

Vitis vinifera x *Vitis berlandieri* 41B M.G. Anterlerinde Mayoz Bölünme Kusurları

H. Nurhan BÜYÜKKARTAL¹

Hatice ÇÖLGEÇEN²

Birhan KUNTER³

¹Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü 06100 Tandoğan/ANKARA

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 67100 İncevez / ZONGULDAK

³Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Dışkapı/ANKARA

*Sorumlu yazar

bkartal@science.ankara.edu.tr

Geliş Tarihi: Ocak 03, 2014

Kabul Tarihi: Şubat 11, 2014

Özet

Vitis vinifera x *Vitis berlandieri* 41B M.G. ($2n = 38$) anterlerindeki polen ana hücrelerinde mayoz hücre bölünmesi incelenmiş ve hücrelerin bir çoğunda kromozomların eşleşmemesi, kutuplara düzenli dağılmaması ve köprü oluşumu gibi bazı düzensizliklere rastlanmıştır. Bitkide anter çeperi epidermis, endotesyum, 1-2 sıralı ara tabaka ve 1 sıra çok çekirdekli tapetum hücrelerinden meydana gelmiştir. Polen keselerinde ise 6-10 mikrospor ana hücreleri görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Vitis* L., polen ana hücresi, mayoz bölünme

Examination of Meiosis Anomalies in Anthers of *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G.

Abstract

In this study on meiosis of polen mother cells in anthers of *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G. ($2n = 38$) were examined. In most microspore mother cells, some irregularities were found, such as chromosomes do not match, the formation of the poles and bridge irregularly dispersed. The anther wall of *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G. consist of epidermis, endotesyum, 1-2 middle layers, and multinucleate tapetum. In loculus 8-10 microspore mother cells were observed.

Key Words: *Vitis* L., microspore mother cell, meiosis

GİRİŞ

Vitis cinsi, asmalar olarak bilinen ve bugün 76 türü içeren büyük bir gruptur. Bu cinsin çiçek yapısı, morfolojik olarak benzer olmakla birlikte, türler arası ve tür içi bireylerde anatomik farklılıklar göstermektedir.

Türlerin ortak çiçek özellikleri; üst durumlu bir dişi organ ile genellikle 5 adet erkek organ, birleşmiş haldeki 5 çanak yapraklı oluşun sepalin ayırt edilmesidir. Farklılıklar ise, dişi organ ve erkek organların morfolojik ve anatomik yapısında ortaya çıkmaktadır. Bunlardan biri çiçek tozu kısırlığı olup, bazı varyetelerde (çeşit: cv.) görülen bir özelliktir. Çiçek tozu kısırlığı görülen bireylerin çiçek morfolojisinde, erkek organlar çiçek tablası üzerinde dik bir konumda yer almayıp, aşağı doğru kıvrılmış halde bulunurlar. Çiçek yapısının bu şekli “fonksiyonel dişi çiçek” olarak tanımlanmakta ve çiçek tozu kısırlığının varlığını ifade etmektedir [1].

Vitis türlerinde ve bunların melezlerinde mikrospor ana hücrelerinin mayoz bölünmesi ile ilgili olarak bazı çalışmalar yapılmıştır [2-11].

Çiçek biyolojisinin önemli bir sorunu olan çiçek tozu kısırlığına neden olan gelişmelerin hücre düzeyinde

incelenmesi amacıyla yapılmış olan bu çalışmada, türler arası bir melez olan fonksiyonel dişi çiçek yapısına sahip 41 B (*Vitis vinifera* X *Vitis berlandieri*) asmalarına ait çiçeklerin anterlerinde mayoz bölünme kusurları incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

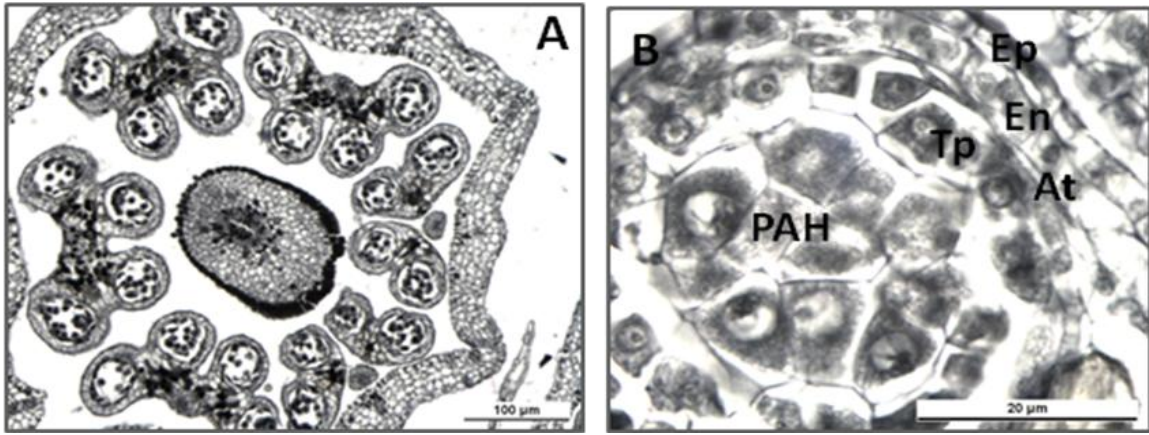
Çalışmada Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Deneme bağından alınan *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41 BMG melezine ait çiçek tomurcukları binoküler mikroskop altında örtü yapraklarından ayrıldıktan sonra Carnoy (1 kısım asetik asit+1 kısım % 70'lik alkol) tespit çözeltilisinde 2 saat süre ile tespit edilmiştir. Tespitden sonra örnekler alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyon yapılmış ve ksilol içinde parafine doyurma işleminden sonra parafine gömülmüştür [12]. Parafine enine olacak şekilde gömülen materyallerden 10-12 µm kalınlığında Reichert marka kızaklı mikrotom ile kesit kaybı olmaksızın seri halde kesitler alınmıştır. Kesitler ferri amonyum sülfatın % 3'lük çözeltisinde 10 dakika mordanlanarak, Heidenhain Fe'li hematoksilin boyasında 3 dakika bekletilerek boyanmış ve kanada balzamu ile kapatılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Vitis vinifera x *Vitis berlandieri* 41B M.G. ($2n = 38$) melezinde anterler tetrasporangiat' dır (şekil 1A). Mikrospor ana hücreleri mayoz bölünmenin erken profaz evresinde iken sporagen dokuyu çevreleyen anter çeperinde tek tabakalı epidermis, 1 sıra endotesyum, 1-2 sıralı ara tabaka ve 1 sıra tapetum tabakası olmak üzere 5 hücre sırasının bulunduğu saptandı. Tapetum salgı tapetumu tipindedir. En içte ise polen ana hücreleri (PAH) gözlenmiştir. Anter enine kesitlerinde lokulusların (polen keseleri) içinde genellikle 6-10 mikrospor ana hücreleri tespit edilmiştir (şekil 1B).

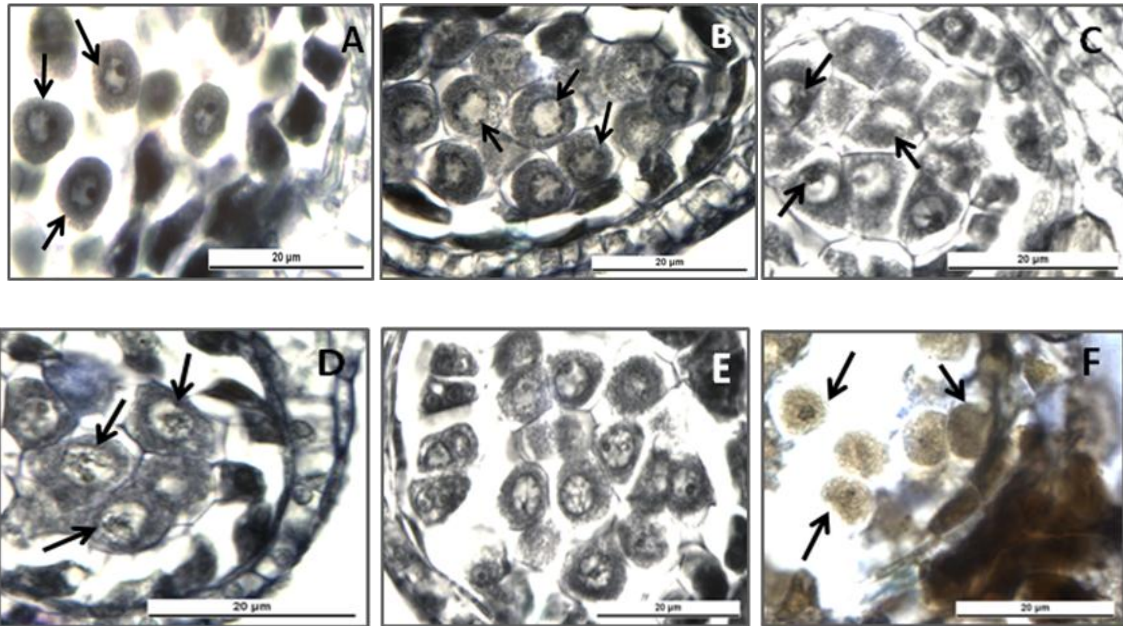
Anterlerde aynı bölünme evrelerine rastlandığı gibi farklı evrelere de rastlanmıştır. Polen ana hücrelerinin bir kısmı normal mayoz bölünmeye hazırlanırken bir bölümü de çekirdek zarının kalınlaşması (şekil 2A) ve çekirdekçik

sayısının artmasıyla anormal bir oluşum göstermiştir (Şekil 2B). Bu çeşit hücrelerde çekirdek zarının koyu boyandığı gözlemlendi. Çekirdek zarı kalınlaşması bazı anterlerin bütün lokuluslarındaki polen ana hücrelerinde tespit edildi. Bu hücrelerde 5-8 adet çekirdekçik sayıldı. Mayoz bölünmenin profaz evresinde, bir kısım çekirdeklerde kromatin ipliğinin çekirdekçik üzerine yığıldığı (şekil 2C) ve hemen çözülmediği gözlemlendi. Bazı çekirdeklerde çekirdekçik kaybolduğu halde kromozomların hala organize olmadıkları (şekil 2D), bazılarında da kromozomların birbirinden ayrılmadıkları (şekil 2E) görüldü. 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 2F).



Şekil 1A. *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G. melezinde anterlerin genel görüntüsü

(Bar = 100 µm). B. Genç bir anterde çeper tabakaları. Ep : Epidermis, En : Endotesyum, At : Ara tabaka, Tp : Tapetum, PAH : Polen ana hücreleri (Bar = 20 µm).



Şekil 2A. *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G. melezinde anterlerindeki polen ana hücrelerinde meydana gelen çekirdek zarı kalınlaşması B. çekirdekte çekirdekçik sayısındaki artış. C. profaz evresinde organize olamamış kromatin katlanmaları, D. Çekirdekçik kaybolmasına rağmen tam organize olamamış kromozomlar E. Birbirinden Ayrılamayan kromozomlar F. Prometafazda kromozomları sitoplazmada dağınık haldeki bir hücre ve Kromozomları halka ya da grup halinde birleşmiş bir hücre (ok ile gösterilen hücreler) (Bar = 20 µm).

Yine metafaz I evresinde hücrede normalde kromozomların ekvator tablasında dizilmesi gerekirken bir kısmının ekvator tablasına dizilmeyip sitoplazmada grup halinde ve dağınık halde olduğu gözlenmiştir (Şekil 3A ve B). Anafaz I evresinde iğ ipliklerine tutunma ve kutuplara çekilmenin pek çok kromozom için aynı zamanda olmadığı görüldü. İncelenen örneklerde ekvatoradan kutuplara kadar farklı uzaklıkta kromozomlara rastlandı ve ayrılamayan köprü oluşturan kromozomlar görüldü (şekil 3C). Bu evrede aynı lokulus içinde birden fazla aksaklığın olduğu tespit edilmiştir.

Bazı örneklerde telofaz I' de kromozomlar kutuplara ulaştıktan sonra çekirdek zarları meydana gelmesine rağmen iğ ipliklerinin uzun süre bozulmadan kaldıkları saptanmıştır (şekil 3D). Bu örneklerde çekirdek zarının da düzensiz şekilde olduğu tespit edilmiştir. Yine bu evrede kromozomlar kutuplara ulaştıktan sonra bir çekirdek ve çekirdekçik görünmesi gerekirken bazı hücrelerde birden fazla çekirdekçiğe rastlanmıştır. Metafaz II safhasında iğ ipliklerine sentromerlerinden tutunan kromozomların kromatidlerine ayrılarak zıt kutuplara yöneldiği görülmüştür. Yine bu evrede kromozomların ekvator düzleminde dizilmesi gerekirken bir grup kromozomun hücrede dağınık halde bulunduğu saptanmıştır. Telofaz II 'de sitoplazma bölünmesi henüz gerçekleşmemiş, kalloz duvarlı hücrelere rastlanmıştır. Kalloz duvar eridikten sonra 4 bağımsız mikrospor meydana gelmiştir (şekil 3E).

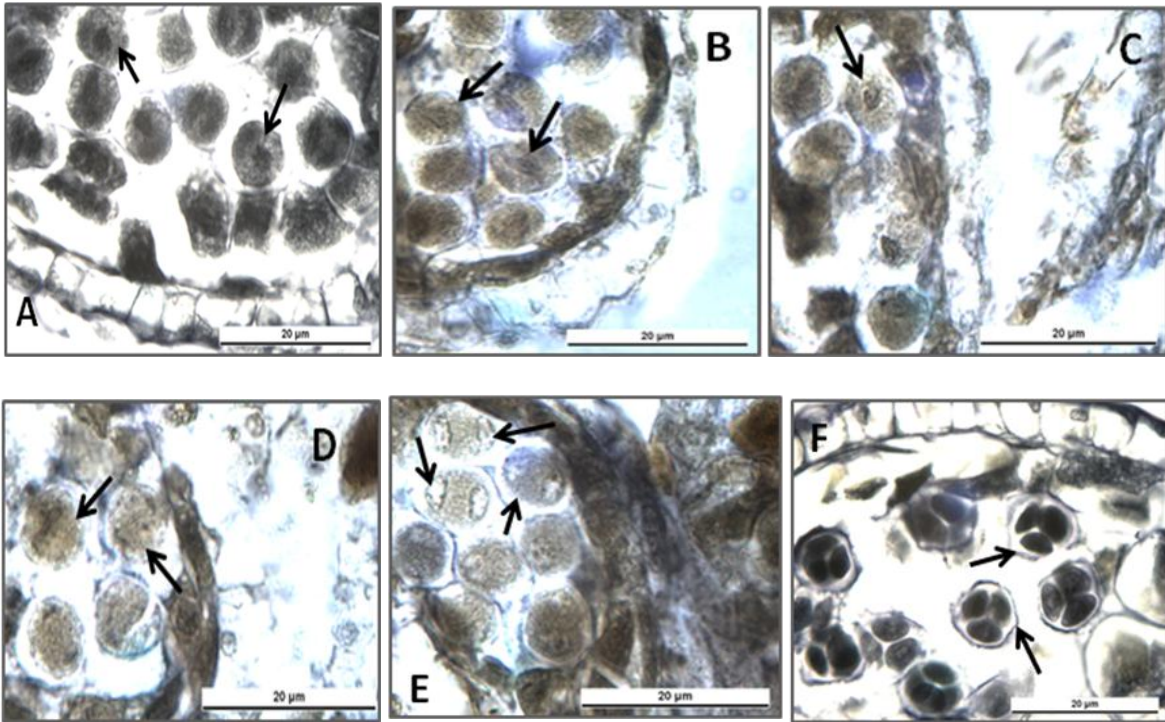
TARTIŞMA

Vitis vinifera x *Vitis berlandieri* 41B M.G. ($2n = 38$) mezezi anterlerindeki mikrospor ana hücrelerinin bir bölümü normal mayoz bölünmeye hazırlanırken bir bölümü de çekirdek zarının kalınlaşması ve çekirdekçik sayısının artmasıyla anormal bir oluşum göstermiştir.

Çekirdek zarının kalınlaşması ve çekirdekçik sayısının artışı, çekirdekte DNA yerine çok fazla miktarda RNA sentezlendiğini göstermektedir. Çok fazla miktarda sentezlenen RNA'ların çekirdek porlarını tıkadığı ve muhtemelen gerekli enzimlerin çekirdeğe giremediği varsayımını akla getirmektedir. Bir kısım çekirdekte çekirdekçik kaybolduğu halde kromozomların hala organize olmadıkları, bazılarında da kromozomların birbirinden uzun süre ayrılmadıkları görüldü.

Metafaz evresinde kromozomların bazılarının gruplar şeklinde bazılarının ise dağınık durumda oldukları gözlemlendi. Bazı hücrelerde de kromozomların hücrenin bir yanına yığıldığı tespit edildi. Kromozomların bu şekilde hücrenin bir kutbuna yığılması kutup oluşmaması varsayımını düşündürmektedir.

Hilpert [3] ve Me vd [7] *Vitis vinifera* L.'de yaptıkları çalışmalarında metafaz I evresinde kromozomların genellikle bivalent olduğunu, trivalent ve tetravalent kromozomlara rastladıklarını belirtmişlerdir. Yine *Vitis vinifera* L. cv. Karagevrek'de de bu evrede bivalent



Şekil 3A. *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G. mezezi anterlerinde metafaz I'de Ekvator tablasına dizilmeyen hücreye dağılmış kromozomlar. **B.** ekvator tablasına dizilmiş kromozomlar **C.** Kromozomları grup halinde birleşmiş bir hücre **D.** anafaz I'de aynı kutuplara gidemeyen kromozomlar **E.** telofaz I'de çekirdek zarı oluşmasına rağmen iğ ipliklerinin bozulmadığı görülüyor. **F.** Kalloz duvarı henüz erimemiş 4 mikrosporlu bir hücre (tetrad) (ok ile gösterilen hücreler) (Bar = 20 μ m).

kromozomların yanı sıra univalent kromozomlara da rastlanmıştır [13]. Bu durumun *Vitis vinifera* ve *Vitis rotundifolia* melezinde de aynı olduğu tespit edilmiştir [8]. Riesling şaraplık üzüm çeşidinde mayoz bölünmeyi inceleyen Staudt ve Kassrawi [6]'de diakinez de halka bivalentlara rastladıklarını bildirmişlerdir. Biz de bu çalışmada prometafaz evresinde halka ve grup halinde birleşmiş kromozomların olduğunu tespit ettik.

Anafaz I safhasında iğ ipliklerine tutunma ve kutuplara çekilmenin pek çok kromozom için aynı zamanda olmadığı gözlemlendi. İncelenen örneklerde ekvatoran kutuplara kadar farklı mesafede kromozomlara rastlandı ve ayrılmayan kromozomlar görüldü.

Hilpert [4], *Vitis vinifera* L. cv.'de anafaz I evresinde meydana gelen kusurlardan dolayı kromozomların kutuplara gidemediklerini belirtmiştir. Bir başka çalışmada ise *Vitis* melezlerinde anafaz I evresinde trivalent, quadrivalent ve pentavalent kromozomların bulunduğu ve bu evrede kromatin köprülerinin ince olduğu belirtilmiştir [5,13]

Telofaz I safhasında kromozomlar kutuplara ulaştıktan sonra çekirdek zarının meydana geldiği ancak iğ ipliklerinin uzun süre bozulmadan şeklini koruduğu gözlemlendi. Bu arada yine bazı çekirdeklerde bozulmalar gözlemlendi. Çekirdek zarının yüzeyinde girintili-çukuntulu yapıların oluştuğu, çekirdeğin normal şeklini kaybettiği ve bazılarında da çok çekirdekçikli duruma geçtiği gözlemlendi.

Zhang vd. [9]'de *Vitis* melezlerinde profaz I 'den metafaz I'e kadar univalent ve multivalentlerde sinapsisin tam olmadığı bu nedenle de telofaz I'de homolog kromozomlarda ayrılmama olayı olduğunu ifade etmişlerdir.

Metafaz II'de görülen bir aksaklıkta kromozomların ekvator düzleminde dizilmemesi ve bir grup kromozomun hücrede dağınık halde bulunmasıdır.

Me vd. [7]'de *Vitis vinifera* L. cv. Barbera da metafaz II' de geçiken kromozomların bulunduğunu belirtmiştir. Anafaz II' de aynı hücre içinde iki çekirdek bölünmesi olduğu için kromozomlar 4 farklı kutup'a çekilir. Anafaz II' de iğ ipliklerinin oluşmadığı ve kromozomların kutuplara gitmediği gözlemlenmiştir. Kutuplara çekilen kromozomların da birbirine paralel olmadığı görülmüştür. Telofaz II' de sitoplazma bölünmesi gerçekleşmemiş olduğu halde kallos duvarlı hücrelere rastlanmış ve bazı örneklerde çekirdek zarı ve çekirdekçiklerde bozulmaların olduğu gözlemlenmiştir. Kallos duvar eridikten sonra 4 bağımsız mikrospor meydana gelmiştir.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, *Vitis vinifera* x *Vitis berlandieri* 41B M.G melezi anterlerinde mikrospor ana hücrelerindeki mayoz bölünme sırasında özellikle kromozomların ayrılmaması, kutuplara düzenli dağılmaması, ve köprü oluşumu gibi aksaklıkların olduğu, bu yetersizliklerin çiçek tozu verimliliğini engelleyeceği sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Mullins GM, Bouquet A, Williams L, 1992. The Biology of the Grapevine. Cambridge University Pres, 251 P.
- [2] Alley CJ, 1957. Cytogenetics of *Vitis* II. Chromosome behavior and the fertility of some autotetraploid derivatives of *Vitis vinifera* L. Heredity, 48: 195 – 202
- [3] Hilpert G, 1958. Untersuchungen an frühen meiotischen stadien von *Vitis vinifera* L. Vitis 1; 218-223
- [4] Hilpert G, 1959. Untersuchungen anm Pachytan von *Vitis vinifera* L. Vitis 2;79-83
- [5] Jelenkovic G, Olmo P, 1968. Cytogenesis of *Vitis*. Vitis 7:281-293.
- [6] Staudt G, Kassrawi M, 1972. Die Meiosis von di , und tetraploidem *Vitis vinifera* 'Riesling' Vitis 11:89-98
- [7] Me G, Sacerdote S, Vallania R, 1984. Osservazioni sulla meiosi in cellule madri del polline di *Vitis vinifera* L. (cv. Barbera) diploide e tetraploide. Vitis 23: 195-201
- [8] Viljoen TA, Spies JJ, 1995. Cytogenetical studies of three *Vitis* species. Vitis 34 (4): 221-224
- [9] Zhang XZ, Liu GJ, Zhang DM, 1998. Occurrence and cytogenetic development of unreduced pollen in *Vitis*. Vitis 37 (2): 63-65
- [10] Cresti M Ciampolini F, 1999. Ultrastructural characteristic of pollen development in *Vitis vinifera* L. (cv. Sangiovese). Vitis, 38 (4) : 141-144.
- [11] Maraşlı B, Bakar Büyükkartal HN, Ergül A, 1999. Çavuş üzüm çeşidinde çiçek Tozu kısırlığı ve iyonize radyasyon uygulamalarının etkisi. Türkiye 3. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 14-17 Eylül Ankara 395-399s.
- [12] Algan G, 1981. Bitkisel Dokular için Mikroteknik. Fırat Üniversitesi Yayınları, Bot.No: 1.
- [13] Yılmaz Güven R, Büyükkartal HN, Algan, G. 2005. *Vitis vinifera* L.cv. Karagevrek anterlerindeki polen ana hücrelerinin mayoz bölünmesinde görülen aksaklıkların ışık mikroskopunda incelenmesi. A.Ü. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi 11 (2): 120-12.