

KAWANO METODUNA GÖRE PEKTİNİZ VE SELLÜLAZ
ENZİMLERİ TATBİK EDEREK ORSEİN İLE EZME
PREPARATLAR HAZIRLANMASI*

Doç. Dr. Necmettin ZEYBEK
Ege Üniversitesi
Fen Fakültesi
Sistemik Botanik Kürsüsü

Şener BALTEPE
Ege Üniversitesi
Fen Fakültesi
Genel Botanik Kürsüsü

Sitogenetik ve Sitotaksonomik çalışmalarda ezme preparatların hazırlanmasında kromosomların boyanması, az çok aynı düzlemde dağılması ve sitoplazmanın şeffaflaşması çok önemlidir. Böyle preparatlarda kromosomların morfolojik yapılarının incelenmesi ve sayılarının tesbiti hem daha kolay, hem daha doğru olur.

Her ne kadar ezme metodlarında kullanılan farklı fiksatifler ve asidlerle orta (Pektin) lamelin erimesi ve dokuların maserasyonu sağlanıyorsa da, bazı bitkilerde sonuca başarılı olarak ulaşılamamaktadır. Diğer taraftan küçük ve çok sayıda kromosomları bulunan bitkilerde klâsik ezme metodunu uygulamak güçtür.

İlk olarak STUART ve EMSWELLER (1943), *Lilium longiflorum*'da meiosis incelemesinde hücre çeperlerinin maserasyonunu kolaylaştırmak, sitoplazmanın şeffaflaşmasını ve kromosomların dağılmasını sağlamak amacı ile Malt diyastaz, Polizim «P» ve Klaraz enzimlerini kullanmışlardır. FABERGÉ (1945), *Helix pomatia*'nın karın sıvısından elde ettiği sitaz'ı; McKay ve CLARKE (1946), *Allium* kök ucundan ezme preparat hazırlanmasında pektinol'ü tatbik etmişlerdir. Daha sonra SETTERFIELD ve arkadaşları (1954) ile WOLFF ve LUIPPOLD (1956), pektinaz enzimlerini kullanmışlardır.

* Sayın meslektaşımız Dr. KAWANO'ya bu metodun uygulanmasında yardımlarından dolayı tekrar teşekkürü bir ödev sayanız.

ÖSTERGEN ve HENEEN (1962), değiştirilmiş FEULGEN reçetesinde Pektinaz kullanarak Gramineae türlerinin ezme preparatlarının hazırlanmasında çok iyi sonuçlar almışlardır.

Bazı *Scrophulariaceae*, *Primulaceae* ve *Solanaceae* üyelerinin somatik kromosomları üzerinde yapılan araştırmalarda, FEULGEN ve Asetik orsein metodları aynen ve değiştirilerek uygulansa bile, iyi preparatlar elde edilmesinde büyük güçlüklerle karşılaşmaktadır.

KAWANO (1965) nun bu yeni metodu ile küçük, boya kabul etmeye yetersiz ve dağılmaya karşı dayanıklı kromosomlara sahip bitkilerden iyi preparatlar hazırlamak mümkündür

Fikasyon :

Kromosom preparatlarının hazırlanmasında her şeyden önce materyal'e uygun fiksatif ve boya seçilmesi en önemli hususlardır. Bu yeni metodun tesbitinde, çeşitli fiksatifler ayrı familyalara ait bitkilerde denenmiştir.

Malvaceae, *Compositae*, *Ranunculaceae* ve *Liliaceae* üyeleri için etil alkol-asetik asid (3:1 oranında) veya DYER karışımı (etil alkol, asetik asid, kloroform ve formalin, 10:2:1:1 oranında) 5 dakika müddetle en uygun fiksatiflerdir.

Sert meristematik dokuları olan *Gramineae* üyeleri ile küçük kromosumlu *Primulaceae*, *Scrophulariaceae* ve *Solanaceae* üyelerinin ise en uygun fiksativi ÖSTERGEN ve HENEEN fiksativi'dir.

Takibedilen Yollar :

- 1 — Kesilmiş kök uçlarını 2—4 saat müddetle 0,002M 8-hidroksikuinolin (17—20 derecede) veya %0,2 kolşisin eriyiğine koyunuz.
- 2 — a) Etanol-asetik asid (3:1) veya Dyer karışımında 5—10 dakika fikse ediniz.
b) Veya ÖSTERGEN ve HENEEN fiksatiflerinde 30 dak.—6 saat fikse ediniz.
- 3 — Tercihan 25—30 derecede, %5 sulu pektinaz solüsyonunda 2 saat muamele ediniz. *Cyperaceae* gibi meristematik dokuları çok sert olan materyal için %5 pektinaz ve %5 sulu sellülaz'ın 1:1 oranında karıştırılmış solüsyonu tavsiye edilir. Pektinaz için optimum temperatur, Ohio Nutritional Biochemical Corp.'un talimatına göre 37 derecedir.
- 4 — a) %1 lik aseto-orsein içinde 6—24 saat bırakınız.
b) Veya, lakto-propiyonik orsein (Dyer) içinde 6—24 saat bırakınız.

5 — a) Kök uçlarını 1:1 aseto-orsein (%1) ve 1N HCl karışımına geçirip 1—5 dakika muamele ediniz.

b) Veya, kök uçlarını 1:1 lakto-propiyonik orsein ve 1N HCl karışımına geçirip bunun içinde 1—5 dakika bırakınız.

6 — a) Her kök ucunu bir lam üzerine koyunuz, bir damla asetik asid (%45) ve gliserol karışımı (9:1) damlatınız.

b) Veya, her kök ucunu bir lam üzerine koyunuz, %45 lik propiyonik asid ve gliserol karışımı (9:1) damlatınız (eğer laktopropiyonik orsein ile boyanmışsa) Sonra hafif alevli bekte ısıtınız.

7 — Materyalin, üzerine lamel kapayarak eziniz.

8 — Lamelin kenarını parafin ve Kanada balzamının 1:1 karışımı ile çerçeveyi kapatın. İyi kapatılmış preparatlar, buz dolabında 3—6 ay müddetle bozulmadan kalabilir.

Yukarıda açıklanan iki yoldan biri seçilir. Bunları şöyle özetleyebiliriz :

I — 1, 2a, (3), 4a, 5a, 6a, 7, 8 (3) : İhtiyari kademe

Compositae, *Ranunculaceae*, *Malvaceae* ve *Liliaceae* familyaları üyeleri için uygundur.

II — 1, 2b, 3, 4b, 5b, 6b, 7, 8

Primulaceae, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Cyperaceae* vs. üyeleri için uygundur.

LİTERATÜR

1 — FABERGÉ, A. C. (1945): Stain Techn. 20 : 1

2 — KAWANO, S. (1965): Bot. Magazine, Tokyo 78 No: 919, 36—42

3 — McKAY, H. H., AND A. E. CLARKE (1946): Stain Techn, 21 : 111

4 — ÖSTERGREN, G., AND W. K. HENEEN (1962): Hereditas 48 : 332

5 — SETTERFIELD, G. Et. al (1954): Stain Techn. 29 : 113

6 — STUART, N. W., AND S. L. EMSWELLER (1943): Science 98 : 569

7 — WOLFF, S., AND H. E. LUIPPOLD (1956): Stain Techn. 31 : 201