

Türk Biyoloji Derneği 14. Faaliyet Devresi.
İlmi Toplantı bildiri ve konferansları : 6.
24 Nisan 1963.

VİTAL BOYALARLA VAKUOM İNCELEMELERİ
LES RECHERCHES DU VACUOME EN UTILISANT DES COLORANTS
VITAUX

Dr. **B E T Ü L T U T E L**

İstanbul Üniversitesi, Farmakobotanik ve Genetik Kürsüsü Asistanı

GİRİŞ

“Vakuom” terimi bilhassa bitkisel hücrede bütün vakuol sistemine (l'appareil de système vacuolaire) denilmektedir. Bu terimi ilk defa 1919 da P A. DANGEARD ortaya atmıştır (DANGEARD 1956/b).

Diğer bir deyişle ifade etmek istersek, sitoplazma içinde tonoplast ile çevrili boşluklara vakuol (koful) adı verilmektedir; bazı hallerde sitoplazmanın içersinde birbirinden ayrı duran birçok vakuollere tesadüf edilir ki, bunların hepsine birden “vakuom” denir (ŞENGÜN 1954).

Vakuom terimi önceleri münakaşalı kabul edilmiş ve bazı araştırmacılara göre golgi aparatını de içine almışsa da, son senelerde yalnız bitkisel hücrenin gelişmesi boyunca ihtiva ettiği bütün vakuol sistemi için kullanılmaktadır.

Bildiğimiz gibi kofulların içi boş olmayıp hücre özsuğu ile doludur. Koful sıvısı içinde ince emülsion halinde yağlar, eterik yağlar, organik asitler, erimiş halde tuzlar, karbonhidratlar, aminoasitler, alkaloidler, tanen bileşikleri, proteinli maddeler, fermentler vs. bulunmaktadır (AKDİK 1961). Hücre özsuğunun asitlik derecesi daima değişiktir. Bazan özsuğun ihtiva ettiği tuzların yoğunluğu o kadar çok yükselir ki, doymuş hali aşarak vakuolde çökelti meydana getirir. Bu, daha ziyade “halofit” adı verdiğimiz tuzcul bitkilerde kendini gösterir.

Vakuollerde rastlanan çeşitli kristaller de (rafit, druz) aynı prensibe göre teşekkül etmişlerdir (VARDAR 1959).

Vakuoller, hücrenin su alışverişinde yani turgor değişimlerinde önemli rol oynadıklarından uzun zamandanberi hem sitologları, hem de fizyologları meşgul etmektedir. Bu yüzden hücre özsuyu yoğunluğu ve asiditesinin tayini ile vakuom gelişmesinin takibi, hücre araştırmalarında mühim bir yer işgal eder.

Vakuom incelenmesi sadece sitoloji alanında değil, aynı zamanda sistematik yönden de ehemmiyet kazanmıştır. Pollen (çiçektozu) tanelerinin vakuol yapısı benzerliği ve vital boyanma esnasında aynı tip kristal taşınmaları, *Rosaceae* (Gülğiller) ve *Ranunculaceae* (Düğünçiçeğigiller) familyaları arasında bir akrabalığın mevcudiyetini ortaya çıkarmıştır (DANGEARD 1956/a).

Vakuoller genel olarak fiksatorler tarafından çok çabuk bozulur. Bu sebepten hücrelerin canlıyken incelenmeleri daha uygundur. Sitoplazmayı boyamadan sadece vakuomu boyamak, araştırmayı kolaylaştırır. Bazı vakuollerde antokyan, antoksantin, antofain gibi renk maddeleri bulunur. Antokyan, asit ortamda kırmızı, alkalide ise mavi renk almaktadır. Antoksantin sarı renk maddesidir. Antofain, normal yoğunlukta kahverengi, fazla yoğun olduğu zaman da siyahımsı renk vermektedir (ÖZTİĞ 1950).

Renkli vakuoller, ortam amonyak buharına maruz bırakıldığında mavi veya yeşil olurlar, asetik asit buharıyla da kırmızıya dönerler (YAKAR-OLGUN 1960).

Renksiz vakuollerin hücrenin canlılığına tesir etmeksizin boyanıp görülebilmeleri icap ettiği hallerde, v i t a l b o y a l a r bahis konusu olmaktadır.

Başlıca vital boyalar şunlardır :

Asit vital boyalar .:

Tripan mavisi
Pirol mavisi
Lityum karmin
Metil oranj

Bazik vital boyalar:

Nötr kırmızısı
Nil mavisi
Bismark kahverengisi
Naftol mavisi
Metilen mavisi
Krezil mavisi
Toluidin mavisi
Yanus yeşili

Bunların içinde vakuolü boyayan vital boyalar şunlardır:

1. Nötr kırmızısı: alkali vakuolü kırmızı cıva sülfür rengine boyar.

Nötr kırmızısı: asit vakuolu kiraz kırmızısına boyar.

2. Krezil mavisi: tanoidden zengin vakuolü mavi yeşile boyar.

Krezil mavisi: müsilağlı vakuolü eflatuna boyar.

Hücredeki pH derecesine göre renklerde nüans tefrik edilir.

Toluidin mavisi ve metilen mavisi de vakuolü renklendiren boya olarak kabul edilirse de, çok zehirli olduklarından pratikte daha az kullanılırlar.

En çok tercih edilen boya nötr kırmızısıdır. Bu boya ile muamele gören tohum veya mantar sporlarının, pollen tanelerinin çimlenme kabiliyetlerinin kaybolmadığı tespit edilmiştir (DANGEARD 1947, GUILLERMOND ve MANGENOT 1960). Nötr kırmızısı ve krezil mavisi çok asitli eriyiklerde (pH 5,5-6,5 arasındaki limitten aşağı) canlı hücrelere nüfuz edemezler. Nüfuz etme kabiliyeti ya nötralite civarında veya çok hafif alkali ortamda, azami hadde varır. Boyanın içeri girişi sırasında vakuol bütün olarak homojen surette renklenir; fakat ekseriya boya maddesi vakuolde çeşitli tanecikler halinde çökelek vererek birikir (DANGEARD 1947, VARDAR 1959). Biz de 4 günlük tütün fidesinin kök hücrelerindeki bazı vakuollerde boyanın çökelek vermesini (Şekil: 1 D) müşahede ettik.

Vital boyalarla boyanma başlıca 3 safhada cereyan eder:

a. Boyanın içeri girişi,

b. Boyanın toplanması,

c. Boyanın dağılması (KÜÇÜKOĞLU, DEMİREL ve KARAN 1952).

Vital boyamanın esasını, boyanın seçicilik özelliği teşkil etmektedir. Bu seçicilik (électivité) vakuom lehinedir. Ancak bu olay canlı hücreler için muteberdir. Ölüm anında, pıhtılaşan ve nukleusu da dahil olmak üzere, hücre bir bütün olarak ve yeknesak bir şekilde boyanır (GUILLERMOND ve MANGENOT 1960).

Alg ve mantarların iplikli hücrelerinde, *Musci* (yapraklı karayosunları) nin sporogenez ve spermatogenez safhalarında (EYMÉ 1954), yüksek bitkilerin meristematik hücrelerinde, pollen tanelerinde ve tohumlarında vital boya ile vakuom araştırılmış, alglerin zoosporları ile mantar sporlarının vakuomlarında benzerlik görülmüştür. *Equisetum* (Atkuyruğu) sporlarında küçük çubuklar halinde "mitokondriform" olan vakuollere rastlanmıştır (DANGEARD 1947).

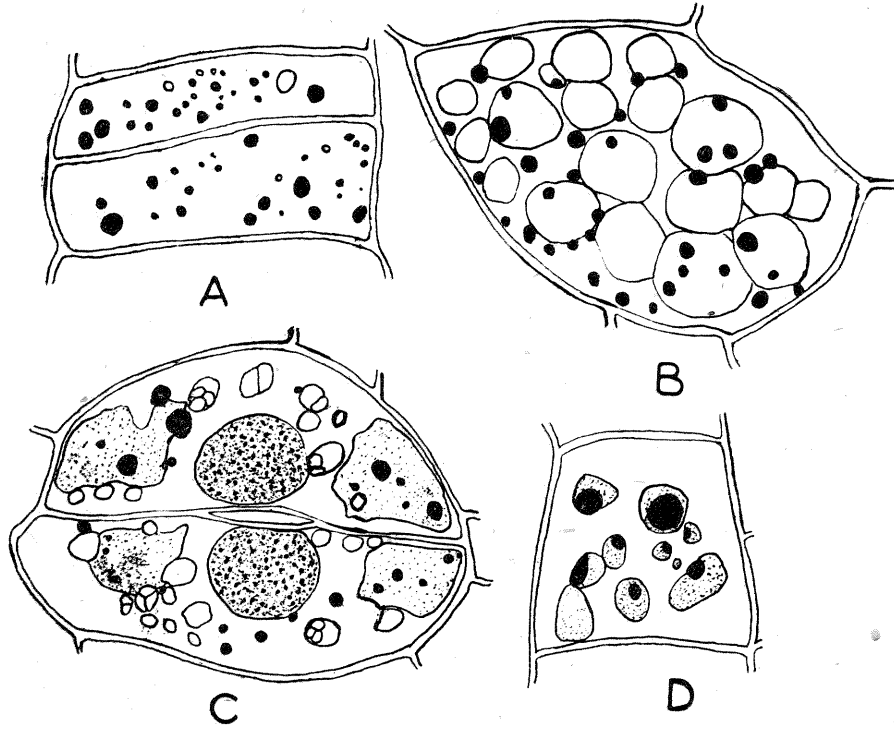
Yüksek bitkilerin muhtelif hücrelerindeki vakuollerde çeşitli yapılar müşahede edilmiştir. Ekserisi küresel veya ağımsı, bazısı sadece küresel, bazısı da gençken küresel, daha sonra ağımsı iplik vaziyetinde görülmüştür (DANGEARD 1956/a, 1956/b).

VAKUOLÜN MENŞEİ

Vakuolün menşesini DE VRIES, DANGEARD, EYMÉ gibi bazı araştırmacılar daimî hücre elemanı olarak kabul edip, şekil ve hal değiştirerek, bir hücreden yavru hücrelere geçtiğini ileri sürmüşlerdir. Tohumun su kaybı esnasında, vakuoller dehidratasyona uğrayıp parçalanarak birkaç alevron meydana getirirler. Bu olayın reversibl olduğu düşünülürse, vakuol, hücre içinde kaybolmayan daimî bir elemandır (DANGEARD 1934, EYMÉ 1954, ŞENGÜN 1954).

Buna mukabil HUREL-PY (1933), PLANTEFOL (1933) tamamen aksi bir görüşle pollen tübü sitoplazmasında, vakuollerin yeniden hasıl olduğunu söylemektedirler (DANGEARD 1934). Daha sonraları MAYER, NAGELİ, SHARP, GUILLERMOND, BHARGAVA gibi araştırmacılar da bu fikri desteklemişlerdir (ŞENGÜN 1954). Misal olarak GUILLERMOND'un *Penicillium glaucum*'da müşahede ettiği yeni vakuoller gösterilebilir. Bu hal *Saprolegnia* ve *Saccharomyces* (Bira mayası) de de görülür. PFEFFER suni olarak vakuol hasıl etmeyi başarmıştır (ŞENGÜN 1954).

GUILLERMOND ve MANGENOT (1960) ya göre besin vakuollerinin menşesi eksojen, diğerlerinin ise endogen'dir; kendiliğinden (spontanée) sitoplazma dahilinde meydana gelir veya önceden mevcut (préexistante) vakuollerden şekillenirler. *Geotrichum lactis* adlı mantarın, yeni teşekkül eden hifinin sitoplazması içinde küçük küresel vakuollerin meydana gelmesini, bu görüşe atfetmektedirler.



Şekil 1 : Nötr kırmızısıyla boyanan genç tütün fidesi vakuomu ($\times 1350$).

- 4 günlük fide kökünün meristematik hücrelerinde parlak kırmızı ve pembe renkli küresel vakuoller.
- 7 günlük fidenin kotiledonunun epiderma hücresinde parlak kırmızıya boyanan küçük vakuoller ve renksiz lipidler.
- 5 günlük fide kotiledonunun stoma hücrelerinde küçük küresel vakuoller ve pembeye boyanan (şekilde seyrek noktalı) gayrimuntazam 4 koful.
- 4 günlük fidenin kök hücresinin vakuollerindeki çökeltiler.

Figure 1 : Le vacuome de jeune plantule du tabac Turc (sorte de Malatya) traite au rouge neutre ($\times 1350$).

- Les vacuoles sphériques de la cellule de la plantule âgée de 4 jours, colorées en rouge vif et en rose par le rouge neutre.
- Les petites vacuoles denses et intensément rougies et les lipides incolores, de l'épiderme de la plantule âgée de 7 jours.
- Les vacuoles sphériques et les 4 grandes vacuoles (en pointillé sur la figure) roses.
- Les précipités formés dans le suc vacuolaire de la cellule de la racine âgée de 4 jours.

TÜTÜN BİTKİSİNDE VAKUOM MÜŞAHEDELERİ

Vakuom hakkında bu kısa konuşmamdan sonra Bordeaux Fen Fakültesinde bulunduğum esnada vital boya kullanarak *Nicotiana tabacum* L. un "676 No. lu Malatya Celikan" çeşidindeki bazı müşahedelerimizden ve vital boyama tekniğinden bahsetmek istiyorum¹.

Nötr kırmızısı ile kofulun boyanması gayet basit ve çabuktur. Bu bakımdan, öğretmen arkadaşlar fazla külfete katlanmadan, dersten önce veya ders esnasında genç fidelerin köklerini boyayarak kofulları öğrencilerine gösterebilirler.

Bir saat camındaki safsuya, spatülün ucu ile az bir miktar toz halindeki nötr kırmızısı ilâve edilir. Renk homojen olarak yayıldıktan sonra, diğer saat camına safsu ve birkaç damla bu eriyikten konur. 25 derecelik etüvde çimlendirilen tütün fideleri 10 dakika kadar bu eriyikte bırakılır. Sonra fidenin kök, hipokotil veya çenek gibi organlarından biri lama alınır. Eğer mevsim yaz ise etüvde çimlendirmeye lüzum yoktur. Normal oda ısısında da tohumlar çimlenebilir.

Preparasyon hazırlanırken, inceleme ortamı olarak bir damla nötr kırmızısı kullanılır, lamel kapatılarak üstünden hafifce bastırılıp organ biraz ezilir.

Tütün köklerine, az büyüten objektifle bakıldığı zaman, kaliptra bölgesinden sonra gelen kısım açık pembe renkte görülür. Daha yukarı bölgelerdeki hücrelerin plazmaları da kırmızıdır.

Pembe olan meristematik bölge çok büyüten objektifle incelenirse, vakuollerin kırmızıya boyandığı ve hücrelerin vitalitelerinin bozulduğu, hatta bazı hallerde, plazma akımının bile net olarak görüldüğü vakidir (Şekil: 1 A).

Çimlenmeden sonra 4-8 günlük fidelerin, vakuom incelemek için uygun olduklarını gördük. Köklerin 4-5 günlük olması maksada kâfi gelir. Kotiledonlarda ise bu müddet 8 güne çıkarılabilir. Şekillerden de anlaşılacağı üzere kotiledonların epiderma hücreleri incelenirken bol miktarda lipid de görülmüştür (Şekil: 1 B, C). Stoma hücrelerinde irili ufaklı vakuoller müşahede edilmiş, birkaç dakika içinde, vitalitesini kaybeden stomadaki değişiklik izlenmiştir.

1) Bana gerekli yardımları yapan ve bu metodu öğreten Prof. J. EY-MÉ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Fide aşığı yukarı 1,5 santimi bulunca, vakuom, nötr kırmızısıyla istenilen şekilde boyanamıyor, boya içeri girerken bütün hücreler yeknesak olarak kırmızıya boyanıp hayatyetlerini kaybediyorlar. Eğer boya, hücrenin içinde yayılıp kırmızı renk hakim duruma geçerse, hücrenin öldüğü anlaşılır.

Bir haftadan sonra nötr kırmızısının nufuz etmesi bize hiç bir enteresan müşahede veremedi. Genç tütün köklerinde bu devrede (7-11 gün) nikotin sentezinin başladığı hatırlanırsa, vital boyaya belki alkaloidin tesir ettiğı düşünülebilir.

Birçok araştırmacıların muhtelif bitkilerde varlığını tesbit ettikleri küresel vakuomu, biz de genç tütün fidelerinde böylece müşahede etmek fırsatını bulmuş olduk.

RÉSUMÉ

La constitution du vacuome dans les cellules des jeunes racines du tabac et de l'axe hypocotylé a été étudiée grâce aux colorations vitales par le rouge neutre. Nous avons observé les vacuoles sphériques. Les plantules âgées de 4 à 8 jours se sont montrées les plus favorables; au de la d'une semaine, la pénétration du rouge neutre ne peut donner bien à aucune observation intéressante. On sait que, la formation de la nicotine commence de 7 à 11 jours après la semaille. On peut penser que, cet alcoloïde empêche la pénétration au rouge neutre au vacuome.

J'adresse mes remerciements à M. J. EYMÉ, Professeur de la Faculté des Sciences de Bordeaux pour l'accueil et l'aide précieuse.

L I T E R A T Ü R

1. AKDİK, S.: Genel botanik. 1.Baskı.İstanbul, 1961.
2. DANGEARD, P.: Les caractères du vacuome dans les grains de pollen et dans les tubes polliniques. - Le Botaniste 26 (3) : 235-240. 1934.
3. DANGEARD, P.: Cytologie végétale et cytologie générale. Paris, 1947.
4. DANGEARD, P.: Le vacuome des grains de pollen et sa coloration vitale. - Protoplasma 46 (1-4) : 152-159. 1956/a.
5. DANGEARD, P.: Le vacuome de la cellule végétale. Morphologie. In Protoplasmatologia 3 D 1: 1-41. Wien, 1956/b.

Türk Dil Kurumunun yayımladığı sözlükde boşaltım terimi için: "Sindirimden sonra barsaklarda kalan posanın, sidik torbasındaki sidigin, tükürük, sümük gibi salgıların vücuttan dışarı atılması" denilmektedir. Boşaltım bu olunca, boşaltım organı; kalın barsak, böbrek, ter bezi ve nefridyum gibi organlar oluyor. İfraz (sécrétion) için ayrı bir terimimiz yoktur.

Metabolizmaya girememiş bir posa ile, metabolizma yıkıntısını aynı kelime ile ifade edecek kadar fizyolojiyi kabalaştırdıktan sonra, Türk biyoloji öğretmenlerinden hangi anlamı öğretmemiz isteniyor?

Ben aksak terimleri derleyip toplamadım. Ancak bunları işaret edebiliyorum. Bu kaygumu görecektir, duyacak kimseler var mı, bilmem! Şayet varsa dikkatlerini bir kere daha çekmek istiyorum ve diyorumki bir bilim sözlüğü, öğretimi kurtaracak, bilime istikrarlı bir yön verecektir.