

Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek Anterlerinde Polen Ana Hücrelerinin Mayoz Bölünmesinde Görülen Aksaklıkların Işık Mikroskopunda İncelenmesi

Rabia GÜVEN YILMAZ¹ H. Nurhan BÜYÜKKARTAL¹ Gönül ALGAN¹

Geliş Tarihi: 12.05.2004

Öz: Bu çalışmada doğal bir melez olan *Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek üzüm çeşidi anterlerindeki, polen ana hücrelerinin mayoz bölünmesinde görülen anormallikler ışık mikroskopunda incelenmiştir. Bu bitkide anter çeperi epidermis, endotesyum, 1-2 sıralı ara tabaka ve 1-2 sıra çok çekirdekli tapetum hücrelerinden meydana gelmiştir. En içte ise, 8-10 mikrospor ana hücresi görülmüştür. Mikrospor ana hücrelerinin çoğunda mayoz bölünme düzenlidir. Fakat bazı hücrelerde düzensizliklere rastlanmıştır. Mikrospor ana hücrelerinde çekirdek zarının kalınlaştığı görülmüştür. Prometafazda kromozomların halka veya grup halinde birleşmiş oldukları tespit edilmiştir. Metafaz I'de univalent ve bivalent kromozomlar gözlenmiştir. Anafaz I'in sonunda ayrılamayan kromozom grupları arasında köprü oluşumu gözlenmiştir. Mikrospor tetradları isobilateral ve tetrahedral şekillidir. Sitokinez ise simultane tiptedir.

Anahtar Kelimeler : *Vitis vinifera* L., mikrosporogenez

Light Microscopic Study on Meiosis Anomalies of Pollen Grains Mother Cells in Anthers of *Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek

Abstract : In this study on meiosis anomalies of pollen mother cells in anthers of natural hybrid *Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek were examined by light microscopy. The anther wall of *Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek consist of epidermis, endotesyum, 1-2 middle layers, 1-2 multinucleate tapetum and 8-10 microspore mother cells. In most microspore mother cells, the course of meiosis is regular. In some cells irregularities have been observed. Nucleus membrane of microspore mother cells were seen to become thick. In prometaphase were found ring and group shaped to united chromosomes. In metaphase I were observed univalents and bivalents chromosomes. In the end of anaphase I the bridges between the separating chromosome groups were seen. Microspore tetrads were observed isobilateral and tetrahedral. Cytokinesis was of the simultaneous type.

Key Words : *Vitis vinifera* L., microsporogenesis

Giriş

Vitis vinifera L. türünde iki çiçek tipi görülmektedir. Bunlar erdişi (hermafrodit) ile fonksiyonel dişi yani morfolojik erdişi fizyolojik dişi çiçeklerdir. Erdişi çiçeklerde erkek ve dişi organ genellikle normal, morfolojik erdişi fizyolojik dişi çiçeklerde ise erkek organlar tozlanma ve döllenmeyi engelleyecek kusurlara sahiptir.

Bu çalışmada incelenen Karagevrek (Büzgülü) üzüm çeşidi, Orta Anadolu koşullarına daha iyi uyum sağlamıştır. Tohum taslaklarının yapısında ve gelişme evrelerinde herhangi bir anormal durum görülmemesine karşın (Fidan 1975), bu çeşidin çiçek tozlarının tamamen kısır olması nedeniyle yabancı dölllenme olmadığı zaman partenokarpik çekirdeksiz taneler oluşmaktadır.

Vitis vinifera da mikrospor ana hücrelerinin mayoz bölünmesi ile ilgili olarak bazı çalışmalar yapılmıştır.

Alley (1957) *Vitis vinifera* L.'de bölünme evrelerini incelemiş ve kromozomlarda hareketsizlik olduğunu ortaya koymuştur.

Hilpert (1958 ve 1959) ezme metodu ile yaptığı çalışmasında *V. vinifera* L. türünde mayoz bölünmenin

erken evrelerinde kusurlu gelişmelerin olduğunu belirtmiştir. Mayoz bölünmenin pakiten evresini incelemiş ve yapı olarak normal olmayan pakiten kromozomu görmüştür.

Vitis cinsinin sitolojik özelliklerini araştıran Jelenkoviç ve Olmo (1968) *V. vinifera* L. (2n=38) ve *V. rotundifolia* Michx. (2n=40) arasındaki diploid F1 melezlerinin kromozom analizlerini yapmışlardır.

Staudt ve Kassrawi (1972), tarafından Riesling üzüm çeşidinde spontan olarak ortaya çıkan tetraploid mutasyon ve diploid çeşitlerdeki mayoz bölünme evrelerini incelemişlerdir.

Diploid ve tetraploid *V. vinifera* L. cv. Barbera'da polen ana hücrelerinin incelendiği bir başka çalışmada ise, diakinezde bivalent, metafaz I' de trivalent ve tetravalent kromozomlara rastlanmıştır (Me ve ark. 1984).

Viljoen ve Spies (1995), *V. vinifera*, *V. rotundifolia* ve *V. rupestris* türleri arasındaki genomik ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında ise, bu üç türün çaprazlamasıyla oluşan F1 melezlerinin mayotik kromozomlarını incelemişlerdir.

* Yüksek Lisans Tezinden Hazırlanmıştır.

¹ Ankara Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü-Ankara

Zhang ve ark. (1998) ise yine *Vitis labrusca* X *V. vinifera* melezlerinde diploid ve teraploid polenlerin sitogenetik gelişimlerini incelemişlerdir.

Vitis vinifera L. cv. Sangiovese çeşidinde polen gelişiminin yapısal özellikleri ise Cresti ve Ciampolini (1999) tarafından araştırılmıştır.

Marasalı ve ark. (1999) *V. vinifera* cv. Çavuş üzüm çeşidinde çiçek tozu kısırlığı ve iyonize radyasyon uygulamalarının kısır çiçek tozları üzerindeki etkilerini incelemişlerdir.

Bu çalışmamızda doğal bir melez olan *V. vinifera* L. cv Karagevrek çeşidinde kısır çiçek tozu oluşumundaki aksaklıkların incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Vitis vinifera L. cv. Karagevrek çeşidi anterlerindeki polen ana hücrelerinin mayoz bölünmesinde görülen anormalliklerin araştırıldığı bu çalışma 1998-2000 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Bağları ile Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Çalışmada deneme bağından alınan *V. vinifera* L. cv. Karagevrek çeşidi çiçek tomurcukları kullanılmıştır. 28 Nisan-28 Mayıs tarihleri arasında her gün sabah saat 9.30 ile 10.30 arasında tomurcuktan itibaren çiçek evrelerinden örnekler alınmıştır. Çiçek tomurcuklarındaki anterler binoküler mikroskop altında örtü yapraklarından ayrıldıktan sonra Formalin-Asetik asit-Alkol (FAA) tespit çözeltisinde hem tespit edilmiş hem de korumaya alınmıştır.

Tespit işleminden sonra örnekler dereceli olarak yükselen alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek saf ksilol içine alınmıştır. Ksilol içinde parafine doyurma işleminden sonra parafine gömülmüştür. Parafine enine olacak şekilde gömülen materyallerden 10-12 µm kalınlığında Reichert marka kızaklı mikrotom ile seri kesitler alınmıştır. Kesitler Heidenhain Fe' li hematoksilin (Johansen 1940) ile boyandıktan sonra Kanada balzamu ile kapatılmıştır. Daha sonra bütün preparatlar ışık mikroskobunda incelenmiş ve Leitz orthomat-w-mikrofotografi cihazı ile fotoğrafları çekilmiştir.

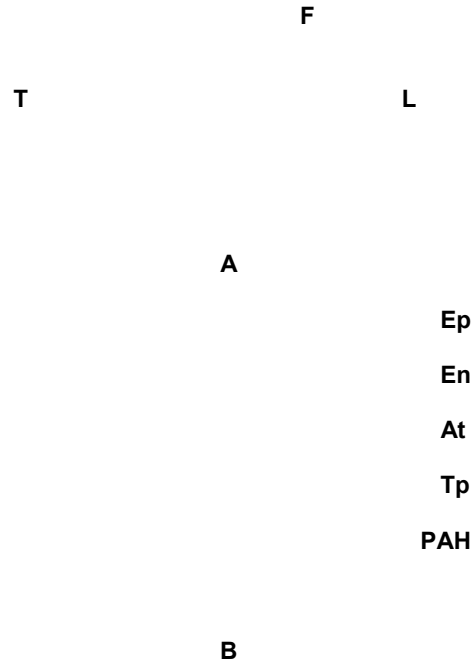
Bulgular

Karagevrek çeşidi anterlerinin farklı evrelerinden alınan kesitler incelendiğinde anter çeperinde epidermis, endotesyum, ara tabaka ve tapetum ayırt edilmiştir (Şekil 1).

Anterlerde aynı bölünme safhalarına rastlandığı gibi farklı safhalara da rastlanmıştır. 5 anterden birinde metafaz I evresi görülürken diğerlerinde profaz I evresi görülmüştür. Polen ana hücrelerinin bir kısmı normal mayoz bölünmeye hazırlanırken bir kısmı ise çekirdek zarı kalınlaşması ile anormal bir oluşum göstermiştir (Şekil 2).

Bu bitkiden alınan kesitlerde polen ana hücreleri profaz evrelerinin hepsini geçirmesine rağmen genellikle diploten ve leptotene, nadiren diakinez, zigoten ve pakitene rastlanmıştır.

Kromozomların ekvator tablasına dizilmeden önceki erken metafazda (prometafaz) normalde sitoplazmada dağınık halde bulunması gerekirken bir kısmının hücrede halka şeklinde veya grup halinde birleşmiş oldukları tespit edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 1. A. *Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek 'de genç bir anterin enine kesit (Bar = 200 µm) B. Genç anterde çeper tabakaları (Bar = 20 µm) Ep : Epidermis, En : Endotesyum, T : Teka, At : Ara tabaka, Tp : Tapetum, L : Lokulus, PAH : Polen ana hücresi, F : Filament.

Şekil 2. Çekirdek zarı kalınlaşması olmuş bir polen ana hücresi (Bar = 20 µm)

8). Aynı safhada kromozomların iki zıt kutba gitmesi gerekirken bazı hücrelerde 3 kutuplu bir yapı görülmüştür (Şekil 9).

Telofaz I safhasında hücrede kromozomlar kutuplara ulaştıktan sonra bir çekirdek ve çekirdekcik görünmesi gerekirken bazı hücrelerde birden fazla çekirdeğe rastlanmıştır. Ayrıca çekirdek zarının bölünmeye benzer şekilde içeriye doğru girinti yaptığı görülmüştür (Şekil 10).

Metafaz II safhasında iğ ipliklerine sentromerlerinden tutunan kromozomların kromatidlerine ayrılarak zıt kutuplara yöneldiği görülmüştür. Bu safhada ekvator tablasına dizilmiş birbirine paralel, iğ iplikleri

Şekil 3. Prometafazda birleşmiş kromozomlara sahip hücreler (Bar = 20 μ m) A. Kromozomları sitoplazmada dağınık bir haldeki hücre B. Kromozomları halka şeklinde birleşmiş bir hücre C. Kromozomları grup halinde birleşmiş bir hücre

Yine metafaz I evresinde hücrede normalde kromozomların ekvator tablasında dizilmesi gerekirken bir kısmının ekvator tablasına dizilmeyip sitoplazmada dağınık halde olduğu gözlenmiştir (Şekil 4).

Metafaz I evresinde görülen bir diğer aksaklıkta da bazı hücrelerde kromozomların hücrenin bir kutbuna yığılmasıdır. Bu durum kutup oluşamaması varsayımını da akla getirmektedir. Ayrıca, kromozomların bir kısmı ekvator tablasında dizilmiş bir kısmı ise gruplar halinde sitoplazmada dağınık halde bulunan hücrelere rastlanmıştır (Şekil 5).

Bu evrede aynı lokulus içinde birden fazla aksaklığın olduğu tespit edilmiştir. Halka şeklinde birleşen, ekvator tablasına dizilmeyip sitoplazmada dağınık halde olan ve anafaz I safhasında birbirine bağlı kalıp kutuplara gidemeyen, köprü oluşturan kromozomlar bir arada gözlenmiştir. Metafaz I' de ikili kutup oluşumu görülmesi gerekirken üçlü kutup oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 6).

Erken telofaz I' de sentromerleri ile iğ ipliklerine tutunan homolog kromozomların zıt kutuplara doğru çekilmesi gerekirken bazı kromozomların ayrılmadığı ve ekvator kutuplara kadar farklı uzaklıkta yer aldığı görülmüştür (Şekil 7).

Bu safhada bazı hücrelerde normal olarak kromozomların kutuplara çekildiği bazı hücrelerde ise kromozomların bir kısmının tek kutba daha az oranda çekildiği ve kutuplar arasında yer aldığı gözlenmiştir (Şekil

Şekil 4. Metafaz I' de kromozomlarının bir kısmı ekvator tablasına dizilmiş bir kısmı ise sitoplazmada dağınık haldeki bir hücre (Bar = 20 μ m) A. Ekvator tablasına dizilmiş kromozomlar B. Ekvator tablasına dizilmeyen hücreye dağılmış kromozomlar.

Şekil 5. Metafaz I' de kromozomları düzenli bir şekilde ekvator tablasında dizilmemiş hücreler (Bar = 20 μ m) A. Kromozom grubu tek kutupta toplanmış bir hücre B. Kromozomlarının bir kısmı ekvator tablasında dizilmiş, bir kısmı ise sitoplazmada gruplar halinde bulunan bir hücre

Şekil 6. Metafaz I'de A. İki ve B. Üç kutuplu hücreler (Bar = 20 µm)

Şekil 9. Erken telofaz I'de 3 kutuplu bir hücre (Bar = 20 µm)

Şekil 7. Erken telofaz I'de aynı anda kutuplara gidemeyen kromozomlar (Bar = 20 µm)

Şekil 10. Telofaz I safhasında normal bölünen, bölünmeye benzer çekirdek zarı girintisi yapmış ve çok çekirdekcikli hücreler (Bar = 20 µm) A. Normal telofaz I safhasındaki hücre B. Telofaz I'de bölünmeye benzer çekirdek zarı girintili, çok çekirdekcikli bir hücre

Şekil 8. Kromozomları düzenli bir şekilde kutuplara çekilen ve çekilemeyen hücreler (Bar = 20 µm) A. Kromozomları kutuplara çekilmiş bir hücre B. Kromozomlarının bir kısmı kutba çekilmiş bir kısmı iki kutup arasında dağınık haldeki bir hücre

görünmeyen iki kromozom gruplu hücreler gözlenmiştir. Yine bu safhada iğ iplikleri birbirine paralel ve dik olarak kromozomları ekvator tablasına dizilmiş hücrelere rastlanmıştır (Şekil 11).

Şekil 11. Metafaz II' de ekvator tablasına dizilmiş kromozomlar (Bar = 20 µm) A. Metafaz II' de ekvator tablasına dizilmiş birbirine paralel, iğ iplikleri görünmeyen iki kromozom gruplu bir hücre B. Metafaz II'de iğ iplikleri birbirine paralel olarak kromozomları ekvator tablasına dizilmiş bir hücre C. Metafaz II' de iğ iplikleri birbirine dik olarak kromozomları ekvator tablasına dizilmiş bir hücre

Yine metafaz II'de görülen bir diğer aksaklık kromozomların ekvator düzleminde dizilmesi gerekirken bir grup kromozomun hücrede dağınık halde bulunması olmuştur (Şekil 12).

Telofaz II 'de sitoplazma bölünmesi henüz gerçekleşmemiş, kallos duvarlı hücrelere rastlanmıştır (Şekil 13). Çalışma sonucunda tetradların izobilateralve terahedral olduğu görülmüştür. Kallos duvar eridikten sonra 4 bağımsız mikrospor meydana gelmiştir (Şekil 14).

Şekil 12. Metafaz II 'de ekvator düzlemine dizilmeyen, kromozom grupları dağınık haldeki hücreler (Bar = 20 µm)

Şekil 13. Telofaz II' de sitoplazma bölünmesi olmamış, kallos duvarlı bir hücre (Bar = 20 µm)

Şekil 14. Kallos duvarı eriyerek birbirinden ayrılmış 4 mikrosporlu bir hücre (Bar = 20 µm)

Şekil 15. *V. vinifera* L. cv. Karagevrek çeşidi polenleri (Bar = 20 µm)

Karagevrek çeşidinde hücre çeperinin bölünmelerden sonra simultane tipte olduğu görülmüştür. Polenleri incelendiğinde ise trikolporat olduğu tespit edilmiştir (Şekil 15).

Tartışma

Doğal melez *V. vinifera* L. cv. Karagevrek çeşidi anterlerindeki mikrospor ana hücrelerinin mayoz bölünmesi incelendiğinde bir kısım hücrede bazı anormallikler saptanmıştır.

V. vinifera L. bitkisi ile yapılan çalışmalarda (Hilpert 1958, Me et al 1984) metafaz I safhasında kromozomların genellikle bivalent olduğu görülmüştür. *V. vinifera* L. cv Karagevrek' te de bu safhada bivalent kromozomların yanı sıra univalent kromozomlara rastlanmıştır. Bu durumun *V. vinifera* ve *V. rotundifolia* melezinde de aynı olduğu tespit edilmiştir (Viljoen ve Spies 1995).

Staudt ve Kassrawı (1972) Riesling üzüm çeşidinde mayoz bölünmeyi inceledikleri çalışmalarında, diakineзде halka bivalentlere rastlamışlar ve değişik şekilde birleşmiş kromozomlar tespit etmişlerdir. Araştırmacılar mayoz sırasında ortaya çıkan bozukluklardan dolayı tetradların % 16' ında mikronukleus gözlemişler ve bu sebepten tetraploid varyasyonlarda polen veriminin daha düşük olduğunu açıklamışlardır. Bu çalışmada da prometafazda halka ve grup halinde birleşmiş kromozomlar gözlenmiştir.

Diploid ve tetraploid *V. vinifera* çeşit ve bireylerinde mikrosporogenezisin incelendiği bir başka çalışmada ise diakineзде bivalent, metafaz I' de trivalent ve tetravalent kromozomlara rastlanmıştır. Ayrıca metafaz II' de geciken kromozomlar bulunmuştur (Me ve ark. 1984). Karagevrek çeşidi ile yapılan bu çalışmada da metafaz II' de geri kalan kromozomlar görülmüştür.

V. labrusca X *V. vinifera* melezlerinde profaz I'den metafaz I'e kadar univalent ve multivalentlerde sinapsisin tam olmadığını belirtmişler ve bu nedenle telofaz I'de

homolog kromozomlarda ayrılmama olayı olduğunu belirtmişlerdir. Telofaz I safhasında ise, kromozomların bir kısmının kutuplara gitmediği ve çekirdek bölünmesinin olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark. 1998). Karagevrek çeşidinde de bölünmeye benzer çekirdek zarı girintilerine rastlanmıştır.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde *V. vinifera* L. cv. Karagevrek çeşidinde mikrospor ana hücrelerindeki mayoz bölünme sırasında özellikle kromozomların ayrılmaması (bivalent ve halka kromozomlar), kutuplara düzenli dağılmaması, 3 kutupluluk ve köprü oluşumu gibi aksaklıkların olduğu, bu yetersizliklerin çiçek tozu verimliliğini engelleyeceği sonucuna ulaşılmıştır.

Kaynaklar

- Alley, C. J. 1957. Cytogenetics of Vitis II. Chromosome behavior and the fertility of some autotetraploid derivatives of *Vitis vinifera* L. Hereditiy 48: 195 – 202.
- Cresti, M. and F. Ciampolini. 1999. Ultrastructural characteristic of pollen development in *Vitis vinifera* L. (cv. Sangiovese). Vitis 38 (4): 141-144.
- Fidan, Y. 1975. Karagevrek üzüm çeşidi için uygun dölleyicinin (babalık) saptanması üzerinde bir araştırma. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 575, Ankara.
- Hilpert, G. 1958. Untersuchungen an frühen meiotischen stadien von *Vitis vinifera* L. Vitis 1: 218 -223.
- Hilpert, G. 1959. Untersuchungen am Pachytan von *Vitis vinifera* L. Vitis 2: 79-83.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.
- Jelenkovic, G. and P. Olmo. 1968. Cytogenetics of *Vitis*. Vitis 7: 281-293.
- Marasalı, B., H. N. Bakar Büyükkartal ve A. Ergül. 1999. Çavuş Üzüm Çeşidinde Çiçek Tozu Kısırlığı ve İyonize Radyasyon Uygulamalarının Etkisi. Türkiye 3. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Bildiriler: 395-399. 14-17 Eylül 1999, Ankara.
- Me, G., S. Sacerdote and R. Vallania. 1984. Osservazioni sulla meiosi in cellule madri del polline di *Vitis vinifera* L. (cv. Barbera) diploide e tetraploide. Vitis 23: 195 -201.
- Staudt, G. and M. Kassrawi. 1972. Die meiosis di, und tetraploidem *Vitis vinifera* "Riesling". Vitis 11: 89-98.
- Viljoen, T. A. and J. J. Spies. 1995. Cytogenetical studies of three *Vitis* species. Vitis 34 (4): 221-224.
- Zhang, X. Z., G. J. Liu and D. M. Zhang. 1998. Occurrence and cytogenetic development of unreduced pollen in *Vitis*. Vitis 37 (2): 63-65.

İletişim adresi:

H. Nurhan BÜYÜKKARTAL
Ankara Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü Beşevler-Ankara
e-posta:bkartal@science.ankara.edu.tr