

KONUKÇU-PATOJEN İLİŞKİLERİNİ İNCELEMEDE SÜRATLİ YAPRAK SAYDAMLAŞTIRMA VE FUNGUS BOYAMA METODU

M. Timur DÖKEN (1)

ÖZET

Yaprak saydamlaştırma ve fungus boyama metodu özellikle Rhynchosporium secalis (Oudem) J.J. Davis'in arpa bitkisi dokularındaki gelişmesini izlemek üzere geliştirilmiştir. Bu metotta enfekteli yapraklar önce laktofenol +metanol+kloroform karışımında saydamlaştırılıp takiben laktofenol-analin mavisi içinde kaynatılarak dokulardaki fungus boyanmaktadır.

YÖNTEM

Shipton ve Brown (1962), Ayesu-Offei ve Clare (1970) Ryan ve Clare (1974)'ün *Rhynchosporium secalis* (Oudem.) J.J. Davis ile enfekteli bitkilerde ve diğer hastalıklarda konukçu patojen ilişkisi histolojisini incelemede uyguladıkları boyama metodlarında işlemler uzun zaman almakta, aynı zamanda konukçu dokulardaki fungus net olarak görülememektedir.

Bu metod da Ayres ve Owen (1971)'in uyguladıkları yaprağı saydamlaştırma tekniğini dokulardaki fungus'un laktofenol-analin mavisi ile boyanması takip etmektedir. Enfekteli bitkilerden alınan yaprak örnekleri yapılacak preparatlara göre uygun ölçüde kesildikten sonra bunlar laktofenol +metanol+kloroform (5:3:2) içinde 50°C de bir saat bekletilmek suretiyle saydamlaştırılır Buradan alınan yaprak örnekleri laktofenol analin mavisi solusyonunda (Tablo , 1) aşağı yukarı 2-4 dakika kaynatılır. Ancak kaynatma süresi arpa çeşidine ve yaprakların yaşına göre değişmektedir. Fazla kaynatma yaprak dokularının parçalanmasına neden olmaktadır.

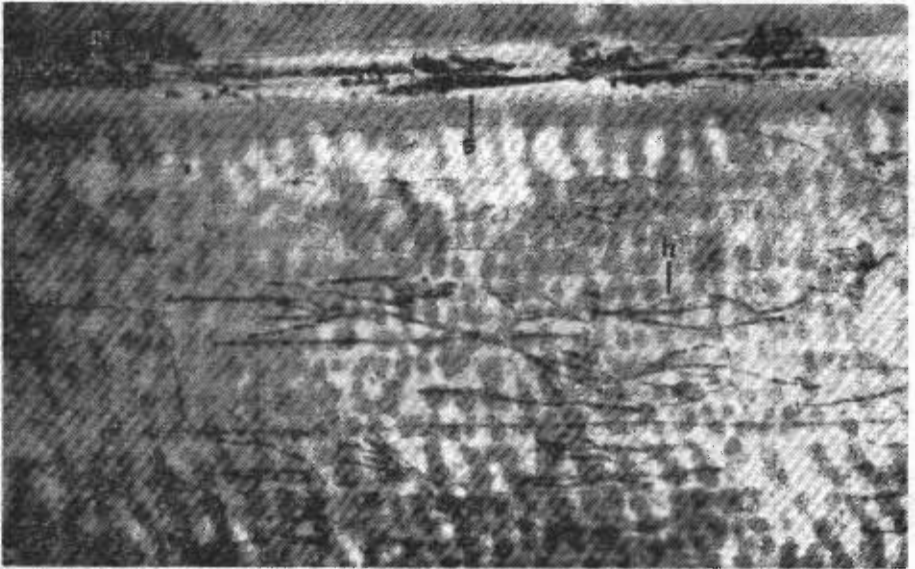
(1) Atatürk Üni. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü Doçenti.

Tablo 1. Laktofenol-Analin mavisi karışımındaki maddeler ve miktarları (Shipton ve Brown,1962).

Fenol	100 gr.
Gliserin	100 ml.
Laktik asit	100 ml.
Damıtık su	100 ml.
Analin mavisi	0.2 gr.

Kaynatma işleminden sonra yapraklar boyama solusyonundan çıkartılıp laktofenol içinde fazla boya akitilinceye kadar yıkanır ve preparatları lakofenol içinde yapılır. Süreli preparatlar için lâmelin etrafı iyi bir şekilde zutlanmalıdır. Hazırlanan preparatlar gerek normal ve gerekse faz-kontrast mikroskoplarda incelenebilir.

Bu metodun diğerlerine göre çok daha süratli olması yanında fungus şekil i de de görüldüğü gibi bitki dokusuna iyi bir kontrast oluşturacak şekilde boyanmaktadır. Bu metod diğer yaprak patojenlerini boyamak için de kullanılabilir.



Şekil 1. Saydamlaştırılan arpa yaprağında boyanmış *R. secalis* stroma'sı (s) ve Hif'leri (h). (x 100).

SUMMARY

A Rapid Leaf Clearing and Fungus Staining Technique to Study Host-Pathogen Relationships

This leaf clearing and fungus staining technique is especially modified to study the development of *Rhynchosporium secalis* (Öudem) J.J. Davis in the tissues of

barley plants. In this method infected leaf sections are cleared in a mixture of lactophenol + methanol + chloroform at 50°C for about 1 hour. After clearing, leaf sections are brought to boiling for about 2-3 minutes in lactophenol-analin blue and then rinsed in lactophenol. Afterwards leaf sections are mounted on microscope slides in lactophenol for observation.

KAYNAKLAR

- AYUSE-OFFEI, E.N. and CLARE, B.G. (1970). Processes in the infection of barley leaves by *Rhynchosporium secalis*. Australian Journal of Biological Sciences, 23-299-307.
- AYRES, P.G. and OWEN, H. (1971). Resistance of barley varieties to establishment of subcuticular mycelia by *Rhynchosporium secalis*. Transactions of the British Mycological Society 57 (2), 233-240.
- RYAN, C.C. and CLARE, B.G. (1974). Coating of leaf surfaces with agarose to retain fungal inoculum in situ for staining. Stain Technology 49 (1), 15-18.
- SHIPTON, W.A. and BROWN, J.F. (1962). A whole-leaf clearing and staining technique to demonstrate host-pathogen relationships of wheat stem rust. Phytopathological Notes, 1313.