

## Asmada Kusursuz Tohum Taslağı Oluşumu ve Embriyogenez Üzerinde Araştırmalar

Birhan MARASALI<sup>1</sup>

Geliş Tarihi: 27.12.2001

**Özet:** Bu çalışmada, normal çekirdekli meyve tutan, kusursuz tohum taslaklarının ilk farklılaşmasından, olgun embriyo oluşumuna kadar, dişi gametofitin gelişmesi incelenmiştir. Bu amaçla, yerli çeşitlerimizden Hasandede üzüm çeşidi üzerinde çalışılmıştır. Anatrop yapıdaki tohum taslaklarında dişi gametofitin gelişimine ait ilk hücre olan megaspor ana hücresi çiçeklenmeden 8-12 gün önce belirlenmiştir. Kalazal megasporadan gelişen embriyo kesesi çiçekler açılmadan önce döllenmeye hazır hale gelmiştir. Embriyonik gelişmeye ait ilk safhalardan dört hücreli proembriyo tam çiçeklenmeden 24 gün sonra gözlenirken, 74-80 gün sonra embriyonun gelişmesi tamamlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *vitis vinifera* L., hasandede üzüm çeşidi, tohum taslağı, embriyogenez

### Investigations on the Functional Ovule and Embryo Development in Grapevine

**Abstract:** The present study was undertaken to examine the embryogenesis, from the development of the female gametophyte to the mature embryo, in normally seeded fruit set. Therefore, the investigations were carried out in Hasandede (*Vitis vinifera* L.) which is a seeded and indigenous grape cultivar. In anatropous ovules megaspor mother cell became visible 8-12 days before flowering. Development of chalazal megaspor into embryo sac established before anthesis. Four celled proembryo was observed in 24 days and embryo development was completed in 74-80 days after anthesis.

**Key Words:** *vitis vinifera* L., hasandede cultivar, ovule, embryogenesis

#### Giriş

Üzüm çeşitlerinde çiçek salkımının meyve salkımına dönüşmesi öncelikle, çiçek morfolojisi ve anatomisine bağlıdır. Tozlanma, döllenme ve tohum taslaklarının gelişiminin sonucu olarak normal (çekirdekli) meyve tutumu dışında, stenospermokarpik, partenokarpik ve boş çekirdekli meyve tutum mekanizmaları bulunmaktadır. Bu nedenle, tohum taslaklarının anatomik yapısı ve gelişiminin bilinmesi yetiştirme tekniği açısından önemli olduğu gibi, embriyonun gelişme yeri olarak asma biyolojisi ve ıslahı bakımından da büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, normal çekirdekli meyve tutumunun gerçekleştiği, kusursuz tohum taslaklarının oluşumu ve embriyogenez incelenmiştir.

#### Materyal ve Yöntem

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde gerçekleştirilen çalışmalarda, normal çekirdekli meyve tutumuna sahip, boncuklanma sorununun görülmediği Hasandede üzüm çeşidine ait çiçek, tane, çekirdek örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan örneklerin toplanmasına 1996 yılında başlanmış, düzenli olarak 2000 yılına kadar toplanan örnekler incelemelerde kullanılmıştır.

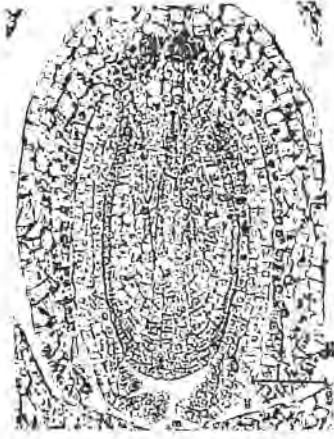
Çiçek, tane ve çekirdek örnekleri formalin aseto alkol (FAA) çözeltisi içinde tespit edildikten sonra %70'lik etil

alkol içerisinde korunmaya alınmışlardır. İncelemelerde materyale uygun değişikliklerin uygulandığı, parafin yöntemi kullanılmıştır (Marasali 1992). Örneklerde suyun alınması, parafine gömme ve boyaya hazırlık için alkol-serileri kullanılmıştır. Kesitler mikrotom ile 12 µm kalınlığında alınmıştır. Kesitlerin boyanmasında 'Heidenhain' demirli hematoksilin tekniği (Johansen 1940) esas alınmış, ancak en iyi görüntünün elde edildiği % 3'lük mordan (20 dakika), %0.5'lik hematoksilin (30 dakika) ve %2'lik mordan (5 dakika) boyaması kullanılmıştır. Kesitler, entellan kullanılarak sabit preparat haline getirilmiştir. İncelemeler için ışık mikroskobu (Zeiss-Axiolab) kullanılmış, mikro-fotoğraflar aynı mikroskoba ait fotoğraf kamerası ile çekilmiştir.

#### Bulgular ve Tartışma

**Tohum taslaklarının yapısı:** Çiçek örtü yapraklarından (brakte) henüz ayrılmış, açılmamış çiçeklerden alınan ilk örneklerde, anatrop tipte tohum taslaklarının farklılaştığı gözlenmiştir. İki karpelli yumurtalığın her bir karpelinde, genel olarak iki tohum taslağı bulunmakla birlikte, bazı örneklerde aynı karpelde üç tohum taslağının geliştiği dişi organ kesitlerine de rastlanmıştır. Gelişmenin bu ilk aşamasında tohum taslaklarının nusellus hücreleri ile kaplı olduğu ve bu hücrelerin etrafında dış ve iç integüment hücrelerinin geliştiği görülmüştür. İç integüment hücreleri, tohum taslağının mikropiline kadar uzamıştır (Şekil 1).

<sup>1</sup> Ankara Üniv., Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü-Ankara



Şekil 1. Anatrop tipte, kusursuz tohum taslağı (Bar=50 µm)  
m: mikropil, il: iç integüment, di: dış integüment

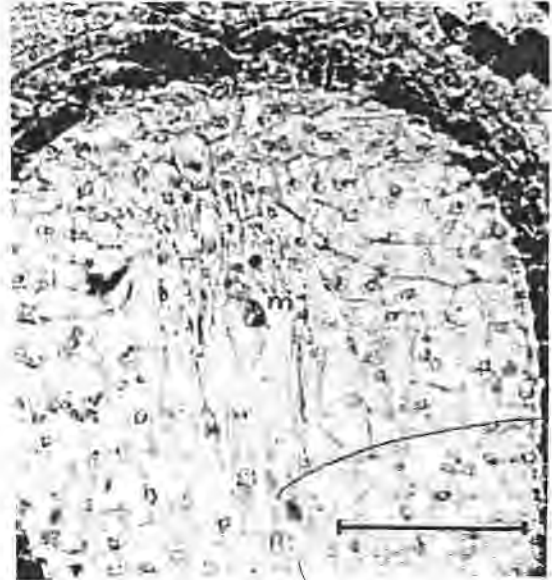


Şekil 2. Megaspor ana hücresi (mah) (Bar=50 µm)

**Embriyo kesesinin gelişimi:** Çiçeklenmeden 8-12 gün önce, taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçeklere ait tohum taslaklarında, nusellus hücrelerinden farklı ilk hücre olan megaspor ana hücresi belirlenmiştir (Şekil 2). Tohum taslağının nusellus hücrelerinden daha büyük yapılı ve iri çekirdekli bir hücre olarak görülmüş olan megaspor ana hücresinin mayoz bölünmesi ve üç megasporun dejenerasyonu ile kalazal megaspor gözlenmiştir (Şekil 3).

Fonksiyonel megasporun embriyo kesesine dönüşümü çiçeklenmeden 3-7 gün önce tamamlanmıştır. Olgun embriyo kesesinin elemanları olan antipod hücreleri, yumurta hücresi, sinerjit hücreleri, polar çekirdeklerin kese içerisindeki dağılımları ve konumları izlenmiştir. Açılmak üzere olan çiçeklerde, embriyo kesesinin merkezine göç etmiş iki ayrı polar çekirdek belirlenirken, açılmış çiçeklerde birleşme sonucunda, diploid yapıdaki sekonder çekirdeğin oluştuğu ve mikropil ucuna doğru göç ettiği belirlenmiştir. Bu safhada, embriyo kesesinde döllenmeye hazır yumurta hücresinin, mikropil tabanından uca doğru daralan, üçgen şekilli bir yapıya sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4 ve Şekil 5).

**Döllenme:** Döllenmiş çiçeklerde morfolojik olarak dışı organın irileştiği gözlenirken, tohum taslaklarında döllenmenin anatomik ve sitolojik belirtileri olarak zigotun (döllenmiş yumurta hücresi), yumurta hücresine göre daha iri ve lobut şekline dönüşen yapısı gözlenmiştir. Döllenmiş tohum taslaklarında, zigota göre daha küçük ve oval yapılı sinerjit hücreleri, döllenme sonrasında kaybolmakta olan hücre yapılarına uygun olarak, koyu renkli boyanmaları, düzgün olmayan çeperleri ve çoğunlukla mikroskopik olarak ayırt edilmeleri zor olan çekirdekleri ile görüntülenmişlerdir (Şekil 6). Döllenmiş tohum taslaklarında integüment tabakalarının farklılaşmakta olduğu, gerek hücrelerin daha ince ve uzun yapı kazanmaları, gerekse oldukça koyu boyanmaları ile tespit edilmiştir.



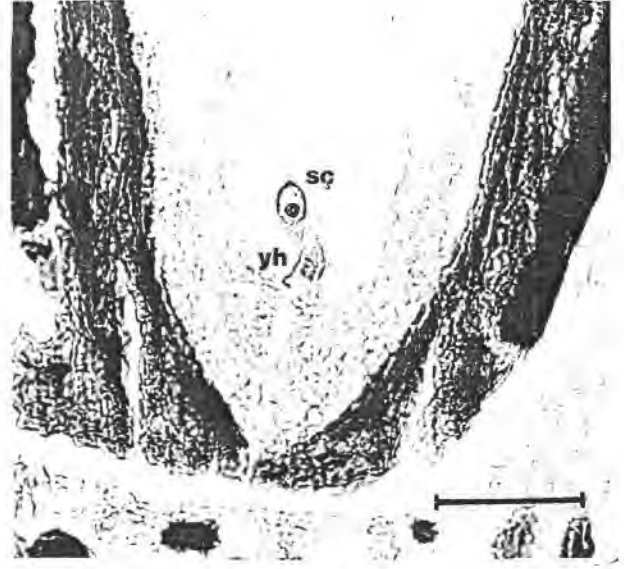
Şekil 3. Kalazal megaspor (m) (Bar=50 µm)

Döllenmiş tohum taslaklarında belirlenen bir diğer farklılık, triploid çekirdeğin (döllenmiş sekonder çekirdek), yeniden tohum taslağının merkezine doğru hücresel göçü olmuştur (Şekil 7).

Döllenme ve sonrasındaki gelişmeler, fenolojik olarak tam çiçeklenme ve sonrasındaki 7-15 günlük süreç içerisinde alınan kesitlerde belirlenmiştir.



Şekil 4. Embriyo kesesinin merkezinde birleşme öncesinde polar çekirdekler (Bar=50 µm)



Şekil 5. Döllenme aşamasındaki tohum taslağı (Bar=50µm) s: sekonder çekirdek, yh: yumurta hücresi



Şekil 6. Döllenmiş tohum taslağı (Bar=50 µm) z: zigot, s: sinergit hücresi



Şekil 7. Şekil 7. Döllenmiş tohum taslağında triploid çekirdek (Bar=50 µm)

**Embriyogenez:** Hasandede çeşidinde tohum taslaklarında embriyo gelişimine ait ilk bulgular, tam çiçeklenmeden 24 gün sonra belirlenmiştir. Bu dönemde, gelişmekte olan tohum taslaklarından alınan kesitlerde proembriyonun apikal ve basal hücreleri gözlenmiştir. Basal hücre grubu suspensor hücrelerine ait olarak yorumlanmıştır. (Şekil 8). Ben düşmeye kadar hücre bölünmelerinin oldukça hızlı bir biçimde devam ettiği ve ben düşme döneminde globular embriyo safhasına

ulaşıldığı saptanmıştır. Bu safha, Hasandede çeşidi için, tam çiçeklenmeden 31-37 gün sonrasını ifade etmektedir. (Şekil 9). Ben düşmeden sonra alınan çekirdek kesitlerinde ise (tam çiçeklenmeden 49-55 gün sonra), kotiledonların ayırt edilebildiği, kalp şekilli embriyo safhası gözlenmiştir (Şekil 10). Embriyonun, embriyo kesesine tutunmasını sağlayan suspensor, gelişmenin erken dönemlerinde gözlemlendiği halde, ilerleyen safhalarda tamamen kaybolmuştur.



Hasandede çeşidinde olgunlaşma zamanında (tam çiçeklenmeden 74-80 gün sonra), iyi gelişmiş çekirdeklerden çıkarılan olgun embriyoların 2.23 -2.52 mm arasında değişen büyüklükte olduğu belirlenmiştir (Şekil 11). Embriyo, kök ucu mikropil tarafında olmak üzere, mikropil-kalaza ekseninde ve çekirdeğin dorsal tarafına daha yakın olarak yerleşmiştir.

Bu çalışmada, kusursuz tohum taslaklarının anatrop yapıda olduğu ve kalazal megasporadan gelişen embriyo kesesinin, Maheshwari tarafından tanımlanan tohum taslağı gelişim tiplerinden (Fahn 1974), monosporik-polygonum tipine girdiği görülmüştür. Farklı *Vitis* tür ve çeşitlerinde çalışan Barritt (1970), Kassemeyer ve Staudt (1981), Gerrath ve Posluszny (1988), embriyo kesesi gelişimi için aynı sınıflandırma tipini kabul etmişlerdir.

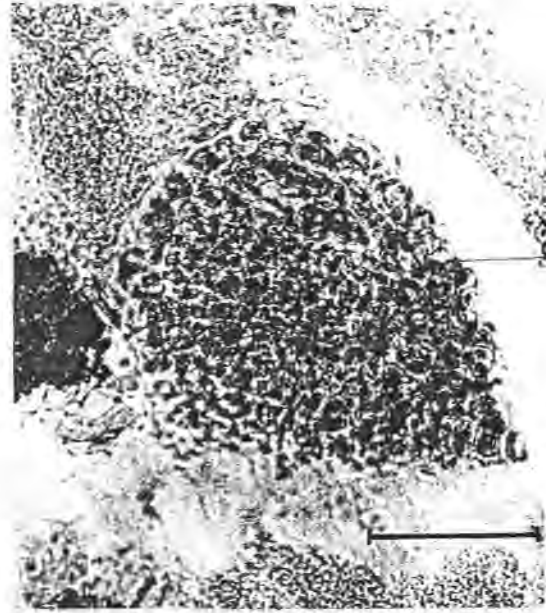
Tohum taslaklarında megaspor ana hüresinin farklılaşması, çiçeklenmeden 8-12 gün önce belirlenmiştir. Fonksiyonel megasporun oluşumu ve megagametogenez

çiçekler açılmadan önceki 3-7 gün içinde tamamlanmıştır. Kassemeyer ve Staudt (1983). Gewürtztraminer ve Weisser Burgunder çeşitlerinde megaspor ana hüresinin çiçeklenmeden 14 gün önce görüldüğünü, yedi gün içerisinde mayoz bölünmenin gerçekleşerek megasporun meydana geldiğini bildirmişlerdir.

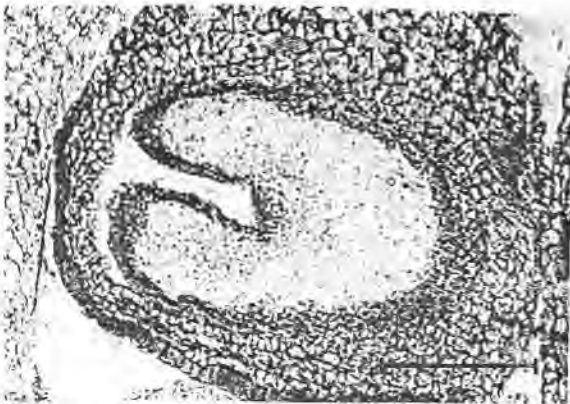
Dölllenmiş yumurta hüresini olan diploid zigotta ilk hücre bölünmesinin, çeşitlere bağılı olarak, çiçeklenme sonundan 10-25 gün sonra gerçekleştiği bildirilmektedir (Pratt 1971). Bu çalışmada, Hasandede çeşidinde dört hücreli proembriyo tam çiçeklenmeden 24 gün sonra belirlenmiştir. Suspensor, embriyo gelişmesinin yalnız erken aşamalarında gözlenmiştir. Asmalarda embriyogenezini inceleyen sınırlı sayıda araştırmalarda, embriyo gelişmesinin ilerlemesiyle birlikte, suspensorun tamamen kaybolduğu ya da çok ince bir doku halinde hipokotilin ucuna bağılı kaldığının bildirilmiş olması, bu çalışmada elde edilen gözlemleri desteklemektedir (Kim 1967, Vallade ve ark. 1987, Vallania ve ark. 1990).



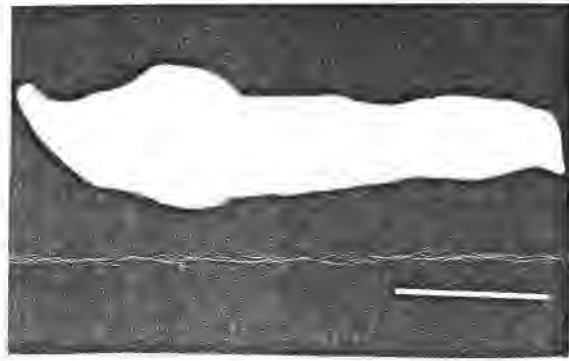
Şekil 8. Dört hücreli proembriyo (Bar=40 µm)  
ah: apikal hücreler, bh: basal hücreler



Şekil 9. Globular embriyo (Bar= 50 µm)



Şekil 10. Kalp şekilli embriyo (Bar=200 µm)



Şekil 11. Olgun embriyo (Bar=70 µm)

Bu araştırma ile, üzüm çeşitlerinde kusursuz tohum taslağı oluşumu ve embriyonun gelişimi incelenmiş, bu amaçla yerli çeşitlerimizden, iyi gelişmiş çekirdeklere sahip Hasandede üzüm çeşidi üzerinde çalışılmıştır. Elde edilen bulgular, asma biyolojisi açısından temel oluşturacak niteliktedir. Ayrıca, konu ilgili önceki çalışmalarda (Marasalı 1992, Çelik ve Marasalı 1994) gözlenememiş bazı anatomik gelişme aşamaları tespit edildiği gibi, Hasandede üzüm çeşidine özgü orijinal bulgulara da ulaşılmıştır.

#### Kaynaklar

- Barritt, B. H. 1970. Ovule development in seeded and seedless grapes. *Vitis*, 9, 7-14.
- Çelik, H. ve B. Marasalı, 1994. Ovule and embryo development in *Vitis vinifera* cv. Karasakız. VI th International Symposium on Grape Breeding, Yalta/Crimea-ukraine, 4-10 September 1994, 5p.
- Fahn, A. 1974. Plant Anatomy. Page Bros Ltd., Second Edition. Norwich, G.Britain, 611 p.
- Gerrath, J. M. and U. Posluszny, 1988. Morphological and anatomical development in the Vitaceae. II. Floral development in *Vitis riparia*. Canadian J. of Botany, 66, 1334-1351.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York, 523p.
- Kassemeyer, H. H. and G. Staudt, 1981. Über die Entwicklung des Embryosacks und die Befruchtung der Reben. *Vitis*, 20, 202-210.
- Kassemeyer, H. H. and G. Staudt, 1983. Über das Wachstum von Endosperm, Embryo und Samenanlagen von *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 22, 109-119.
- Kim, K. S. A. 1967. A contribution to embryological studies on *Vitis* (*labrusca* X *vinifera*) Fredonia variety. PhD Thesis. Rutgers, The State University, 123 p.
- Marasalı, B. 1992. Çavuş Üzüm Çeşidinde Tohum Taslakları ve Embriyo gelişimi ile Boş Çekirdeklilik Arasındaki İlişkiler Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 93s.
- Pratt, C. 1971. Reproductive anatomy in cultivated grapes- A Review. *Amer. J. Enol. and Vit.*, 22 (2) 92-109.
- Vallade, J., J. Alabouvette. and A. M. Chabbert, 1987. Le développement de l'embryon zygotique chez *Vitis vinifera* L. *Vitis*, 26, 215-224.
- Vallania, R., R. Botta, G. Me and G. Vergano, 1990. Embryo development in diploid and tetraploid *Vitis vinifera* L. 23<sup>rd</sup> Int. Hort. Congr., Firenze (Italy), Aug. 27-Sept. 1, 3157.

## ANKARA ÜNİVERSİTESİ ZİRAAT FAKÜLTESİ TARIM BİLİMLERİ DERGİSİ YAYIN İLKELERİ

1. Dergide tarım bilimleri alanında yapılmış özgün araştırmalar yayınlanır.
2. Dergide yayınlanacak eserler Türkçe, İngilizce, Almanca ya da Fransızca olarak yazılabilir.
3. Dergiye gelen eserin basımı öncesinde hakem görüşü alınır. Gönderilen makalenin dergide yayınlanabilmesi için hakemler tarafından kabul edilmesi ve Editörler Kurulu'nca bilimsel içerik ve şekil bakımından uygun görülmesi gerekir. Yayınlanması uygun bulunmayan eser yazarına/yazarlarına geri gönderilir.
4. Dergide yayınlanacak eserin daha önce hiçbir yaygın organında yayınlanmamış ya da yayın hakkının verilmemiş olması gerekir. Buna ilişkin yazılı belge, makale ile gönderilmelidir.
5. Eser, Microsoft Word Windows programında, Arial yazı karakterinde yazılarak, disketiyle birlikte, 1 bilgisayar çıktısı, 2 fotokopi olmak üzere toplam 3 nüsha gönderilmelidir.
6. Eser başlığı baş harfleri büyük, bold ve 13 punto, Abstract başlığı aynı düzende 11 punto ile ortalanarak yazılmalıdır.
7. Yapılan çalışma bir kurum/kuruluş tarafından desteklenmiş ya da doktora/yüksek lisans tezinden hazırlanmış ise, başlığa yıldız koyularak ilk sayfanın altına dip not olarak verilmelidir.
8. Yazar adı/adları açık olarak yazılmalı, unvan kullanılmamalı ve soyadlarının son harfi üzerine rakam koyularak adresleri ilk sayfanın altına dip not olarak verilmelidir.
9. Eser; Özet, Abstract, Giriş, Materyal ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Sonuç, Teşekkür (gerekirse), Kaynaklar şeklinde düzenlenmelidir.
10. Eser, A4 normunda birinci hamur kağıda, 170 x 250 mm'lik alanı kapsayacak şekilde, 8,25 cm'lik iki sütun halinde ve sütunlar arasında 0,5 cm boşluk bırakılarak hazırlanmalı, şekil ve çizelgeler dahil 8 sayfayı geçmemelidir.
11. Eser hangi dilde yazılırsa yazılsın, türkçe ve ingilizce özet içermeli, özetlere aynı dilde başlık koyulmalı, 200'er kelimeyi geçmemeli ve en fazla 7 adet anahtar kelime kullanılmalıdır. Özetler, 15 cm'lik tek sütun halinde 8 punto ve 1 aralık ile yazılmalıdır.
12. Metin, 9 punto ve 1 aralık ile yazılmalıdır. Şekil, grafik, fotoğraf ve benzerleri "Şekil", sayısal değerler ise "Çizelge" olarak belirtilmeli ve metin içerisine yerleştirilmelidir. Şekil ve çizelgelerin eni 7,5 cm ya da 15,5 cm'yi geçmemeli ve sayfanın başına veya sonuna yerleştirilmelidir. Şekil, çizelge ve kaynaklarda kullanılan harf büyüklüğü 8 punto olmalıdır.
13. Eserde yararlanılan kaynaklara ilişkin atıf metin içerisinde "yazar ve yıl" yöntemlerine göre yapılmalıdır. Üç ya da daha fazla yazarın kaynağı ifade edilmek istenirse "ve ark." kısaltması kullanılmalı, "Kaynaklar" bölümünde tüm yazarlar belirtilmelidir.
14. Sözlü görüşmeler ve yayınlanmamış eserlere (Yüksek Lisans ve Doktora Tezleri hariç) ait bildirimler, kaynak olarak kullanılmamalıdır.
15. Kaynaklar listesi ilk yazarın soyadına göre alfabetik olarak düzenlenmelidir. Yararlanılan kaynak dergiden alınmışsa;  
Yetişmeyen, A., N. Anöz, 1995. Farklı koyulaştırma oranı ve kurutma sıcaklığında elde edilen yayıkaltı tozunun kalite kriterlerinin belirlenmesi. Gıda, 20 (2) 117-122.  
kitaptan alınmışsa;  
Düzgüneş, O., T. Kesici, O. Kavuncu ve F. Gürbüz, 1987. Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları II), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:1021, 381 s., Ankara.  
kitabın bir bölümünden alınmışsa;  
Fıratlı, Ç. 1993. Arı Yetiştirme. "Ed. M. Ertuğrul. Hayvan Yetiştirme (Yetiştiricilik)", s. 239-270, Ankara.  
anonim ise;  
Anonim, 1993. Tarım İstatistikleri Özeti 1991. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No: 1579, Ankara. (Kaynak yabancı ise "Anonymous" olarak verilmelidir)  
internet ortamından alınmışsa;  
<http://www.newscientist.com/ns/980228/features.html>  
şeklinde verilmelidir.
16. Basımına karar verilen eserde, ekleme ya da çıkarma yapılamaz.
17. Yayın süreci tamamlanan eserler geliş tarihi esas alınarak yayınlanır.
18. Bir yazarın, aynı sayıda ilk isim olarak 1 (bir), ikinci ve diğer isim sırasında 1 (bir) olmak üzere toplam 2 (iki) eseri basılabilir.
19. Yayınlanan eserin tüm sorumluluğu yazarına/yazarlarına aittir.