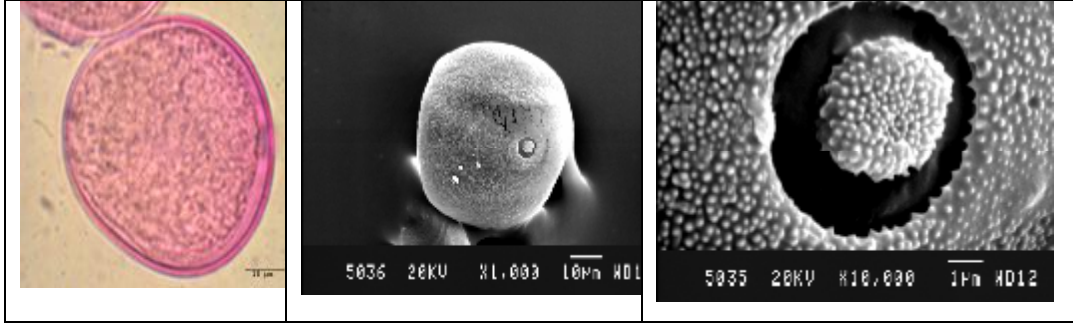
	<u>M</u>	<u><math>\pm\sigma</math></u>
<b>A :</b>	39.17 $\mu\text{m}$	$\pm 3.04$
<b>B :</b>	38.83 $\mu\text{m}$	$\pm 1.94$
<b>pa :</b>	3.65 $\mu\text{m}$	$\pm 0.80$
<b>pb :</b>	4.61 $\mu\text{m}$	$\pm 0.74$
<b>I :</b>	1.83 $\mu\text{m}$	$\pm 0.53$
<b>İ :</b>	0.86 $\mu\text{m}$	$\pm 0.15$
<b>Ex :</b>	0.90 $\mu\text{m}$	$\pm 0.20$

Çizelge 4.1. Çalışılan türlere ait polenlerin parametreleri (M ± S)

Taksonlar	A(µm) M ± S	Varyasyon (µm)	B(µm) M ± S	Varyasyon (µm)	A/B
<i>Triticum aestivum</i> (W)	51.29±2.31	46.86-57.28	46.66±3.28	39.92-53.81	1.09
<i>Hordeum vulgare</i> (W)	39.17±3.04	32.11-43.40	38.83±1.94	35.37-41.66	1.00
<i>Secale cereale</i> (W)	49.63±3.15	43.40-56.41	45.50±3.07	39.92-50.34	1.07
<i>Oryza sativa</i> (W)	27.30±1.71	22.56-29.51	25.40±0.99	23.43-27.77	1.07
<i>Avena sativa</i> (W)	41.60±4.09	37.32-55.54	38.55±4.55	32.98-50.34	1.07

Çizelge 4.1. Devamı

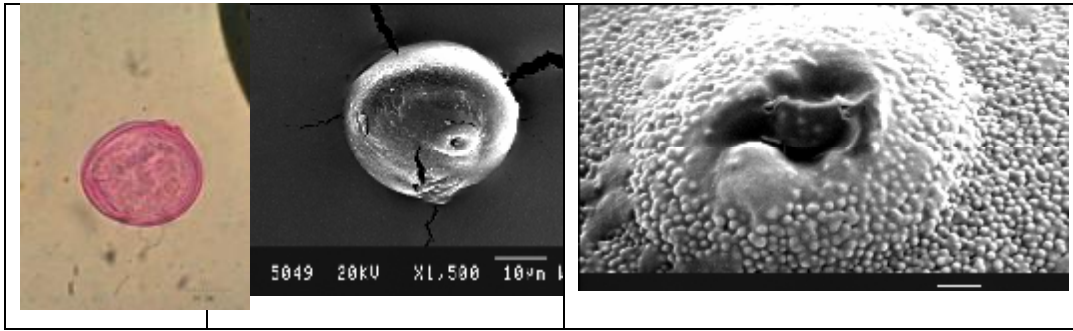
Taksonlar	Pa (µm) M ± S	Varyasyon (µm)	Pb (µm) M ± S	Varyasyon (µm)
<i>Triticum aestivum</i> (W)	6.78± 0.91	4.34-7.81	4.71± 0.66	3.47-6.07
<i>Hordeum vulgare</i> (W)	3.65± 0.80	1.73-5.20	4.61± 0.74	2.60-6.07
<i>Secale cereale</i> (W)	4.71± 0.58	3.47-6.07	4.04±0.47	3.47-6.07
<i>Oryza sativa</i> (W)	2.77± 0.54	2.17-3.47	2.51±0.46	1.73-3.03
<i>Avena sativa</i> (W)	5.44 ±0.92	3.47-7.37	6.48± 0.99	4.12-9.54



A

B

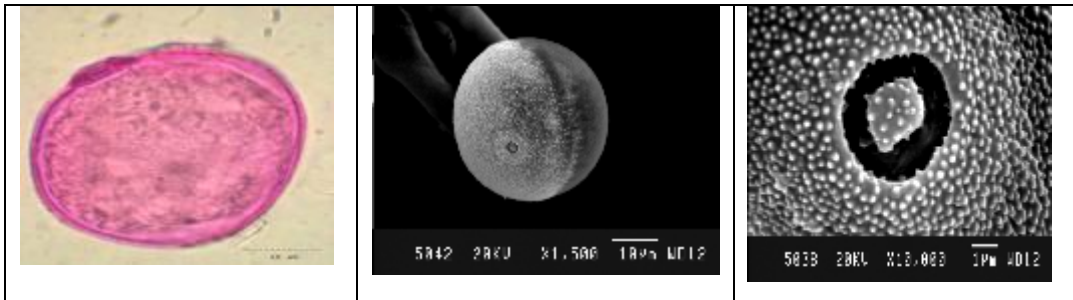
C



D

E

F

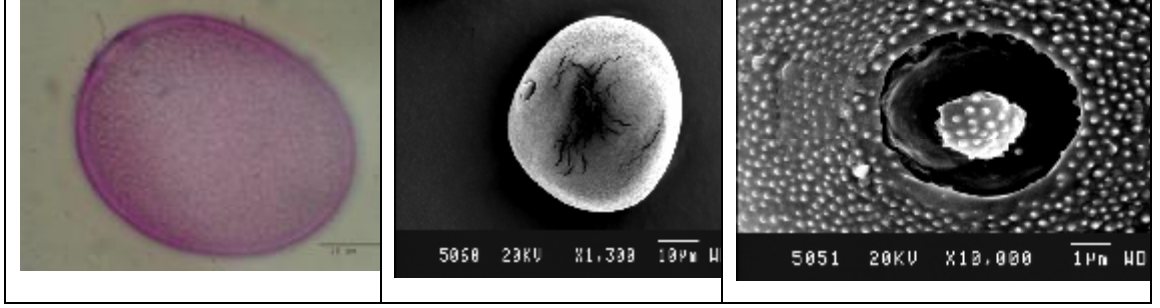


G

H

I

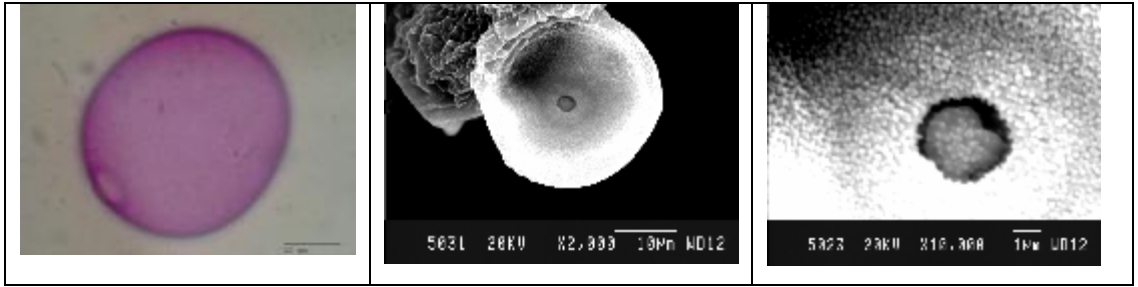
**Şekil 4.1.** *Triticum aestivum* L. (A-C) A. Ekvatorial görünüş X1000 (IM) B. Polar görünüş X1000 (SEM) C. Apertür X 10.000 (SEM) *Oryza sativa* L. (D-F) D. Ekvatorial görünüş X400 (IM) E. Polar görünüş X 1500 (SEM) F. Apertür X 10.000 (SEM) *Secale cereale* L. (G-I) G. Ekvatorial görünüş X 1000 H. Polar görünüş X 1500 (SEM) I. Apertür X 10000 (SEM).



A

B

C



D

E

F

**Şekil 4.2.** *Hordeum vulgare* L. (A-C) A. Ekvatorial görünüş X1000 (IM) B. Ekvatorial görünüş X1300 (SEM) C. Apertür X 10.000 (SEM) *Avena sativa* L.(D-F) D. Ekvatorial görünüş X 1000(IM) E. Polar görünüş X 2000 (SEM) F. Apertür X 10.000 (SEM) .

## 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada Trakya bölgesinde, alerjen olduğu bilinen ve geniş ölçüde kültürü yapılan Gramineae familyasına ait beş taksonun polen morfolojisi IM ve SEM ile incelenerek, polen ekstraları hazırlanmıştır.

Monokotil bitkilerde, polen ve anter karakterleri, sistematik açıdan önemlidir. Bu karakterlerin sistematik çalışmalarda kullanımına ait birçok örnek çalışma bulunmaktadır. (Furness ve Rudall, 2001). Faegri & Iversen (1989) ve Anderson (1972), çayır polenlerinin tek tip yapısının olmasının polen analizi çalışmalarında büyük sorunlara neden olduğunu ileri sürmektedirler. Faegri & Iversen (1989) polen boyutlarına ve polen duvarı morfolojisine göre Gramineae polenlerini 10 sınıfa ayırmışlardır. Ancak SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) tekniklerinin kullanılmaya başlanması ile Gramineae familyasına ait polenlerin ekzin yüzey özelliklerinin çok çeşitli olduğu saptanmıştır. Andersen & Bertelsen (1972) ve Köhler & Lange (1979) kültürü yapılan Gramineae polenleri ile yabancı Gramineae'lerin polenlerinin ekzin yüzey ornamentasyon farklılıklarını belirtmişlerdir.

Araştırılan taksonlara ait polenlerin ortak özellikleri, sphaeroidae, oblata sphaeroidae, monoporate, operculate, ekzinin tectatae olmasıdır (Şekil 4.1, 4.2.). Gramineae polenleri genellikle sphaeroidae, ya da kısmen ovoidal olup, polen boyutları 22 -100 µm ve biraz üzerinde değişim göstermektedir. Apertür bölgesinde belirgin bir operkulum görülür, bu familya polenleri genel olarak psilate ekzin yüzeyine sahip olabilir, daha yüksek büyütmelelerde ise ince granüler ya da reticule bir yapı görülür (Erdtman, 1954). Faegri ve Iversen'e göre (1989) Gramineae polenlerinin ayırt edici karakterleri oldukça azdır. En çok kullanılan karakterler por çapı, polen boyutu ve annulus kalınlığıdır. Bütün bu karakterler arasında özellikle polen boyutu önemli değişiklikler göstermektedir. Gramineae polenleri bazen, IM'da gözlenmesi zor olan verrucae ornamentasyonuna sahiptir. *Secale cereale* L. için P/E oranının 1.25 den daha fazla ve scabrate ornamentasyona sahip olduğunu *Triticum aestivum* L. ve *Avena sativa*

L. için ise P/E oranının 1.25 den daha az olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda ise *Secale cereale* L. 'de A/B oranı 1.09 olup bu araştırmacıların sonucundan daha düşüktür. *Triticum aestivum* L.'da (1.09) *Avena sativa* L. (1.07) için A/B oranı uyumluluk göstermektedir.

Işık mikroskobu ile yaptığımız çalışmalarda polen boyutlarının taksonlar arasında farklılık gösterdiği saptanmıştır. En uzun polen boyutu *Triticum aestivum* L. 'de (46.86-57.28 X 39.92-53.81  $\mu\text{m}$ ), en küçük polen boyutu ise *Oryza sativa* L.'da (22.56-29.51 X 23.43-27.77  $\mu\text{m}$ ) gözlenmiştir (Çizelge 4.1.). Aynı taksonlarda daha önce yapılan çalışmalarda *Secale cereale* L.'de polen boyutları 42-44.5  $\mu\text{m}$ , 41.9  $\mu\text{m}$ , 40-62  $\mu\text{m}$ , 38.2-51  $\mu\text{m}$ , *Triticum aestivum* L.'de 47.7, 46.6-52  $\mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir (Erdtman, 1954). Bu sonuçlar, bulgularımız ile uyum göstermiştir. Chaturvedi vd. (1998) *Oryza sativa* L. ırklarında yaptığı çalışmada polen boyutlarını 36-56  $\mu\text{m}$  olarak vermiştir. Por uzunluğu en fazla yine *Triticum aestivum* L.' de iken en kısa *Oryza sativa* L.'da belirlenmiştir. Porusun eni ise en fazla *Avena sativa* L.'da ölçülmüştür. Annulus kalınlığı *Secale cereale* L. 'de (2.57  $\mu\text{m}$ ) ve *Triticum aestivum* L.'da (2.28  $\mu\text{m}$ ) araştırılan diğer taksonlara göre daha fazladır. Operkulum çapı ise *Triticum aestivum* L. (4.09  $\mu\text{m}$ ) ve *Secale cereale* L.'de (3.76  $\mu\text{m}$ ) de *Oryza sativa* L. (1.42  $\mu\text{m}$ ), *Avena sativa* L. (3.34  $\mu\text{m}$ ) *Hordeum vulgare* L.' ye (2.02  $\mu\text{m}$ ) göre daha büyük tespit edilmiştir. Operkulumun şekli *Triticum aestivum* L. ve *Avena sativa* L.'da yuvarlak, *Secale cereale* L. ve *Hordeum vulgare* L.'de polygonal, *Oryza sativa* L.'da ise elips olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1, 4.2.). *Triticum aestivum* L.'da intin diğer araştırılan taksonlara göre daha kalındır. Ekzin kalınlığı *Secale cereale* L.'de en kalın olup en ince olduğu takson ise *Oryza sativa* L.'dir (Çizelge 4.1).

Araştırılan taksonların ekzin skulptürleri IM'da granül olmasına karşın SEM araştırmalarına göre *Avena sativa* L., *Triticum vulgare* L., *Secale cereale* L., ve *Hordeum vulgare* L.'de spinulose iken *Oryza sativa* L.'da granulose olarak belirlenmiştir (Şekil 1-2). Bu familya polenleri ile ilgili SEM çalışmalarında Chaturvedi vd. (1998) *Oryza* türlerinde spinulose, insular, ve granulose ornemantasyon tiplerini saptamışlar. Datta ve Chaturvedi (2004) *Oryza Sativa* L.'da ekzin skulptürünü insular, spinülose, karışık spinülose olarak belirtmişlerdir. Chaturvedi vd. (1994), *Sorghum*

(Gramineae) cinsine ait 23 türün polenlerinin ekzin yüzey özelliklerini SEM ile incelemiş ve temel anlamda iki grup ekzin ornemantasyon tipini gözlemlemiştir. Granular tip ekzin ornemantasyonuna sahip polenleri, granüllerin serbest ya da bir arada oluşlarına göre kendi içinde 5 gruba ayırmıştır. Diğer temel grup olan insular tip ekzin ornemantasyonlarını da iki tipe ayırmıştır.

Yapılan çalışmada, insan sağlığı açısından son derece önemli olan ve alerjen etkisi olduğu bilinen Gramineae familyasına ait beş taksonun polen ekstraktları hazırlanmıştır. Trakya bölgesi, ülkemiz tahıl üretiminde önemli bir paya sahiptir ve bölge insanının önemli bir kısmı geçimini tarımdan temin eder. Ekimi yapılan tarım ürünlerinin başında, çalışmamızdaki taksonlar gelmektedir. Ancak bu taksonlar tarımsal açıdan önemli olduğu gibi alerjen etkileri yönünden de oldukça önemlidir. İnsan sağlığı açısından son derece önemli olan bu taksonların polenlerinin içeriklerinin ekstrakte edilebilmesi için kullanılan Coca solüsyonu bugüne kadar birçok çalışmada ekstraktif materyal olarak kullanılmıştır. Aytuğ vd. (1991) bu solüsyonla, 39 adet saf polen ekstraktları elde etmişlerdir. Çolakoğlu (2002), alerjenik mikrofungi bireylerinin ekstraksiyonlarını hazırlamış ve ekstraksiyon çalışmalarında Coca solüsyonunu kullanmıştır. Liu vd. (2004), *Artemisia apiaceae* polenlerinin içerdiği majör alerjenlerin tanımlanması ve karakterizasyonunda Coca solüsyonunu kullanarak polen içeriğinin polenden ayrılmasını sağlamışlardır.

Türkiye’de alerjik hastalıkların teşhis ve tedavilerinde kullanılan preparatların Türkiye kökenli materyallerden, Türkiye’de yapılması gerekliliğine inanmaktayız. Çünkü bu tür alerjik hastalıkları meydana getiren etmenler bu ülkenin alerjen maddeleridir. Türkiye’de alerjen hastalıkların teşhis ve tedavilerinde kullanılan ekstraktların yabancı ülkelerde hazırlanmış ekstraktlar olması bu günün koşullarında uygun olmayabileceği savından yola çıkarak çalışmamızda daha önce ekstraktları elde edilmemiş olan bölgemizde geniş ölçüde kültürü yapılan Gramineae familyasına bitkilerinin polen ekstraktlarını hazırladık. Elde edilen ham polen ekstraktları, gerekli testlerden geçirildikten sonra klinik çalışmalarda kullanılabilir.

Yerli ekstrelerin yapımı, bölgemiz insan sağlığı yönünden önemli olmasının yanında ülke ekonomisi açısından da önem taşımaktadır. Ülkemizde alerjik hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan polen ekstrelerinin büyük çoğunluğu ithal edilmektedir. Eğer yerli ekstrelerin yapımına gerekli destek verilirse, ithal etmek zorunda kaldığımız polen ekstrelerini kendimiz üretebileceğimiz ve bu yolla ülkemiz ekonomisine katkılar sağlayabileceğimiz inancındayım.

Alerjik hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan ekstreler birçok spesifik olmayan proteinler içermektedir. Bu anlamda alerjik rahatsızlıkların daha etkili teşhis ve tedavisinde polen kökenli alerjenlerin karakterizasyonu büyük önem kazanmaktadır. Coca solüsyonu kullanılarak hazırlanan ekstraktlar polenin yapısında bulunan bütün proteinleri kapsamaktadır. Bu anlamda hazırladığımız ham ekstraktlar daha sonra majör alerjenlerin karakterizasyonu ve izolasyonu çalışmalarında tarafımızdan faydalanılmak üzere temel materyal olarak kullanılacaktır.

Ayrıca çalışmada ışık mikroskobu ve SEM incelemesi ile elde edilmiş olan morfolojik bulgular sistematik açıdan önemli olup bu alandaki çalışmalara yardımcı olacak niteliktedir.

## 6. KAYNAKLAR

Andersen, S. TH., Bertelsen, F., 1972, "Scanning electron microscope studies of pollen of cereals and other grasses", Grana, 12: 79-86.

Armentia, A., Asensio, T., Subiza, J., Arranz, M.L., Martin, Gil J., Callejo, A., 2004 "Living in Towers as Risk Factor of Pollen Allergy" Allergy, 59: 302-305.

Aydilek, R., Kunter, E., 1994, "Alerjik Hastalıklarda İmmünoterapi", Medikal Dergi, 100: 83-94.

Aydilek, R., Kartaloglu Z., 1994 "Polenler (Aeroallerjen olarak)", Medikal Dergi, 100: 128-133.

Aytuğ, B., 1967 " Polen Morfolojisi ve Türkiye'nin Önemli Gymnospermleri Üzerinde Palinolojik Araştırmalar", İ.Ü. Orman Fakültesi Yayınları, 1261/114.

Aytuğ, B., 1974 "Calenderier Pollinique en Turquie Region d'Istanbul et Autres Regions a Flore Identique de Turquie dans Atlas European Allergisants", Sandoz editions 205-216.

Aytuğ, B., Güven, K.C., 1985, "Türkiye'de Satılan Polen Preparatlarının Analizi", Acta Pharmaceutica Turcica 27: 45-48.

Aytuğ, B., Peremeci, E., 1987, "Pollen grains; pollinosis and pollen extracts", Journal of Faculty of Medicine, I.U. 50:163-170.

Aytuğ, B., Efe, A., Kürşad, C., 1990, "Trakya'nın Alerjen Polenleri", Acta Pharmaceutica Turcica, 32: 67-88.

Aytuğ, B., Dal, M., Çolakoğlu, B., Öner, A., Peremeci, E., Temiz, D., Güvener, B., Büyükdevrim, S., Güven, K.C., 1991, "Türkiye Alerjik Polenlerinden Polen Ekstresi Hazırlanması ve Deri Testi Uygulamaları", *Acta Pharmaceutica Turcica*, 33: 85-95.

Aytuğ, B., 1996, "Polen Ekstrelerinin Hazırlanması" Yüksek Lisans Ders Notları.

Ayvaz, A., 2001, "Trabzon atmosferindeki aeroalerjenlerin mevsimsel dağılımı ve çocukluk çağı solunum alerjilerindeki klinik önemi", Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Danışman: Prof. Dr. Yusuf Gedik, Trabzon

Baldo, BA., Sutton, R., Wrigley, CW., 1982, "Grass allergens with particular reference to cereals", *Prog. Allergy*, 30: 1-66.

Beggs, P.J., 2004, "Impacts of climate change on aeroallergens: past and future", *Clin Exp Allergy*, 34:1507-1513.

Bıçakçı, A., Olgun, G., Aybeke, M., Erkan, P., Malyer, H., 2004, "Analysis of Airborne Pollen Fall in Edirne, Turkey", *Acta Botanica Sinica*, 46 (10): 1149-1154.

Bousquet, J., Cour, P., Guerin, B., Michel, F.B., 1984, "Allergy in the Mediterranean area. I. Pollen counts and pollinosis of Mont Pellier", *Clinical Allergy*, 14: 249-258.

Brusic, V., Millot, M., Petrovsky, N., Gendel, M.S., Gigonzac, O., Stelman, S.J., 2003, "Allergen Databases", *Allergy*, 58: 1093-1100.

Bryant, R.H., Emberlin, J.C., Norris-Hill, J., 1989, "Vertical variation in pollen abundance in North-Central London", *Aerobiologia*, 14: 131-134.

Çırakoğlu, B., 2003, "Bağışıklık Sistemi" *Bilim ve Teknik* Mart 2003 sayısının ücretsiz eki.

Charpin, J., Surinyach, R., Frankland, A.W., 1974, "Atlas of European Allergenic Pollens", Sandoz Editions, Paris.

Chaturvedi, M., Yunus, D., Datta, K., 1994, "Pollen morphology of Sorghum Moench-Sections Eu-sorghum and Para-sorghum" Grana, 33: 177-123.

Chaturvedi, M., Datta, K., Nair, P.K., 1998, "Pollen Morphology of Oryza (Poaceae)", Grana, 37: 79-86.

Çolakoglu, G., 2002, "Extractions of *Rhizopus nigricans* Ehrenberg and *Penicillium Expansum* (Link) Thom From allergenic microfungi and application of Toxicity Tests", Turkish Electronic Journal of Biotechnology, Special issue p:1-5.

Corti, V., Cattaneo, A., Bachi, A., Rossi, R.E., Monasterolo, G., Paolucci, C., Burastero, E.S., Alessio, M., 2005, "Identification of Grass Pollen Allergens by Two-Dimensional Gel Electrophoresis and Serological Screening", Proteomics, 5: 729-736.

D'Amato, G., Spiekma, F.Th.M., Liccardi, G., 1998, "Pollen-related Allergy in Europe. Position Paper of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology", Allergy, 53: 567-578.

D'Amato, G., 2000, "Urban Air Pollution and Plant Derived Respiratory Allergy", Clin Exp Allergy, 30: 628-636.

Datta, K., Chaturvedi, M., 2004, "Polen morphology of Basmati cultivars (*Oryza sativa* race Indica)- exine surface ultrastructure" Grana, 43: 89-93

Davies, R.R., Smith, L.P., 1973, "Forecasting the start and severity of the hay fever season", Clinical Allergy, 3: 263-267.

Emberlin, J., Jones, S., Bailey, J., Caulton, E., Corden, J., Dubbels, S., Evans, J., Mcdonagh, N., Millington, W., Mullins, J., Russel, R., Spencer, T., 1994, "Variation in

the Start of the Grass Pollen Season at Selected Sites in the United Kingdom 1987-1992”, Grana, 33: 94-99.

Erdtman, G., 1954, “An Introduction to Pollen Analysis”, The Chronica Botanica Company. Stockholm.

Erdtman, G., 1969, “Handbook of palynology, Morphology-Taxonomy-Ecology”, Hafner Publishing, Newyork.

Esch, R.E., Hartsell, C.J., Crenshaw, R., Jacobson, R.S., 2001, “Common allergenic Pollens, Fungi, Animals, and Artropods”, Clinical Reviews in Allergy and Immunology, 21:261-263

Faegri, K. and Iversen, J., 1989, “Textbook of Pollen Analysis”, 4th edition. Alden Press, London.

Fahlbusch, B., Hornung, D., Heinrich, J., Dahse, M., Jager, L., 2000, “Quantification of group 5 grass pollen allergens in house dust”, Clinical and Experimental Allergy 30: 1645-1652.

Furness, C.A., Rudall P.J., 2001, “Pollen and anther characters in monocot systematics” Grana 40: 17-25.

Guerin, B., 1980, “Collecte Et Controle Des Pollens Pre’paration Des Extraits, Collecte Des Pollens”, Rev Franc, 20: 193-196.

İnceoğlu, Ö., Pınar, N.M., Şakıyan, N., 1994, “Airborne pollen concentration in Ankara”, Grana, 33:158-161.

Kalyoncu, A.F., 1994, “Türkiye’de Astım ve Alerji Hastalıklarının Konumu ve Epidemiyolojisi”, Medikal Dergi. 100: 49-55.

Kremp, G.O.W., 1965, "Morphologic Encyclopedia of Palynology", Univ. Arizona Press, Tucson, Arizona.

Köhler, E., Lange E., 1979, " A contribution to distinguishing cereal from wild grass pollen grains by LM and SEM" Grana, 18:133-140

Linder, H. P, Ferguson, I. K., 1985, "Notes on the Pollen Morpholgy and Phylogeny of the Restionales and Poales", Grana, 24: 65-76.

Liu, Z.G., Yang, H, Su, D.M, Luo, S.W., 2004, "Purification and identification of the major alergens in *Artemisia apiacea* pollen" Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 36 (2): 163–167.

Malik, P., Singh, A.B., Babu, C.R., 1991, "Atmospheric concentration of pollen grains at human height", Grana, 30: 129-135.

Markgraf, V., D'Antoni, Hector L., 1978, "Pollen Flora of Argentina, Modern Spore and Pollen Types of Pteridophyta, Gymnospermae and Angiosparmae", The Üni. of Arizona Press, Tuscon, Arizona.

Moseholm, L., Weeke, E.R., Petersen, N.B., 1987, "Forecast of Pollen Concentrations of Poaceae (Grasses) in the Air by Time Series Analysis", Polen Et Spores, 29: 305-322.

Ogden, E.C., Raynor, G.S., Hayes, J.V., Lewis, D.M. and Haines, J.H., 1974, "Manuel for Sampling airborne Polen", Hafner Press, Newyork.

Özkaragöz, K., Karamanoğlu, K., 1967,"Allergenic pollen and mold spore survey in The Ankara area" Acta Allergol, 22: 399-407

Paşaoğlu, G., Çelik, G., 2002, "Alerjenler", T. Klin Alerji-Astım 4: 24-35.

Pehlivan, S., 1984, "Aeropalinolojik çalışmaların tıptaki önemi", Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 41(3): 315-323.

Pehlivan, S., 1994 "Scanning electron microscope studies of the pollen grains of some Turkish endemic Centaurea, J. Fac. Pharm.Gazi" 11(2), 205-211

Pehlivan, S., 1995, "Türkiye'nin Alerjen Polenleri Atlası", 1. Baskı. 1 S", Ünal Ofset, Ankara.

Pehlivan, S., Bayrak, F., Aldemir, H., Kılıç, N., 2001, "Türkiye'deki bazı endemik bitki türlerinde polen morfolojisi, total protein ve kimyasal analizler" Mellifera 1-2:18-23.

Pehlivan, S., Özler, H., Bayrak, F., 2003, "Türkiye'deki Salicaceae ve Aceraceae familyalarının bazı türlerinin polen morfolojileri ve toplam protein analizleri" Mellifera 3-5:19-22.

Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S., Le Thomas, A., 1994, "Glossary of Pollen and Spore Terminology" LPP foundation, Utrecht.

Salgado Labouriau, L.M., Nilsson, S., Rinaldi, M., 1993 "Exine sculpture in *Pariana* pollen (Gramineae)", Grana, 32: 243-249.

Saraçlar, Y., Kuyucu, S., 1997, "Alerjik Rinitte Klinik Bulgular, Tanı ve Tedavi" Katkı Pediatri Dergisi, 18(6): 680-691.

Schappi, G. F., Taylor, P.E., Pain, M.C.F., Cameron, P.A., Dent, A.W., Staff, I.A., Suphioglu, C., 1999, "Concentrations of major grass group 5 allergens in pollen grains and atmospheric particles: implications for hay fever and allergic asthma sufferers sensitized to grass pollen allergens", Clinical and Experimental Allergy, 29: 633-641.

Singh, MB., Bhalla, PM., 2003, "Hypoallergenic derivatives of major grass pollen allergens for allergy vaccination", Immunology and Cell Biology, 81: 86-91.

Spieksma, F.T.M., Nikkels, A.H., 1998, "Airborne grass pollen in Leiden, the Netherlands: Annual variation and trends in quantities and season starts over 26 years", *Aerobiologia*, 14: 347-358.

Stennett, P. J., Beggs P.J., 2004, "Pollen in the atmosphere of Sydney, Australia, and relationships with meteorological parameters", *Grana*, 43: 209-216.

Ünal, M., 2004, "Bitki (Angiosperm) Embriyolojisi", 2. Baskı, Mart Matbaası, İstanbul

Van Vliet, A.J.H., Overem, A., De Groot, R.S., Jacobs, A.F.G., Spieksma F.T.M, 2002, "The Influence of Temperature and Climate Change on the Timing of Pollen Release in the Netherlands" *International Journal of Climatology*, 22: 1757-1767.

Wodehouse, R.P., (1935) *Pollen Grains*, McGraw-Hill, New York.

## 7. EKLER

### Ek-A -TERMİNOLOJİ

**Aeroalerjen:** Solunum yoluyla vücuda giren alerjenler, saman nezlesi ve alerjik astıma neden olan polenler bu grupta yer alıyor.

**Alerjen:** Alerjiye neden olan maddelere verilen ad (Çırakoğlu, 2003).

**Anafilaksi (Alerjik Şok):** Tüm vücutta görülen alerjik reaksiyonlar (Çırakoğlu, 2003)

**Annulus:** Porus etrafında, ektekin kalınlaşmasında halkaya benzer alan (Charpin, 1974)

**Apertür:** Polen tüpünün çıkabileceği ekzin'in zayıf kesim-porus ve colpus (Charpin, 1974)

**Atopi:** Alerjiye genetik olarak yatkın olmak (Çırakoğlu, 2003).

**Ekzin:** Polen çeperinin kuvvetli asit ve bazlara dayanıklı olan ve temel olarak sporopollenin yapısında olan, en dıştaki katmanı (Punt vd.,1994).

**Germinal zon:** Polen tübünün oluşmasına yardım eden, yapısal olarak değişime uğramış, genellikle zayıflamış polen çeper bölgesi. Genellikle colpus veya porus biçimindedir ki bu polenin hacim değişimlerini düzenler (Ogden, 1974).

**Granule:** (Granulose, granular) Genellikle organize tarzda grublaşmamış. 1 µm'den daha küçük elemanlar sahip ekzin yapısı (Faegri ve Iversen, 1989).

**IgE Antikoru:** Normalde IgE serumda düşük miktarda bulunan ancak parazitik enfeksiyonlarda ve alerjik durumlarda miktarı artan molekül ağırlığı 190 kD olan

monomer bir moleküldür. IgE'nin büyük bir bölümü, savunma hücreleri olan bazofil ve mast hücrelerinin yüzeyine bağlı durumdadır. IgE herhangi bir alerjenle (alerjiye sebep olan faktör) etkinleştğinde, bu hücreler birtakım aracı kimyasal maddelerin salgılanması başlatılarak tepki gösterilir (Çırakoğlu, 2003).

**İnsulae (Areola):** Polygonal yada daire şeklinde ayrılmış bölgelerden oluşmuş ektekin ya da sekzindeki ornamentasyon (Punt vd.,1994).

**İntin:** Polen çeperinin en iç tabakası. Sadece taze polenlerde görülür (Charpin, 1974).

**Monoporate:** Polen tek bir pora sahip (Charpin, 1974).

**Nekzin:** Aşağı yukarı endekzine eşdeğer olan yapı (Kremp, 1965).

**Oblat:** Polenin P : E oranı 0.50-0.75 olduğunda aldığı şekil (Markgraf ve ark, 1978)

**Oblat Spheroidae:** Polenin Polar ekseninin (P), ekvatorial çapa (E) oranı 1.00-0.88 arası olduğunda aldığı şekil (Markgraf ve ark, 1978)

**Operkulum:** Apertür membranı üzerinde bulunan ektekin ve endekzin parçası (Ogden, 1974).

**Ornamentasyon:** Ekzinin dıştan yapısal görünüşü (Erdtman, 1969)

**Psilate:** Polenin ekzin yüzeyinin düz olması (Erdtman, 1954)

**Polen Şekli:** Ekvatorial görünüşte, polenin polar ekseninin (P), ekvatorial eksene (E) oranı (Erdtman, 1969)

**Porus-Pori:** Sirkular veya eliptiğe yakın, uzunluğunun genişliğine oranı 2 den daha küçük olan apertür (Faegri ve Iversen, 1989).

**Reticule:** Muri ve lumina tarafından oluşturulan ekzinin ağa benzer yapı ile kaplanması (Faegri ve Iversen, 1989).

**Sekzin:** Aşağı yukarı ektekzine eşdeğer olan yapı (Kremp, 1965)

**Scabrate:** Ektekzin elemanlarından tektum üzerinde 1µm'den daha küçük dikensi ekzin yapısı (Kremp, 1965).

**Skulptür=Ornamentasyon:** Ekzin dış görünüşünün dış yüzü (Aytuğ, 1967)

**Spheroidae:** Polenin Polar ekseninin (P), ekvatorial çapa (E) oranı 0.88-1.14 arası olduğunda aldığı şekil (Markgraf, 1978).

**Spinulose (spinule):** 3 µm uzunluğundan daha küçük spinlerin oluşturduğu ekzin ornamentasyonu (Punt vd.,1994).

**Strüktür (Yapı):** Ekzin yüzeyinin değil, optik kesitinin yardımı ile kesitinin görünüşüdür (Aytuğ, 1967).

**Tetrad:** Anter'de polen ana hücrelerinin bölünmesi ile oluşan 4 hücrenin birarada bulunması durumu (Charpin, 1974).

**Verrucae:** Genişliği yüksekliğinden daima daha fazla sığile benzer ekzin yapısı (Kremp, 1965).

## ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı:	Evren Cabi
Doğum yeri ve yılı:	Edirne- 1980
Yabancı dil:	İngilizce
E-mail	<a href="mailto:ecabi2004@yahoo.com">ecabi2004@yahoo.com</a>

### Öğrenim Durumu

1986- 1991	Sokullu İlkokulu/Edirne
1991- 1994	Havsa Ortaokulu/Edirne
1994- 1998	Edirne Lisesi/Edirne
1998- 2002	Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü/İzmir