T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MATTHIOLA INCANA (L.) R. BR.'NIN ERKEK GAMETOFİTİNDE SİTOLOJİK VE EMBRİYOLOJİK ÇALIŞMALAR

NAZLICAN ÇOLAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: DOÇ. DR. NURAN EKİCİ

EDİRNE-2021

NAZLICAN ÇOLAK'ın hazırladığı "***MATTHIOLA INCANA* (L.) R. BR.'NIN ERKEK GAMETOFİTİNDE SİTOLOJİK VE EMBRİYOLOJİK ÇALIŞMALAR**" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Ünvan, Ad, Soyad):	İmza
Prof. Dr. Çiler KARTAL	……
Doç. Dr. Nuran EKİCİ	……
Doç. Dr. Özlem AKSOY	……

Tez Savunma Tarihi: 08/02/2021

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Doç. Dr. Nuran EKİCİ

Tez Danışmanı ……

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

Doç. Dr. Hüseyin Rıza Ferhat KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü. FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahribat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

08/02/2021

Nazlıcan Çolak

Yüksek Lisans Tezi

Matthiola incana (L.) R. Br.'nın Erkek Gametofitinde Sitolojik ve Embriyolojik Çalışmalar

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Ensitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik A.B.D.

ÖZET

Bu tez çalışmasında Türkiye'de sınırlı bölgede dağılım gösteren Brassicaceae familyasından *Matthiola incana* (L.) R. Br.'da mikrosporogenez, mikrogametogenez ve polen canlılığı sitolojik ve embriyolojik olarak incelenmiştir. Bu çalışmada ezme preparasyon ve parafin gömme metodu kullanılarak yapılan preparatlar ışık mikroskobunda incelenmiştir. Çeşitli evrelerdeki anterlerin polisakkarit ve RNA içeriği histolojik olarak PAS yöntemi ve toluidin mavisi ile boyama yöntemi kullanılarak incelenmiştir. *M. incana*'da anterler tetrasporangiattır. Anter çeperi; epidermis, endotesyum, yassılaşmış ara tabaka ve genellikle iki nukleuslu hücrelerden meydana gelen salgı tapetumundan oluşmaktadır. Mikrosporogenez ve polen mitozu genellikle düzenlidir fakat bazı evrelerde kromozom köprüsü ve mikronukleus gibi anormalliklere de rastlanmıştır. Ayrıca mikrosporogenezde asinkroni gözlenmiştir. Polen sterilite oranı %0,2 olarak tespit edilmiştir. Anterdeki polisakkarit içeriği genellikle hücre çeperlerinde ve mikrosporlarda yoğunlaşmıştır. Polisakkaritler özellikle tapetum hücrelerinde, tek çekirdekli mikrospor evresinde endotesyum tabakası ve epidermiste, olgun polen evresinde ise endotesyum tabakasında daha yoğundur. RNA içeriğinin mikrogametogenezin erken evresinde anter çeperinde, polen mitozuna hazırlanan mikrosporlarda ve tek çekirdekli mikrospor evresinde ara tabakada zengin olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile elde edilen bulguların, *M. incana* ile ilgili yapılan sitoembriyolojik, histolojik ve taksonomik araştırmalara katkı sağlaması amaçlanmaktadır.

Yıl : 2021

Sayfa Sayısı : 82

Anahtar Kelimeler : *Matthiola incana*, Brassicaceae, mikrosporogenez, mikrogametogenez, mikrospor, polen

Master Thesis

Cytological and Embryological Studies in Male Gametophyte of *Matthiola incana* (L.) R. Br.

Trakya University Insitute of Natural Sciences

Department of Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

In this thesis, microsporogenesis, microgametogenesis and pollen viability were investigated cytologically and embryologically in *Matthiola incana* (L.) R. Br. from Brassicaceae family which shows limited distribution in Turkey. In this study, the preparations made by using the crushing method and paraffin embedding method were examined under a light microscope. The polysaccharide and RNA contents of the anthers at various stages were examined histologically using the PAS method and the toluidine blue staining method. Anthers in *M. incana* are tetrasporangiate. Anther wall consists of epidermis, endothecium, flattened intermediate layer and secretory tapetum, usually with two-nucleted cells. Microsporogenesis and pollen mitosis are generally regular, but abnormalities such as chromosome bridge and micronucleus have also been encountered at some stages. In addition, asynchrony has been observed in microsporogenesis. Pollen sterility rate was determined as 0.2%. The polysaccharide content in the anther is often concentrated in cell walls and microspores. Polysaccharides are denser especially in tapetum cells, in the endothecium layer and epidermis in the mononuclear microspore stage, and in the endothecium layer in the mature pollen stage. It was observed that the RNA content was rich in the anther wall in the early stage of microgametogenesis, in microspores prepared for pollen mitosis, and in the middle layer in the mononuclear microspore stage. It is aimed that the data obtained from this study will contribute to the cytoembryological, histological and taxonomic studies on *M. incana*.

Year : 2021

Pages : 82

Keywords : *Matthiola incana*, Brassicaceae, microsporogenesis, microgametogenesis, microspore, pollen

ÖNSÖZ

Bu çalışmada *Matthiola incana* (L.) R. Br (şebboy) sitolojik ve embriyolojik olarak incelenmiştir. *M. incana* türünün anter çeper gelişim evreleri, mikrosporogenez ve mikrogametogenez evreleri ve polen canlılığı incelenmiştir. Ayrıca *M. incana* türünün anter çeperi polisakkarit ve RNA içeriği bakımından da araştırılmıştır. *M. incana* ile ilgili embriyolojik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmanın, türün embriyolojisi ve taksonomisi ile ilgili yapılan çalışmalara katkı sağlaması amaçlanmaktadır.

Tez konusunun seçiminde ve tezin hazırlanış sürecinde bana yardımcı olan, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, görüş, eleştiri ve düşüncelerini benimle paylaşan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Nuran Ekici'ye teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Değerli görüşlerinden yararlandığım Prof. Dr. Feruzan Dane'ye, Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü serasını kullanım olanağı sağladığı için Sayın Prof. Dr. Çiler Kartal'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez aşamamda laboratuvar imkanlarından faydalanmama olanak sağlayan Trakya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dekanlığına, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölüm Başkanı ve Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Eylem Bayır'a, materyal temini konusunda yardımlarını esirgemeyen Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Yeşim Hülya Uz'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca maddi ve manevi destekleri, sevgi ve emekleri için aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv

ABSTRACT vi

ÖNSÖZ viii

İÇİNDEKİLER ix

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xi

ŞEKİLLER DİZİNİ xii

BÖLÜM 1 1

GİRİŞ 1

BÖLÜM 2 4

KURAMSAL TEMELLER 4

2.1. Brassicaceae Familyasının Genel Özellikleri 4

2.2. *Matthiola* Cinsinin Genel Özellikleri 4

2.3. *Matthiola incana* (L.) R. Br.'nın Taksonomideki Yeri 6

2.4. *Matthiola incana* L.'nın Morfolojik Özellikleri 7

2.5. *Matthiola incana* L.'nın Karyolojik Özellikleri 8

2.6. *Matthiola incana* L.'nın Yöresel Olarak Kullanılan İsimleri 8

2.7. *Matthiola incana* L.'nın Dünya Üzerindeki Yayılışı 9

2.8. *Matthiola incana* L.'nın Türkiye'deki Yayılışı 10

2.9. *Matthiola incana* L.'nın Biyokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri .. 10

2.10. *Matthiola incana* L.'da *In Vitro* Çalışmalar 12

BÖLÜM 3 14

MATERYAL ve METOD 14

3.1. Deney Materyallerinin Elde Edilmesi 14

3.2. Işık Mikroskobu ile Sitolojik İncelemeler 14

3.2.1.Andrekeumun İncelenmesi 14
3.2.2. Anter Çeperinin, Mikrosporogenezin Çeşitli Evrelerinin İncelenmesi 15
3.2.3.Tapetum Hücrelerindeki Bölünme Tiplerinin İncelenmesi 16
3.2.4. Mikrosporogenezin ve Polen Mitozunun incelenmesi 16
3.2.5. Polen Canlılığının İncelenmesi 16
3.3. Preperayonunda Kullanılan Bazı Boya ve Çözeltilerin Hazırlanışı 17
%2'lik Aseto-Orseinin Hazırlanışı 17
Lakto-Fenol Anilin Mavisinin Hazırlanışı 17
Delafield's Hematoksilen Hazırlanışı 17
%1'lik Toluidin Mavisinin Hazırlanışı 18
%1'lik Asetocarmin Hazırlanışı 18
PAS Hazırlanışı 18
BÖLÜM 4 21
BULGULAR 21
4.1. *Matthiola incana* L.'nın Erkek Gametofitinin Embriyolojik Özellikleri 21
4.1.1. Andrekeum 21
4.1.1.1. Anter Çeperi 22
4.1.1.2. Tetrad Evresi ve Mikrogametogenezin Çeşitli Evrelerinde Anter Çeperinin Histokimyasal Özellikleri 26
4.1.1.3. Mikrosporogenez 31
4.1.1.4. Mikrogametogenez 44
4.1.1.5. Polen Canlılığı 49
BÖLÜM 5 51
SONUÇLAR VE TARTIŞMA 51
KAYNAKLAR 60
ÖZGEÇMİŞ 68

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit
at	: Ara Tabaka
BAP	: 6-Benzil Amino Pürin
Di	: Diad
ekz	: Ekzin
end	: Endotesyum
ep	: Epidermis
fp	: Fertil Polen
gn	: Generatif Nukleus
ka	: Kalloz
KIN	: Kinetin
MAH	: Mikrospor Ana Hücresi
MS	: Murashige ve Skoog
N	: Nukleus
NAA	: Naftalen Asetik Asit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
P	: Polen
PAS	: Periyodik Asit Schiff
sp	: Steril Polen
Ta	: Tapetum
T	: Tetrad
V	: Vakuol
Vn	: Vegetatif Nukleus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. *Matthiola incana* L. 6
Şekil 2.2. *M. incana*'nın kısımları. a, kök; b, gövde; c, çiçek 7
Şekil 2.3. *M. incana*'nın dünya üzerindeki yayılışı (IPNI-Uluslararası Bitki İsimleri Dizini, 2020) 9
Şekil 2.4. *M. incana* L.'un Türkiye üzerindeki yayılışı (Bizim Bitkiler, 2020) 10

Şekil 3.1. *M. incana*'nın çeşitli boylardaki çiçek ve tomurcukları 14

Şekil 4.1. *M. incana*'da anterlerin gelişimleri sırasındaki uzunlukları 21
Şekil 4.2. *M. incana* tomurcuğunun enine kesitinde tetrasporangiat anterler (id, iletim doku; kd, kollektif doku; p, polen) 22
Şekil 4.3. *M. incana*'da mikrosporogenezin erken evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ta, tapetum) 23
Şekil 4.4. *M. incana*'da mikrosporogenezin geç evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; T, tetrad; ta, tapetum) 23
Şekil 4.5. *M. incana*'da mikrogametogenezin erken evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; ep, epidermis; ms, mikrospor; ta, tapetum) 24
Şekil 4.6. *M. incana*'da mikrogametogenezin geç evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; ekz, ekzin; end, endotesyum; ep, epidermis; int, intin; p, polen; ta, tapetum) 24
Şekil 4.7. *M. incana*'nın anter çeperindeki tapetum hücreleri (N, nukleus; ta, tapetum) 25
Şekil 4.8. *M. incana*'da olgun anter çeperinde endotesyum kalınlaşmaları (end, endotesyum; p, polen) 25

Şekil 4.9. PAS ile boyanmış *M. incana*'nın tetrad evresi ve mikrogametogenezin çeşitli evrelerindeki anterlerin enine kesiti. a, tetrad evresi; b, buruşuk mikrospor evresi; c, tek çekirdekli mikrospor evresi; d, olgun polen evresi (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum)..... 28

Şekil 4.10. Toluidin mavisi ile boyanmış *M. incana*'nın geç tetrad evresi ve mikrogametogenezin çeşitli evrelerindeki anterlerin enine kesiti. a, geç tetrad evresi; b, buruşuk mikrospor evresi; c, tek çekirdekli mikrospor evresi; d, olgun polen evresi (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ka, kalloz çeper; N, nukleus; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum) 30

Şekil 4.11. *M. incana*'nın bir anterindeki asinkronik mayoz bölünme evreleri 33

Şekil 4.12. *M. incana*'nın bir anter lokusundaki asinkronik mayoz bölünme evreleri..... 33

Şekil 4.13. *M. incana*'nın mikrospor ana hücresinde simultane tipte mayoz bölünme. a, interfaz; b, erken profaz; c, leptoten; d, zigoten; e, pakiten; f, buket evresi; g, diploten ; h, diakinez; i, metafaz I; j, anafaz I; k, telofaz I; l, diad; m, metafaz II; n, anafaz II; o, telofaz II; p, tetrad evresi (at, ara tabaka; Di, diad; end, endotesyum; ep, epidermis; ka, kalloz çeper; MAH, mikrospor ana hücresi; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum) 41

Şekil 4.14. *M. incana*'da görülen tetrad tipleri. a, romboidal; b, dekusat, tetrahedral ve romboidal tetradın yandan görünüşü (ka, kalloz çeper; T, tetrad) 42

Şekil 4.15. *M. incana*'da mikrosporogenez sırasında görülen bazı anormallikler. a, erken profaz I'de mikronukleuslar (oklar); b, Anafaz I'de kalgın kromozom (ince oklar) ve kromozom köprüsü (kalın ok).(at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ka, kalloz çeper, ta, tapetum) 43

Şekil 4.16. *M. incana*'da mikrogametogenez. a, b, tetrad sonrası evre; c, buruşuk mikrospor evresi; d, polarize olmuş tek çekirdekli mikrospor evresi; e, profaz; f, metafaz; g, anafaz; h, telofaz; i, iki nukleuslu olgun polen evresi (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; gn, generatif nukleus; ka, kalloz çeper; N, nukleus; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum; V, vakuol; vn, vejetatif nukleus)..... 48

Şekil 4.17. *M. incana*'da polen mitozu anafaz evresinde görülen kromozom köprüsü (ok) (N, nukleus; p, polen; V, vakuol) 49
Şekil 4.18. *M. incana*'da anilin mavisiyle boyanmış fertil ve steril (ok) polenler. (fp, fertil polen; sp, steril polen) 50
Şekil 4.19. *M. incana*'da asetocarmin ile boyanmış fertil ve steril (ok) polenler (fp; fertil polen, sp; steril polen) 50

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Turpgiller familyası olarak da bilinen Brassicaceae familyası, yaklaşık 321 cinsten oluşan monofiletik bir gruptur ve dünya çapında dağılım gösteren 49 takım, yaklaşık 3.660 tür içermektedir. Çok çeşitli sebze ve ekonomik olarak önemli ürünlerden oluşmaktadır (Al-Shehbaz, 2012).

Brassicaceae familyası, Antartika hariç, tüm kıtalarda yayılış gösterir (Koch vd., 2006). Daha çok Kuzey Atlantik Adaları, Akdeniz Havzası, Saharo-Sindian bölgesi, Kuzeydoğu Afrika ve Asya'ya yayılmış geniş bir familya olup, Türkiye'de ve İran-Turan bölgesinde taksonomik çeşitlilik göstermektedir (Al-Shehbaz, Beilstein & Kellogg, 2006; Heywood, 1993; Martin vd., 2016; Ranjbar ve Karami 2013). Bu familya, ülkemizde Marmara Bölgesi, Batı ve Doğu Karadeniz Bölümü, Kıyı Ege Bölümü ve Akdeniz Bölgesi'nde dağılım göstermektedir (Bizim Bitkiler, 2020).

Brassicaceae'nin genellikle, asıl Brassicaceae oymakları (tribe) varsayılan Stanleyeae veya Thelypodieae ile bağlantılı olan, Capparaceae alt ailesi (altfamilya) Cleomoideae'den türediği ya da ortak bir atadan geldiği düşünülmektedir (Hall, Sytsma & Iltis, 2002).

Brassicaceae ailesi filogenetik olarak araştırılmıştır. Su vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada Brassicales içindeki filogenetik ilişkileri belirlemek için dört plastid DNA bölgesi (matK, ndhF, rbcL, trnL-trnF) ve polen verileri kullanılmıştır. Edger vd. (2014) Brassicaceae familyasından 50 tür için ITS1 ve ITS2 (Transkripsiyonu Yapılan İç Ara Bölgeler) analizleri yapmışlardır. Nüklear ribozomal RNA gen kümesinin ITS1 ve ITS2 olarak adlandırılan bölgeleri çoğu bitki familyası dahil, birçok ökaryotik

grupta filogenetik analizler için en sık kullanılan nüklear belirteçlerdir (Edger vd., 2014).

Matthiola cinsi dünyada yaklaşık 50 tür ile; Türkiye'de ise 12 takson ile temsil edilmektedir (Cullen,1965; Dirmenci, Satıl & Tümen, 2006; Güner, 2012; Martin, Yılmaz & Tekin, 2013).

Matthiola cinsi ile yapılan karyolojik çalışmalar; somatik kromozom sayısının 2n = 10, 12, 14 ve 16 olduğunu göstermektedir (Allen, 1924; Ghaffari, 2006; Martin vd., 2013; Ranjbar & Karami, 2013). Türkiye'de bulunan türler ile yapılan çalışmada *Matthiola trojana*, *M. odoratissima* (Pall.) R.Br., *M. anchonifolia* Hub.-Mor., *M. montana* Boiss., *M. fruticulosa* (L.) Maire ssp. *fruticulosa* ve *M. ovatifolia* (Boiss.) Boiss.'da 2n=12 kromozom ve *M. incana* (L.) R.Br., *M. longipetala* (Vent.) DC. ssp. *bicornis* (Sibth. & Smith) P. W. Ball, *M. longipetala* (Vent.) DC. ssp. *longipetala*, *M. longipetala* (Vent.) DC. ssp. *pumilio* (Sibth. & Smith) P. W. Ball, *M. sinuata* (L.) R.Br., ve *M. tricuspidata* (L.) R.Br.'da 2n=14 kromozom olduğu rapor edilmiştir (Martin vd., 2016). Irani vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, farklı bölgelerde yetiştirilen *M. incana* kültivarlarında kök ucu hücrelerinde somatik kromozom sayısı (2n =14) ve kantitatif karyotipik parametreler incelenmiştir. Nitel ve nicel yöntemlerle karyotip asimetrisinin derecesi incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

Matthiola arabica Boiss., *M. fruticulosa* (L.) Maire, *M. longipetala* (Vent.) DC. subsp. *longipetala* ve *M. parviflora* (Schousb.) R.Br. taksonlarında (Khalik, Van Den Berg, Van Der Maesen & El Hadidi; 2002) *Matthiola longipetala* subsp. *bicornis* (Çıtak, Dural & Gönen, 2016) türünde polen morfolojisi çalışılmıştır.

Çiçek ticaretinde önemli bir ürün olan *M. incana*, son yıllarda artan renk yelpazesi, ilginç formu ve yoğun kokusu ile ön plana çıkmaktadır (Çelikel & Reid 2002). *M. incana* ile daha çok biyokimyasal (Heller, Britsch, Forkmann & Grisebach, 1985a, b; Saito vd., 1995) ve genetik (Ecker, Barzilay & Osherenko, 1993; Epping, Kittel, Ruhnau & Hemleben, 1990, Hemleben vd., 2004; Irani, Arab, Norouzi & Lotfi, 2016; Johnson,1953; Spribille & Forkmann 1981) çalışmalar bulunmaktadır.

Son yıllarda *M. incana* türünde çeşitli besiyerler kullanarak mikroçoğaltım çalışmaları da yapılmıştır (Ahmadi Hesar vd., 2015; Kaviani 2014; Kaviani, Hesar & Kharabian-Masouleh, 2011).

Matthiola incana ile ilgili sitolojik ve embriyolojik çalışmalara ait ilk kayıt 1924 yılına aittir. Bu çalışmada diploid kromozom sayısı açığa çıkarılmış, polen ana hücrelerinde mayoz bölünme ve polen oluşumu sırasında kromozom davranışları incelenmiştir (Allen, 1924). Yalınkat ve katmerli çiçek durumunu açıklamak için *in vivo* ve *in vitro* polen çimlenmesi çalışmaları yapılmıştır (Snow, 1925). *Matthiola incana* kültivarlarında morfofenolojik değişimler ve polen ana hücrelerinde görülen mayoz bölünmede kromozom davranışları incelenmiştir (Irani & Arab, 2017).

Süs bitkisi olarak sıklıkla kullanılan, bahçe düzenlenmesinde önemli bir rolü olan ve tohum yağında insan sağlığı için önemli bir yağ asidi olan alfa linolenik asit bulunduran *M. incana* bitkisi ile ilgili yapılan sitoembriyolojik sınırlıdır ve histokimyasal çalışma ise bulunmamaktadır. Bu çalışmada *M. incana*'nın erkek gametofitinin gelişim evreleri sitoembriyolojik ve histokimyasal olarak incelenmiştir. Bu çalışmadan elde edilecek bulgularla Brassicaceae familyası ile ilgili embriyolojik ve sitolojik verilere katkı sağlamayı amaçlamaktayız.

BÖLÜM 2

KURAMSAL TEMELLER

2.1. Brassicaceae Familyasının Genel Özellikleri

Brassicaceae familyası, genellikle otsu bitkilerden, nadiren küçük çalılardan oluşur. Brassicaceae familyası bitkilerinde stamenler çoğunlukla altı adettir ve ikili sarmal şeklinde dizilmektedirler. Dış halkadaki iki stamen, iç kısımdaki dört stamenden daha kısadır, ancak nadiren stamenlerin hepsi aynı uzunlukta da olabilmektedir. Bazı türler çok nadir olarak örneğin *Megacarpaea*'da 16-24, *Cardamine hirsuta*'da 4 ve *Coronopus*'da 2 olmak üzere farklı sayılardaki stamenlere sahiptir. Filamentler incedir (Al-Shehbaz, 2012).

Anterler kalıcı epidermise sahip, tetrasporangiat tiptedir. Anter çeperi oluşumu monokotil bitkilerdeki gibidir. Endotesyumda fibrilsi kalınlaşmalar gelişmektedir. Ara tabaka geçicidir fakat *Brassica juncea*'da hücreler periklinal olarak bölünerek 2-3 sıralı ara tabakayı oluşturmaktadırlar. Salgı tapetumu hücreleri genellikle 2 nukleusludur. Mikrospor ana hücrelerinde mayoz bölünmeyi simultane sitokinez izlemektedir. Mikrospor tetradları genellikle tetrahedral, izobilateral ve dekusat tiptedir. Polen taneleri dağılırken genellikle 3 hücrelidir. *Cardamine chenopodifolia* gibi bazı türlerde 2 hücreli polen görülmektedir (Davis,1966).

2.2. *Matthiola* Cinsinin Genel Özellikleri

Matthiola cinsi dünyada yaklaşık 50 tür ile Türkiye'de ise 12 takson ile temsil edilmektedir ve bunlardan 4'ü endemiktir. *Matthiola anchoniifolia*, *Matthiola longipetala* subsp. *pumilio*, *Matthiola montana* ve *Matthiola trojana* ülkemizde

yetişen endemik türlerdendir (Cullen, 1965; Dirmenci vd., 2006; Güner, 2012; Martin vd., 2013).

Ülkemizde bulunan endemik türlerden biri olan *Matthiola trojana*, Balıkesir'de bulunan Kazdağı Milli Parkı'nın kayalık yamaçlarında ve kalkerlerinde yetişmektedir. Kazdağı'nın çevresindeki izole alanlarda özel ekolojik sistemlerin neden olduğu mikro iklim bölgeleri vardır. Bu nedenle Kazdağı'nda bulunan birçok farklı yerel takson endemiktir. 2006 yılında *M. trojana* da bilim dünyasına yeni bir takson olarak tanıtılmıştır (Martin, Duran & Dirmenci, 2007).

Yapılan sitogenetik araştırmalara göre *Matthiola*'da somatik kromozom sayıları 2n = 10, 12, 14 ve 16 olarak görülmektedir. (Ghaffari, 2006; Martin vd., 2013; Ranjbar & Karami, 2013).

Matthiola cinsi tek yıllık, çok yıllık ve yarı çalı bitkilerden oluşur. Genellikle yoğun grimsi veya beyazımsı tüylü dallar ve bazen de salgı tüyleri ile kaplıdır. Yaprakları uzun veya mızrak şeklinde, sepaller ise torba şeklindedir. Petaller genellikle pembe, leylak, beyaz ve kirli sarı renklerde görülür. Petallerin üst kenarları bazen neredeyse yuvarlak olacak şekilde genişlemektedir ve petaller tabana doğru daralmaktadır. Stamenler genellikle altı adettir ve tetradinamdır yani stamenlerin dördü uzun, ikisi kısadır. Filamentler serbest, anterler akümünattır. Nektaryumlar, her bir lateral stamen tabanının dışında belirgin at nalı şeklindedir, medyan stamenlerinin de genellikle tabanı dışında devam eder ve bazen bir halka oluştururlar. Ovaryum doğrusaldır ve sapsız stigmalıdır, ovüller çok sayıdadır. Stilüs iki parçalıdır. Meyveler siyahımsı veya sarımsı renkte görülürler, şekilleri yuvarlak veya yassılaşmış silikvadır. Silikva doğrusal, ayrık ve kalın septumludur. Her lokulusta bir sıra tohum bulunur. Tohumlar suborbikular şekilde, sıkıştırılmış ve genellikle kanatlıdır (Conti, 1900; IPNI, 2020).

2.3. *Matthiola incana* (L.) R. Br.'nın Taksonomideki Yeri

Alem: Plantae

Şube: Tracheophyta

Alt Şube: Spermatophytina

Bölüm: Spermatophyta

Alt bölüm: Angiospermea / Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Alt sınıf: Magnoliidae

Üst takım: Rosanae

Takım: Brassicales / Capparales

Familya: Brassicaceae / Cruciferae

Oymak: Anchonieae

Cins: *Matthiola*

Tür: *Matthiola incana* (L.) R. Br.



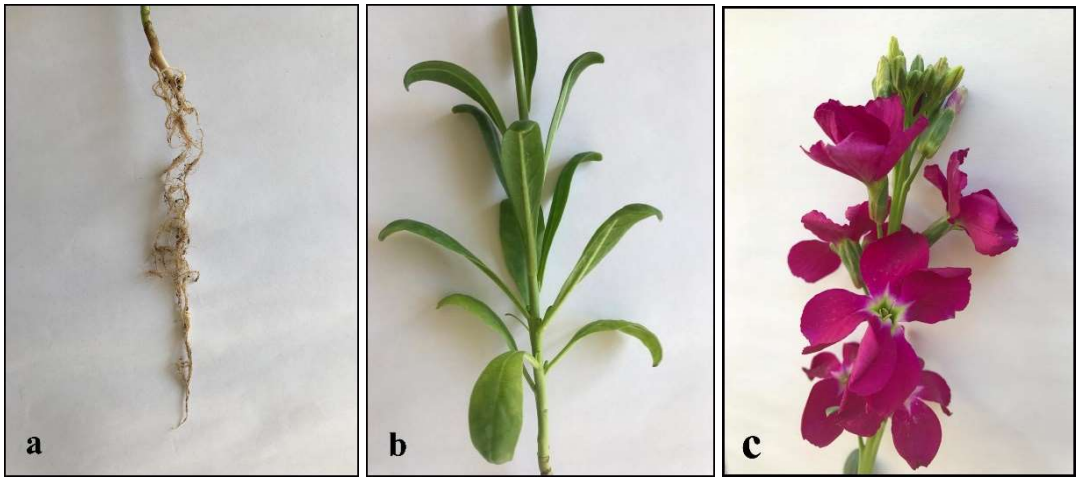
Şekil 2.1. *Matthiola incana* L.

Sinonimler:

Cheiranthus albus Mill., *Cheiranthus annuus* L., *Cheiranthus coccineus* Mill., *Cheiranthus fenestralis* L., *Cheiranthus graecus* Pers., *Cheiranthus hortensis* Lam., *Cheiranthus incanus* L., *Cheiranthus viridis* Ehrh., *Hesperis fenestralis* (L.) Lam., *Hesperis incana* (L.) Kuntze, *Mathiolaria annua* (L.) Chevall., *Matthiola annua* (L.) Sweet, *Matthiola fenestralis* (L.) R. Br., *Matthiola glabra* DC., *Matthiola incana* subsp. *incana, Matthiolaria incana* (L.) Chevall. (http://www.plantsoftheworldonline.org/ taxon/urn:lsid:ipni.org:names:286910-1#source-KBD - accessed 24th November)

2.4. *Matthiola incana* L.'nın Morfolojik Özellikleri

Matthiola incana, çeşitli renklerde çiçeklere sahip, hoş kokulu çok yıllık bir bitkidir. Sera Şebboyu olarak da bilinen *M. incana*'nın çiçekleri 1-3 metre yüksekliğine ulaşabilir. *M. incana* saçak kök yapısına sahiptir (Şekil 2.2a). Şeritsi, mızrak görünümlü, grimsi yeşil renkte parlak yaprakları vardır. Yaprak orta damarları oldukça belirgindir, yaprak uçları aşağı doğru kıvrıktır (Şekil 2.2b). Çiçekleri beyaz, krem, sarı, pembe, kırmızı, mor ve mavi gibi birçok renkte olabilir. Çiçek 10-20 mm'lik bir sap ile desteklenir. Sapın ucunda salkımlar halinde açan yalınkat ya da katmerli çiçekler bulunur (Şekil 2.2c). Petaller, antesiste 10-12 mm, meyvelenmede ise 12-17 mm'dir. Yeşil veya biraz morumsu olan sepaller torba şeklindedir ve 11-14 mm çapındadır. Petaller 25-30 mm çapında olabilir. Tohumlar beyazımsı bir kanat ile kaplı ve 2-3 mm'dir (Eid, Awad, Hamouda, 2009; Hickman, 1993; Yücel, 2002).



Şekil 2.2. *M. incana*'nın kısımları. a, kök; b, gövde; c, çiçek

Matthiola incana yetiştirilmesi kolay bir bitkidir ve aynı zamanda doğada yaygın olarak bulunur. Dikimden sonra genç bitkinin büyümesini teşvik etmek için 2-3 hafta sıcaklığı 10-12°C'de tutmak önemlidir. Bitkiler büyüdükten sonra sıcaklık 10°C'ye ve güneşli havalarda 16-18°C'ye kadar çıkabilir. Düşük sıcaklıklara karşı dayanıklıdır ancak büyümesi yavaşlar ve mantar enfeksiyonuna duyarlı hale gelir. *Matthiola incana* kalkerli, taşlı, geçirgen ve gübreli topraklarda yetişir. Nemli toprakları sever ancak çok uzun süre ıslak kalması çürümesine neden olur. (https://www.evanthia.nl/en/products/snijbloemen/matthiola-incana-stock)

2.5. *Matthiola incana* L.'nın Karyolojik Özellikleri

Irani vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada kök ucu hücre boyama yöntemi kullanılarak çeşitli bölgelerde farklı oranlarda katmerli (double flower) olarak yetişen 20 *M. incana* kültivarı incelenmiştir. Mitotik metafaz hücrelerinde somatik kromozom sayısı (2n =14) ve kantitatif karyotipik parametreler değerlendirilmiştir. Yüksek oranda katmerli çiçeğe sahip iki kültivarda diakinez aşamasında polen ana hücrelerinde univalent çubuk veya trivalent zincir şeklinde ekstra bir kromozom yani anöploidi görülmüştür. Satellitler dört çeşitte (çoğunlukla kısa kollarda) ve farklı uzunluklarda (0,62-0,83 μm) bulunmuştur. İki kromozomal tip (metasentrik, submetasentrik) ile altı farklı karyotip formülü oluşturulmuştur. Karyotip asimetrisinin derecesi nitel ve nicel yöntemler kullanılarak incelenmiş ve *M. incana* çeşitlerin çoğu 1B Stebbins karyotip asimetrisi sınıflarına yerleştirilmiştir.

2.6. *Matthiola incana* L.'nın Yöresel Olarak Kullanılan İsimleri

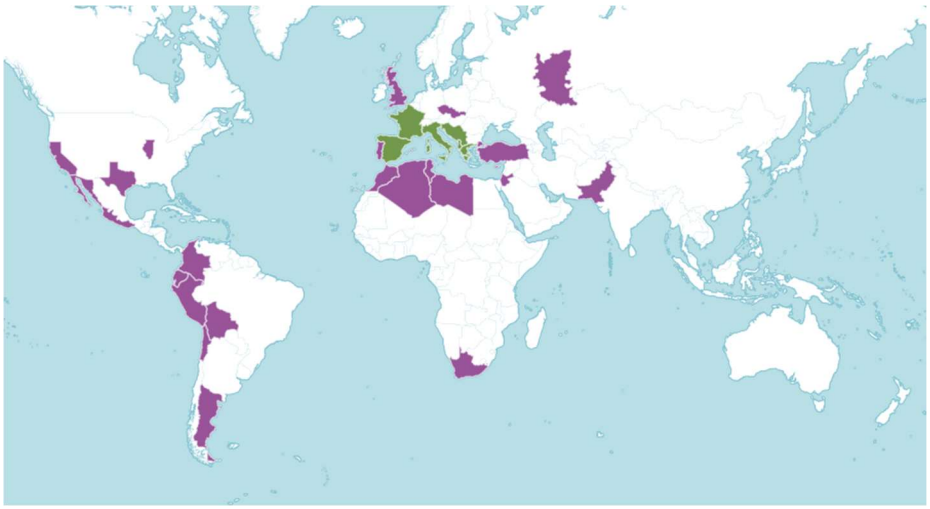
Matthiola cinsi ismini İtalyan doktor ve doğa bilimci Pietro Andrea Mattioli'den almıştır. Uluslararası Bitki Adları Dizini (IPNI)'ne göre *M. incana* birçok ülkede "stock" olarak isimlendirilir. Türkiye'de yaygın olarak şebboy olarak adlandırılır. Kokusu ile meşhur olan bu çiçek ülkemizdeki adını Farsçadaki şebbuy yani gece kokusu kelimesinden almıştır. *Matthiola incana* türü genellikle seralarda yetiştirildiğinden ve bahçe düzenlemedeki yeri önemli olduğundan dolayı "sera şebboyu" veya "bahçe şebboyu" olarak da bilinir. Araştırma materyalimiz olan *Matthiola incana*, "yalancı şebboy" ismi ile de bilinir. *Matthiola incana* için

İngiltere'de "hoary stock" veya "gilliflower", ABD'de ise "ten-week stock" isimleri de kullanılır.

2.7. *Matthiola incana* L.'nın Dünya Üzerindeki Yayılışı

Şebboy (*Matthiola incana*), en popüler yıllık çiçekli bitkilerden biridir. *Matthiola* cinsi dünyada doğal olarak büyük bir çoğunluğu Doğu Akdeniz'de olmak üzere Batı Avrupa'dan Balkanlar'a kadar yayılış gösterir (Şekil 2.3). Doğu Avrupa, Karadeniz, Makaronezya, Güney Afrika, Kuzey Afrika, Kuzey ve Güney Amerika gibi bazı bölgelerde de yetiştirilmektedir (Eid vd., 2009; Güner, 2012).

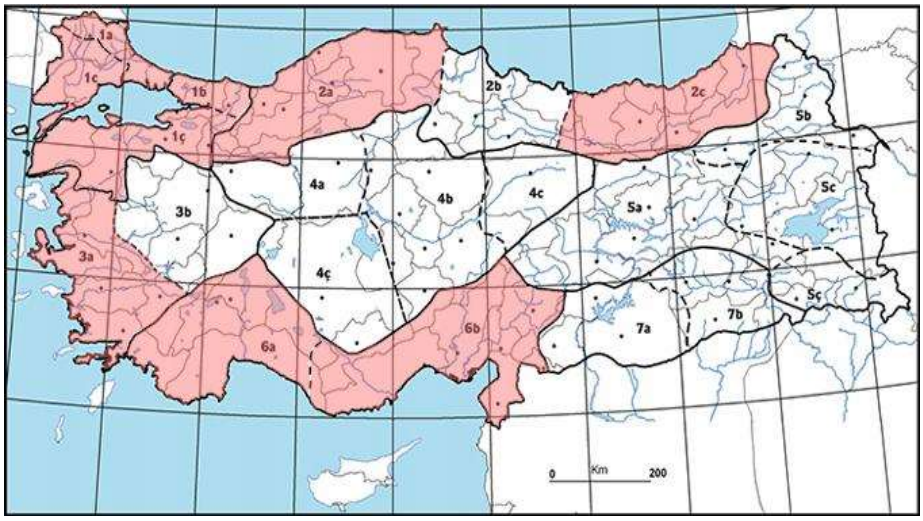
Matthiola incana dünyada doğal olarak Arnavutluk, Korsika, Fransa, Yunanistan, İtalya, Sardinya, Sicilya, İspanya ve Yugoslavya'da bulunur. Cezayir, Güney Arjantin, Azor Adaları, Balear adaları, Bermuda, Bolivya, Kaliforniya, Kanarya Adaları, Güney Afrika'nın Cape Eyaletleri, Caroline Adası, Kuzey Şili, Kolombiya, Kıbrıs, Çekoslovakya, Doğu Ege Adası, Rusya'nın Doğu Avrupası, Ekvador, Büyük Britanya, Illinois, Juan Fernández Adası, Libya, Meksika, Fas, Norfolk Adası, Pakistan, Filistin, Peru, Portekiz, Teksas, Tunus ve Türkiye'de yetiştirilmektedir (IPNI-Uluslararası Bitki İsimleri Dizini, 2020).



Şekil 2.3. *M. incana*'nın dünya üzerindeki yayılışı (IPNI-Uluslararası Bitki İsimleri Dizini, 2020)

2.8. *Matthiola incana* L.'nın Türkiye'deki Yayılışı

Türkiye'de *Matthiola* cinsinin birçok farklı türü bulunur hatta bunlardan bazıları endemiktir. Bu tür birçok bölgemizde bulunur ve ülkemizde yetiştirilen bir kültür bitkisidir. *Matthiola incana* ülkemizde Istranca, Çatalca-Kocaeli, Ergene, Güney Marmara, Batı Karadeniz, Doğu Karadeniz ve Kıyı Ege bölümleri ile Antalya ve Adana illerinde yayılış göstermektedir (Bizim Bitkiler, 2020).



Şekil 2.4. *M. incana* L.'un Türkiye üzerindeki yayılışı (Bizim Bitkiler, 2020)

2.9. *Matthiola incana* L.'nın Biyokimyasal ve Farmakolojik Özellikleri

Matthiola incana tohumu, omega-3 bakımından zengin yağ ve linolenik asit içerir. *Matthiola* spp. kolza ve hardal gibi tohum yağı elde edilen birkaç önemli tür içeren bir familya olan *Brassicaceae*'nin bir üyesidir (Ecker, Yaniv, Zur & Shafferman, 1992). *Matthiola* türlerinin tohumları genel olarak, toplam yağ asidinin %50 ile %65'i arasında değişen yüksek miktarda linolenik asit ile ayırt edilir. Tohum yağlarında bu kadar yüksek linolenik asit seviyeleri nadirdir ve keten yağı gibi sadece birkaç durumda bulunabilir. *Matthiola incana*, bu cinsteki en önemli kültür türüdür (Kumar & Tsunoda'dan aktaran Ecker vd., 1992). Bitkisel yağlardan elde edilen omega-3 yağ asitleri, herhangi bir kolesterol alımı olmadan sağlık yararları sağlayabilir. *Matthiola incana* yağının kolesterol seviyesini düşüren ve plazmadaki

yağ asidi seviyelerini artıran yararlı bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Hunter'dan aktaran Eid vd., 2009).

Matthiola incana antosiyanin biyosentezini biyokimyasal ve genetik olarak incelemek için bir model sistem olarak kullanılmıştır. Forkmann'ın 1977 yılındaki çalışmasında kalkonlar, flavanonlar ve dihidroflavonoller, *M. incana*'nın asiyanik (siyanojen içermeyen) çizgilerinde antosiyaninin olası öncüleri olarak test edilmiştir. Hemleben vd.'nin 2004 yılındaki çalışmasında ise CHS (kalkon sentaz), flavanoid /antosiyanin biyosentez yolunun anahtar enzimi olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada e, f, g genleri bakımından homozigot olan neredeyse izojenik kırmızı çiçekli 16 hat ve her biri sırasıyla e, f ve g genlerinden etkilenen beyaz çiçekli 3 mutant hat kullanılmıştır. Genetik ve biyokimyasal çalışmalar 18. mutant hatta CHS enzim aktivitesinde bir aksaklık olduğunu göstermiştir. Daha sonra, CHS enzim aktivitesini engelleyen mutasyon karakterize edilmiş ve yeri belirlenmiştir (Forkmann,1977; Hemleben vd., 2004).

Matthiola incana'nın tanımlanmış genotiplerinden çiçekler kullanılarak hidroksilasyon reaksiyonları hakkında araştırma yapılmıştır. Araştırma sonuçları, flavonoidlerin B halkasının 3'-pozisyonunda hidroksillenmesinden b lokusunun sorumlu olduğunu göstermiştir. Ayrıca 3'-hidroksil grubunun girişinin muhtemelen dihidroflavanol aşamasında gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Bir *M. incana* genotipinde NADPH'ye bağlı bir mikrozomal 3'-hidroksilaz aktivitesi, sadece yaban tip alel b^+ bulunan çiçeklerde tespit edilmiştir. Ayrıca, 3-konumunda naringenin hidroksilasyonunu katalize eden çözünür bir enzim tarif edilmektedir. 2-Oksoglutarat, Fe^{2+} ve askorbat, reaksiyonlarda kofaktör olarak kullanılmaktadır (Forkmann, Heller & Grisebach, 1980).

Matthiola incana'nın asiyanik çiçekleri kullanılarak antosiyanin biyosentezinde lökosanosiyanidinlerin (flavan-3,4-dioller) ara madde rolü araştırılmıştır. Lökosiyanidinlerle başka deneyler de gerçekleştirilmiştir. Lökoplargonidin ve lökosiyanidin, sırasıyla dihidrokaempferol (aromadendrin) ve dihidrokuersetin'den (taksifolin) sodyumborohidrid indirgemesi ile sentezlenmiştir. Genetik olarak analiz edilmiş farklı bitki hatları kullanılmıştır. Bu çalışma ile, lökoantosiyanidinlerin antosiyanin biyosentezinde ara ürünler olarak rol oynadığı gösterilmiştir (Heller vd., 1985a).

2.10. *Matthiola incana* L.'da *In Vitro* Çalışmalar

Siyanobakteriler, çok çeşitli maddeler üreten en baskın fotosentetik prokaryotik mikroorganizmalardır. Siyanobakterilerin bitki hormonları ürettiğine veya bitki hormonu benzeri aktivite gösterdiğine dair kanıtlar vardır. Birbirini izleyen yıllarda *M. incana* bitkilerine biyofertilizasyon ve siyanobakteri uygulaması yapılmış, kök, gövde ve yapraklarının en yüksek taze ve kuru ağırlıkları kontrol bitkisiyle veya incelenen diğer uygulamalarla kıyaslandığında daha iyi sonuç göstermiştir. Yapraklar ve çiçek salkımlarındaki N ve P artışları, çiçekler hasat edildikten sonra solmalarını geciktirmek için protein sentezine yol açan yüksek bir protein metabolizmasından kaynaklanmaktadır. *Matthiola incana* yapraklarının ve çiçek salkımlarının en yüksek N, P, K içeriği bir N-biyofertilizasyon ve siyanobakteriyel süzüntü karışımı eklenerek kaydedilmiştir. Özellikle kimyasal veya biyogübreler ile siyanobakteriyel filtrat, bitki ve çiçeklerin büyümesinde yararlı görülmekte ve kullanılması tavsiye edilmektedir (Shanan & Higazy, 2009).

Matthiola incana önemli bir süs bitkisidir. Mikropropagasyon birçok türün, özellikle süs bitkilerinin klonal yayılması için son derece yararlı bir tekniktir. *Matthiola incana,* kinetin (KIN) ve naftalen asetik asit'in (NAA) uygun konsantrasyonları ile zenginleştirilmiş Murashige and Skoog (MS) ortamında köklenmekte ve yetiştirilebilmektedir. *In vitro* MS ortamında çimlendirilmiş fidelerden alınan sürgün uçları, KIN (0, 0.5, 1 ve 2 mg/L) ve NAA (0, 0.5, 1 ve 2 mg/L) ile takviye edilmiş katı MS ortamında yetiştirilmiştir. Mikro-kesimlerden elde edilen dört haftalık *in vitro* bitkiler, başarılı filizlenme ve köklenme göstermiştir. NAA içermeyen yalnızca 2 mg/L KIN ile takviye edilmiş MS ortamında, en iyi sürgün uzunluğu ve en fazla yumru elde edilmiştir. Sürgün uçları, KIN içermeyen 2mg/L NAA içeren ortamda ve 1 mg/L NAA+ 2 mg/L KIN kombinasyonunu içeren ortamda aşılandığında, en iyi kök uzunluğu gözlemlenmiştir. KIN, *M. incana*'da sürgün indüksiyonunda önemli bir role sahiptir ve KIN ve NAA içeren besiyerinde *M. incana* için en yüksek kök indüksiyonu elde edilmiştir (Kaviani, Hesar & Kharabian-Masouleh, 2011; Kaviani, 2014).

Gautam vd.'nin 1983 yılında ve Hasoki ve Ando'nun 1989'da yaptıkları çalışmalarda *M. incana*'da çoklu sürgün tomurcuklarının, BAP (6-BenzilAmino Purin) ve NAA içeren ortamda yetişen kotiledon eksplantlarından elde edildiği

görülmektedir. Hamidoghli vd.'nin 2011 çalışmasında ise fidanlar BAP, 2,4D (2,4-Diklorofenoksiasetik asit) ve NAA ile desteklenmiş ortamda protoplast kültüründen yeniden üretilmiştir (aktaran Kaviani vd., 2011).

Poliaminler (PA), çeşitli bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerinde veya çevresel stres tepkilerinde hayati rol oynayan yeni bir bitki biyostimülantı olarak kabul edilmiştir. Poliaminlerin sekonder metabolit içeren bazı bitkilerde tohum çimlenmesi, büyümesi ve çevresel stres toleransı üzerindeki uyarıcı rolleri araştırılmıştır. *Matthiola fruticulosa* L. Maire bitkisine uygun dozda PA uygulanmış, bitki boyu, yaprak ve bitki sayısı, yaprakların taze ve kuru ağırlığı gibi özelliklerde artışa neden olduğu görülmüştür (Youssef'ten aktaran Mustafavi vd., 2018).

BÖLÜM 3

MATERYAL ve METOD

3.1. Deney Materyallerinin Elde Edilmesi

Bu çalışmada materyal olarak, Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü serasında yetiştirilen *Matthiola incana* (L.) R. Br. türüne ait bitkilerin çeşitli boylardaki tomurcukları ve çiçeklerin anterleri ve olgun polenleri kullanıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *M. incana*'nın çeşitli boylardaki çiçek ve tomurcukları

3.2. Işık Mikroskobu ile Sitolojik İncelemeler

3.2.1.Andrekeumun İncelenmesi

Matthiola incana'nın anter sayısı ve özellikleri Olympus binoküler mikroskopta ve Olympus BH-2 ışık mikroskobunda incelenerek Olympus C-5060 dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.2.2. Anter Çeperinin, Mikrosporogenezin Çeşitli Evrelerinin İncelenmesi

2017-2019 yıllarında Mart ayında Carnoy (3:1, etil alkol: asetik asit) fiksatifinde fikse edilen *Matthiola incana'*ya ait çeşitli boylardaki tomurcuk ve çiçekler %70 etil alkolde saklandı. Bazı tomurcuklardan ayrılan anterler boylarına göre ayrıldı. Farklı boylardaki anterlerden parafin yöntemiyle kesit almak için:

1. %70 etil alkolden çıkarılan çiçek tomurcukları ve anterler 24 saat süreyle %100 etil alkolde bekletilerek dehidrasyonu sağlandı.
2. Etil alkol ve ksilol serilerinin her birinde 24 saat tutularak materyalin şeffaflaştırma işlemi tamamlandı.
3. Saf ksilol içine koyulan ve 60°C'lik etüvde 24 saat bekletilen materyaller, ksilol : parafin karışımında 24 saat bekletildikten sonra saf parafine alınarak 24 saat daha etüvde bekletildi.
4. Parafin bloklara gömülen materyaller, kesit almak için kalıplarda bekletildi. Mikrotomda anterler için 6-10µ, tomurcuklar için 6-15µ kalınlığında kesitler alındı.
5. Parafinli kesitler, parafinden kurtarmak için ksilolde 24 saat bekletildi. Ertesi gün ksilol : alkol ve alkol serilerinden geçirilen ve her birinde 10′ bekletilen kesitler, suya getirildi.
6. Kesitler, Delafield's hematoksilen boyasında 45′ bekletildi.
7. dH_2O ile yıkanan kesitler, daimi preperat olarak hazırlamak için alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek entellan ile kapatıldı (Johansen,1940).

Parafin kesitlerden alınan preperatlarda mikrogametogenezin farklı evrelerinde anter çeperinin bazı histolojik özellikleri de incelendi. Ayrıca bu evrelerde anter ve tomurcukların parafin kesitleri PAS (periyodik asit schiff) ve toluidin mavisi ile boyanarak polisakkarit ve RNA içeriği bakımından incelendi (Gabe, 1968; İnce, 1989; Jensen, 1962).

3.2.3.Tapetum Hücrelerindeki Bölünme Tiplerinin İncelenmesi

Genç çiçek tomurcukları, Mart ayında Carnoy fiksatifine alındıktan sonra bu solüsyonun içinde saklandı. Anterler boylarına göre ayrıldı. Preperasyon çalışmaları aseto-orsein ezme yöntemiyle yapıldı. Genellikle geçici preperasyonlar kullanıldı, bazı preperatlar ise buzdolabının dondurucu kısmında saklandı.

1. Anter 1 N HCl içinde 60°C'de 15′ hidroliz edildi.
2. 1 N HCl'den çıkarılan anterler içinde 9 damla %2'lik aseto-orsein ve 1 damla 1 N HCl bulunan saat camı içinde ispirto ocağı alevinde ısıtılıp üzerine Petri kabı kapatılarak 20′ bekletildi.
3. Saat camından alınan anterler aseto-orsein (%1'lik) boyası damlatılan lam üzerine alındı ve bir kez daha ispirto ocağı alevinden geçirilerek ezme işlemi tamamlandı.

3.2.4. Mikrosporogenezin ve Polen Mitozunun incelenmesi

Mikrosporogenezin ve polen mitozunun incelenmesinde, andrekeumun incelenmesinde de olduğu gibi parafine gömme yöntemi kullanıldı. Parafine gömülen çeşitli boylardaki tomurcuk ve anterlerden alınan kesitler Delafield's hematoksilen ile boyandı ve incelendi (Johansen,1940)

3.2.5. Polen Canlılığının İncelenmesi

Polen tanelerinin bazı boyalarla boyanabilme yetenekleri ile canlılıkları arasında ilişki vardır. Gliserinde hazırlanmış aseto-orsein ve lakto-fenolde hazırlanmış anilin mavisi gibi boyalar sadece fertil polenleri boyamaktadır. Gelişmesini tamamlamamış (steril) polenler ise bu boyalar ile boyanmaz, renksiz boş polen çeperleri halinde görülmektedirler (Alexander, 1969; Riley, 1948; Ünal, 1983). Fertil polenler verimli, steril olanlar ise verimsizdir. Polen tanelerinin bazı boyalarla boyanması ile canlılıkları arasındaki ilişkiden yola çıkarak, inceleme materyali olarak *Matthiola incana*'nın çiçeklenme zamanında alınan polenler kullanıldı.

Aseto-orsein ezme yöntemi ile polenlerin sayıları ve şekilleri incelendi. Polen canlılığı için ise 1 N HCl içinde 15′ etüvde bekletilen polenler laktofenol-anilin mavisi ve asetocarmin ile boyandı. Boyanan polen taneleri Olympus BH-2 ışık mikroskobunda incelendi ve Olympus C-5060 dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.3. Preperayonunda Kullanılan Bazı Boya ve Çözeltilerin Hazırlanışı

%2'lik Aseto-Orseinin Hazırlanışı

45 ml'lik asetik asit içine 2 g orsein ilave edilerek eritildi, cam balonda kaynatıldı ve soğumaya bırakıldı. Eriyik soğuyunca 55 ml saf su eklenerek süzüldü (Ozban & Özmutlu,1991).

Lakto-Fenol Anilin Mavisinin Hazırlanışı

100 ml Laktik asit

100 g Fenol kristali

100 ml Gliserin

100 ml dH_2O

Fenol kristali dH_2O'da eritildi, laktit asit ve gliserin ilave edilerek lakto-fenol hazırlandı. Lakto-fenol ve suda hazırlanmış % 0.1'lik Anilin mavisi eşit miktarlarda karıştırıldı. (Mclean & Cook, 1941).

Delafield's Hematoksilen Hazırlanışı

6 ml absolü alkolde çözündürülmüş 1 g hematoksilen, 100 ml doymuş alüminyum amonyum sülfat [$AlNH_4(SO_4)_2$] çözeltisine damla damla ilave edildi. Bir hafta hava ve ışığa maruz bırakıldı. 25 ml gliserin ve 24 ml metil alkol ilave edilerek süzüldü (Mclean & Cook,1941)

%1'lik Toluidin Mavisinin Hazırlanışı

1 g Na tetraborat (Borax)

1 g Toluidin mavisi

100 ml dH_2O

dH_2O içine borax katılarak iyice karıştırıldı, çözündükten sonra toluidin mavisi eklendi ve karıştırıldı. Solüsyon, filtre kağıdı ile süzüldükten sonra kullanıldı (İnce,1989).

%1'lik Asetocarmin Hazırlanışı

Carmine (karmin), *Coccus cacti* böceklerinden hazırlanan bazik bir boyadır. 55 ml distilu su, 45 ml asetik asit ve 0,5 g karmin karıştırıldı. 5 dakika kaynatıldı, daha sonra soğutuldu. Koyu renk şişelere süzülerek 4°C'de buzdolabında saklandı (Jensen,1962).

Asetokarmin Boyama

Bitki kromozomlarını boyamak için % 45 asetik asit içinde % 1'lik bir karmin çözeltisi kullanıldı. Yeni fikse edilmiş *Matthiola incana* tomurcukları ve anterleri en az 30 dakika boyunca % 1 asetokarminde bekletildi ve ezme preperasyon yöntemi kullanılarak preperat hazırlandı. Tomurcuklar daha uzun bir süre fikse edildiğinde, daha iyi bir kontrast elde etmek için materyal boya içinde uzun süre bekletildi.

PAS Hazırlanışı

Schiff Reaktifinin Hazırlanışı

100 ml dH_2O kaynatılır. Hemen ateşten çekilip, 1 g bazik fuksin kaynatılmış dH_2O'da eritilir. Solüsyonun 60°C'ye kadar soğuması beklenir. Soğuyan karışım süzülür, içerisine 2 g potasyum metabisülfit ile 20 ml 1N HCl ilave edilir.

Buzdolabında, 18-24 saat ağzı kapalı olarak bekletilir. Sonra, bu solüsyona 300 mg aktif kömür ilave edilip, kuvvetlice karıştırılır. Huni ve süzgeç yardımıyla, dikkatlice süzülür.

1 N HCl'in Hazırlanışı

HCl (%37'lik konstantre)	83.3 ml
dH_2O	916.7 ml

Periyodik Asit Solüsyonunun Hazırlanışı

Periyodik asit	1g
dH_2O	100 ml

Yıkama Solüsyonu

%10'luk potasyum metabisülfit ($K_2S_2O_5$)	10ml
1/10 N HCl	10 ml
Çeşme suyu	180 ml

Hepsi karıştırılır ve 3 ayrı şaleye bölünür. Her boyada taze olarak hazırlanmalıdır.

Boyamanın Yapılışı:

1. Parafinleri giderilerek suya indirilen kesitler, periyodik asitte 5′ bırakılır.
2. Akan çeşme suyu altında 3 kere çalkalanıp, 10′ suyun altında bırakılır. dH_2O'ya alınıp, 3 kere çalkalanır.
3. Alüminyum folyo ya da karbon kağıdı ile kaplanmış şale içindeki Schiff solüsyonunda, karanlık yerde (dolabın içinde) 15′ bırakılır.
4. Yıkama solüsyonu I'de 5′
5. Yıkama solüsyonu II'de 5′

6. Yıkama solüsyonu III'de 5′
7. Akan suda 5′
8. Hematoksilende 7′ tutulur.
9. Kesitler 10′ akan su altında morartılır.
10. Alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek, entellan ile kapatılır (Gabe, 1968; Jensen 1962).

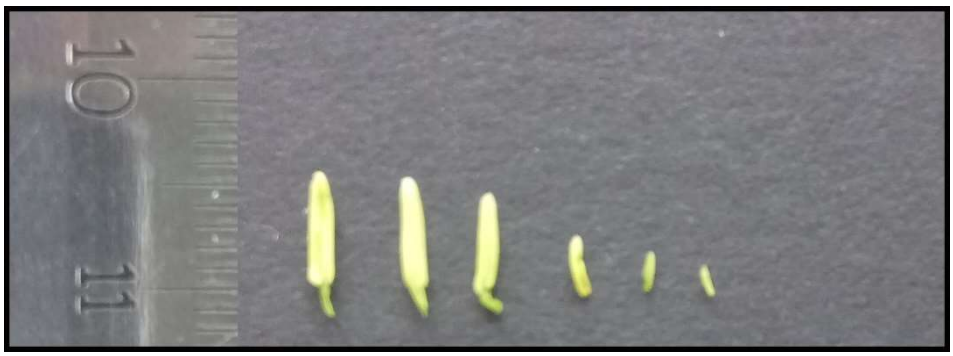
BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. *Matthiola incana* L.'nın Erkek Gametofitinin Embriyolojik Özellikleri

4.1.1. Andrekeum

Andrekeum 4-6 stamenden oluşmaktadır. Anterler beyazımsı sarı renkli, bazifiks, filamentler yeşil renge sahiptir. Olgun anter boyu genellikle 4-5 mm'dir ancak nadiren 6 mm'ye de rastlanmıştır. Filamentler belirgin şekilde anterden daha kısadır (Şekil 4.1.)

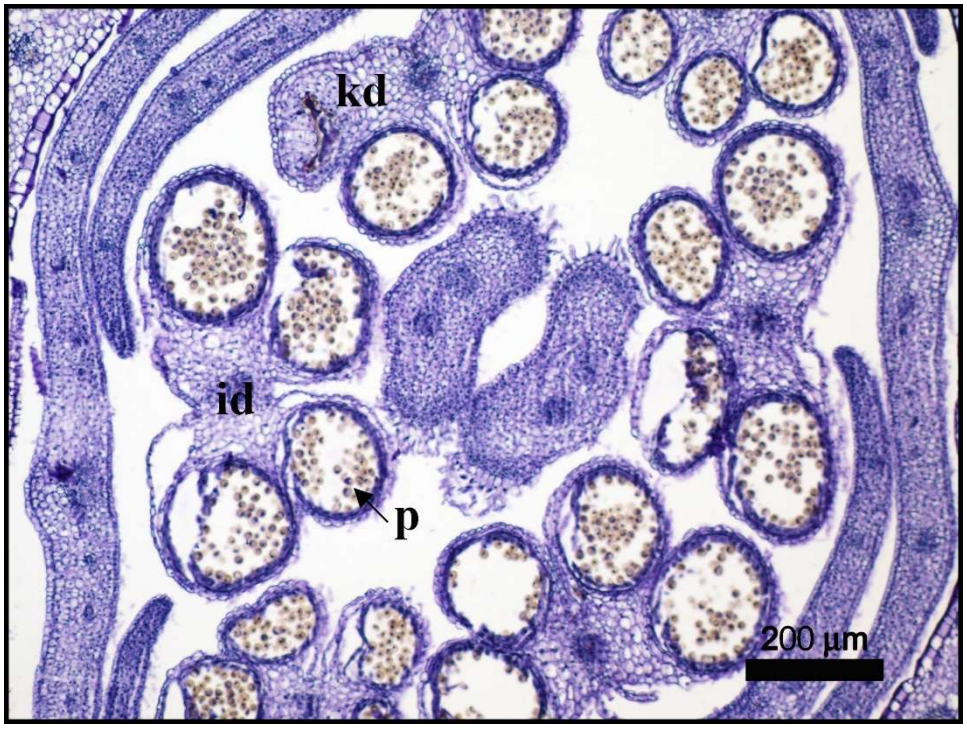


Şekil 4.1. *M. incana*'da anterlerin gelişimleri sırasındaki uzunlukları

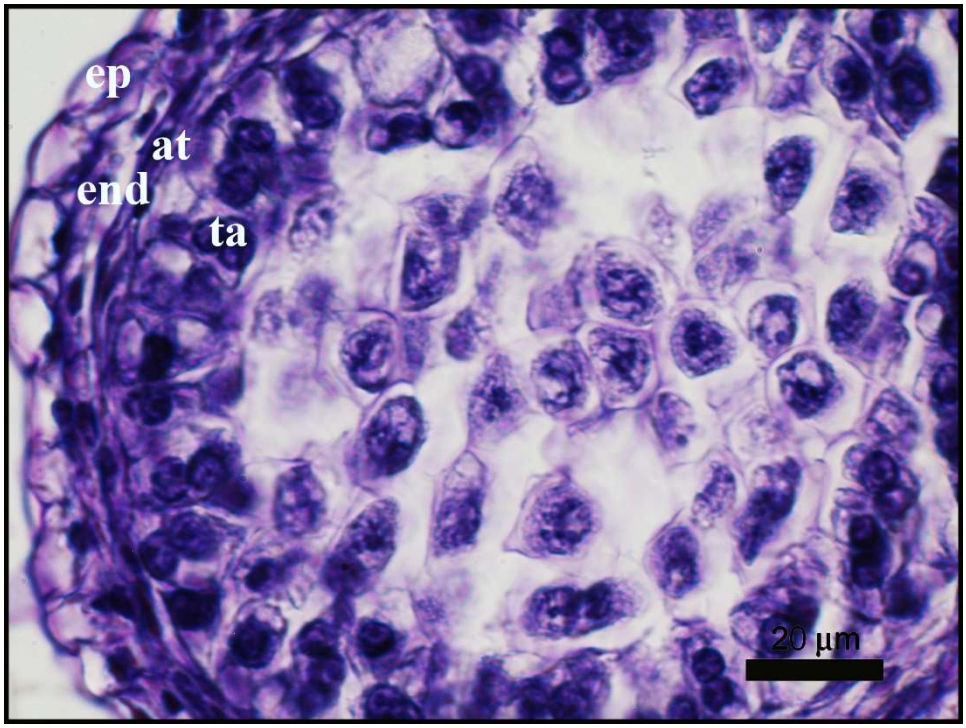
4.1.1.1. Anter Çeperi

Matthiola incana'da anterler tetrasporangianttır (Şekil 4.2). Mikrospor ana hücrelerindeki (MAH) mikrosporogenezin erken evrelerinde, anter çeperi 3-4 hücre sırasından oluşmaktadır. Anter gelişimlerinin bu evrelerinde epidermis hücreleri diğer hücrelerden daha büyüktür. Endotesyum çeper kalınlaşmaları oluşmaya başlamamıştır. Ara tabaka yassılaşmış hücrelerden oluşmaktır. Tapetum hücreleri genellikle iki nukleusludur, nadiren tek nukleuslu hücrelere de rastlanmıştır. Tapetum salgı tipindedir (Şekil 4.3). Mikrosporogenezin tetrad evresinde tapetum hücrelerinin dejenere olmaya başladığı görülmüştür (Şekil 4.4).

Mikrogametogenezin erken evrelerinde bazı anterlerde tapetum hücrelerinin dejenere olmadığı görülmüştür (Şekil4.5). Olgun bir anterden enine kesit alındığında dış kısımda bir sıra yassı ve şişkin epidermis hücresi bulunmaktadır. Bu hücreler polen gelişiminin sonuna kadar parçalanmadan kalmaktadırlar. Epidermisin altında 1-2 sıralı endotesyum, genellikle tek sıralı ara tabaka ile parçalanmış tapetum hücrelerinin kalıntıları görülmektedir (Şekil 4.6).



Şekil 4.2. *M. incana* tomurcuğunun enine kesitinde tetrasporangiat anterler (id, iletim doku; kd, kollektif doku; p, polen)



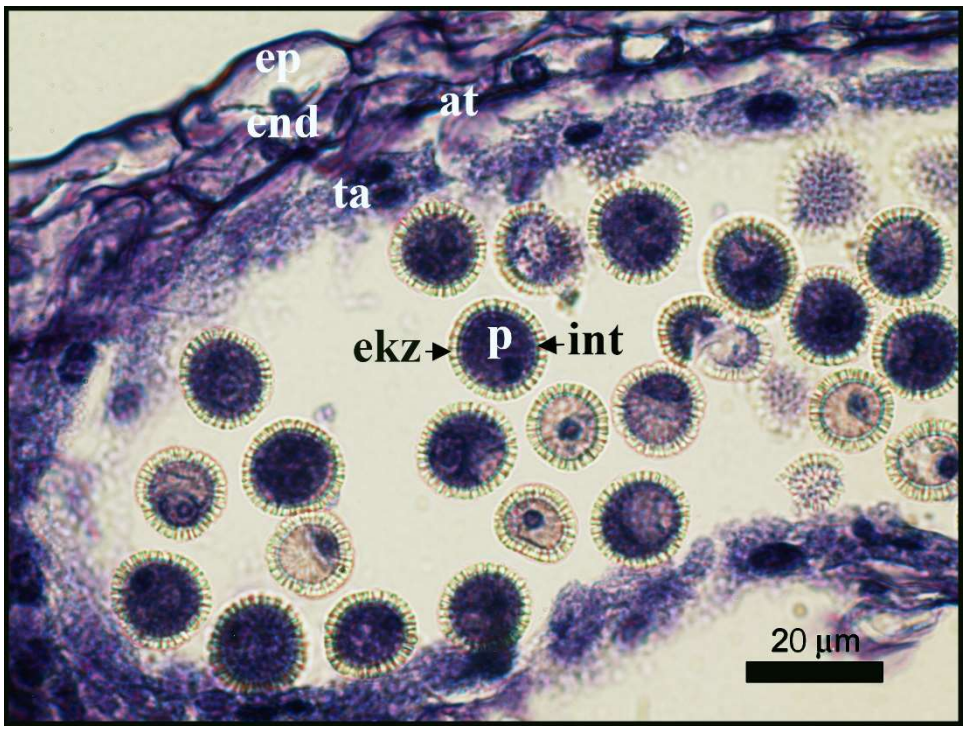
Şekil 4.3. *M. incana*'da mikrosporogenezin erken evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ta, tapetum)



Şekil 4.4. *M. incana*'da mikrosporogenezin geç evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; T, tetrad; ta, tapetum)

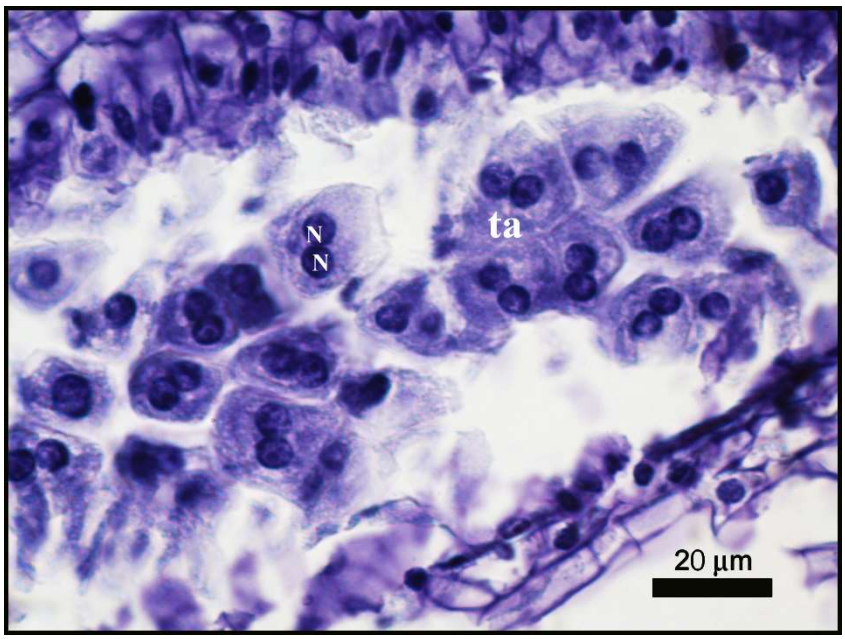


Şekil 4.5. *M. incana*'da mikrogametogenezin erken evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; ep, epidermis; ms, mikrospor; ta, tapetum)

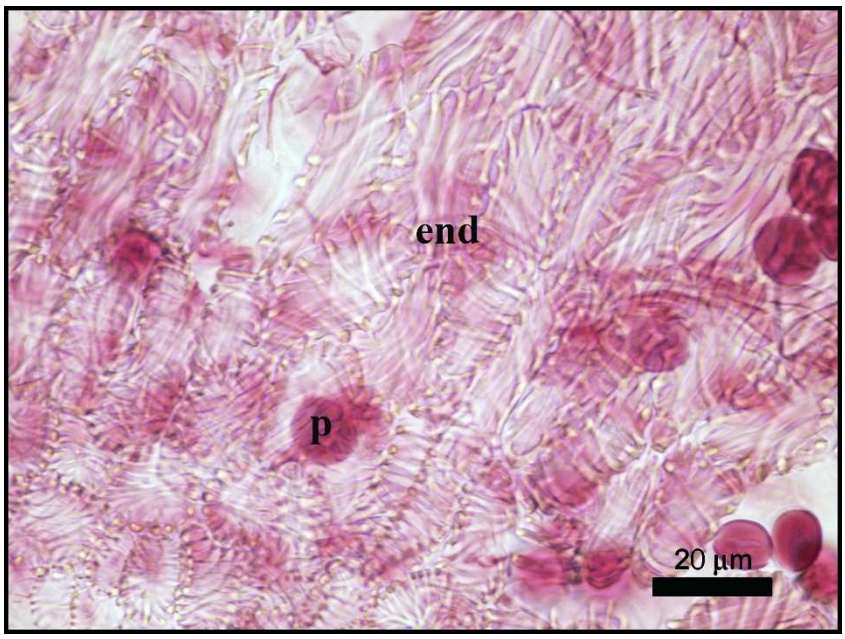


Şekil 4.6. *M. incana*'da mikrogametogenezin geç evresinde anter çeperinin enine kesitinin genel görünüşü (at, ara tabaka; ekz, ekzin; end, endotesyum; ep, epidermis; int, intin; p, polen; ta, tapetum)

Matthiola incana'nın anter çeperinde tapetum hücrelerinin genellikle iki çekirdekli olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7.) Olgun anter çeperinde endotesyum tabakasında fibrilsi kalınlaşmalar görülmüştür (Şekil 4.8.)



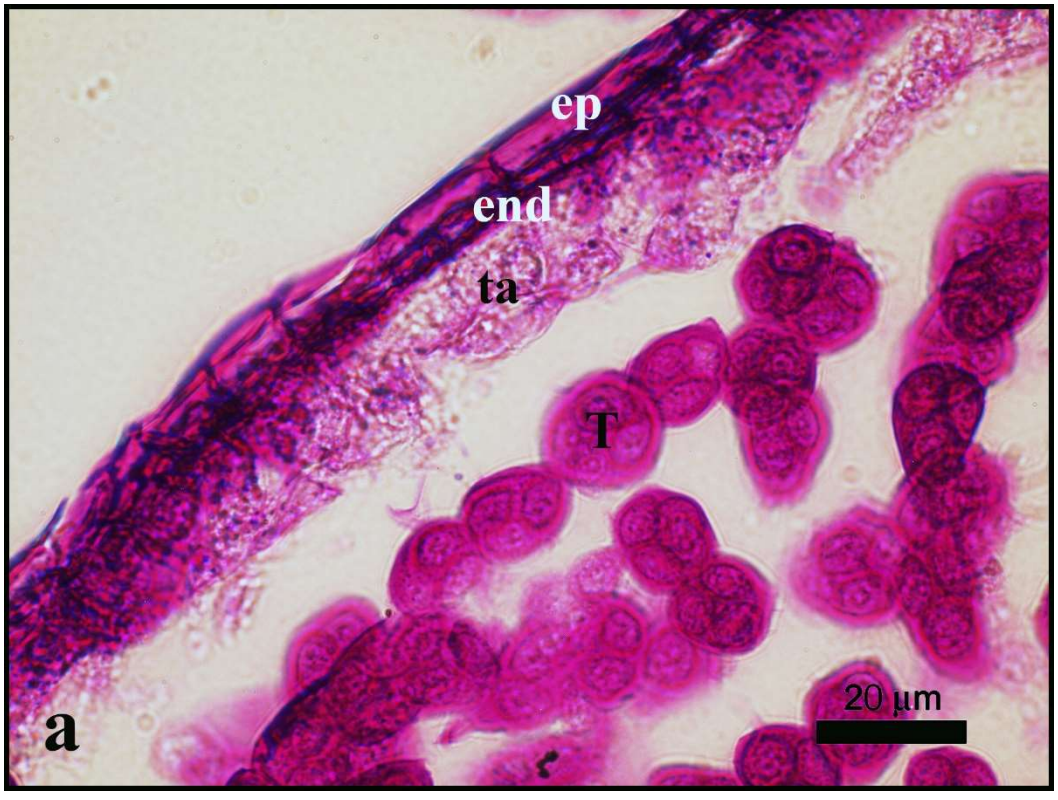
Şekil 4.7. *M. incana*'nın anter çeperindeki tapetum hücreleri (N, nukleus; ta, tapetum)

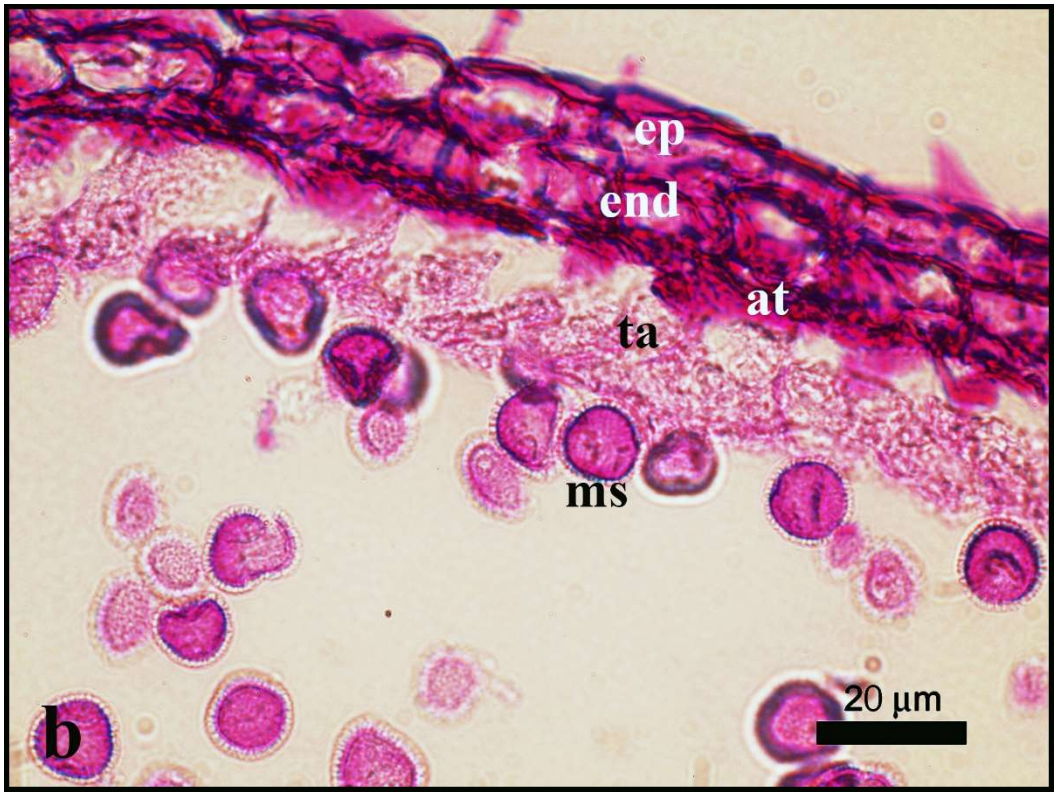


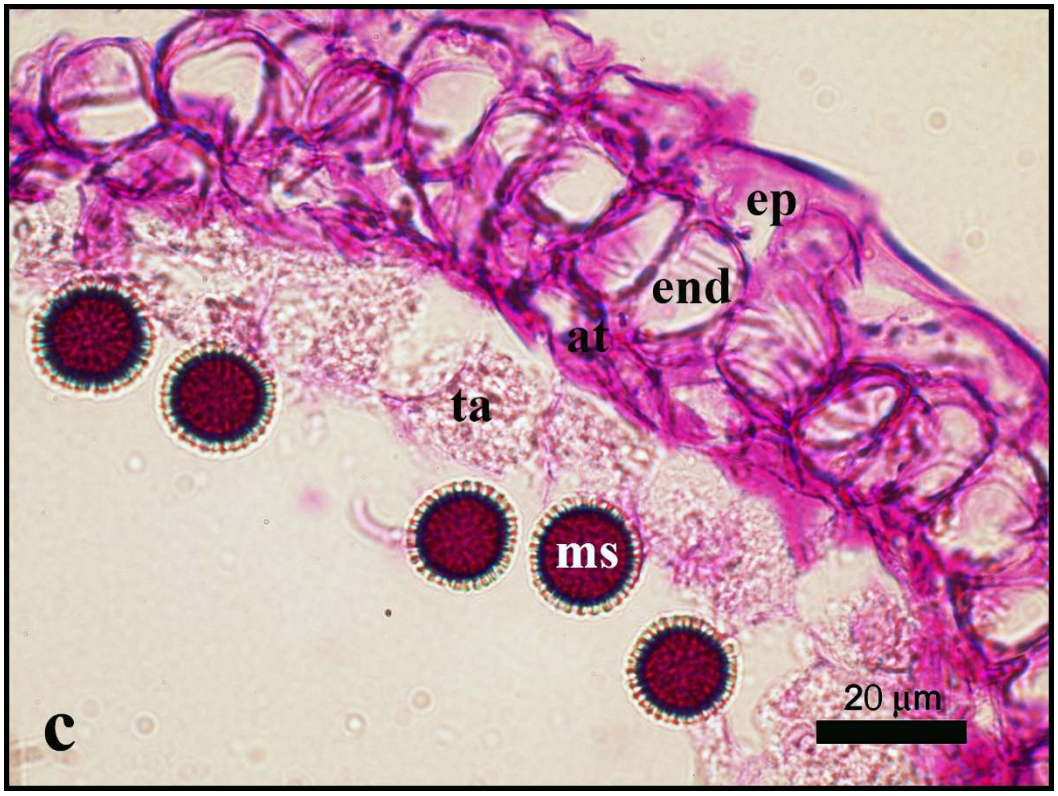
Şekil 4.8. *M. incana*'da olgun anter çeperinde endotesyum kalınlaşmaları (end, endotesyum; p, polen)

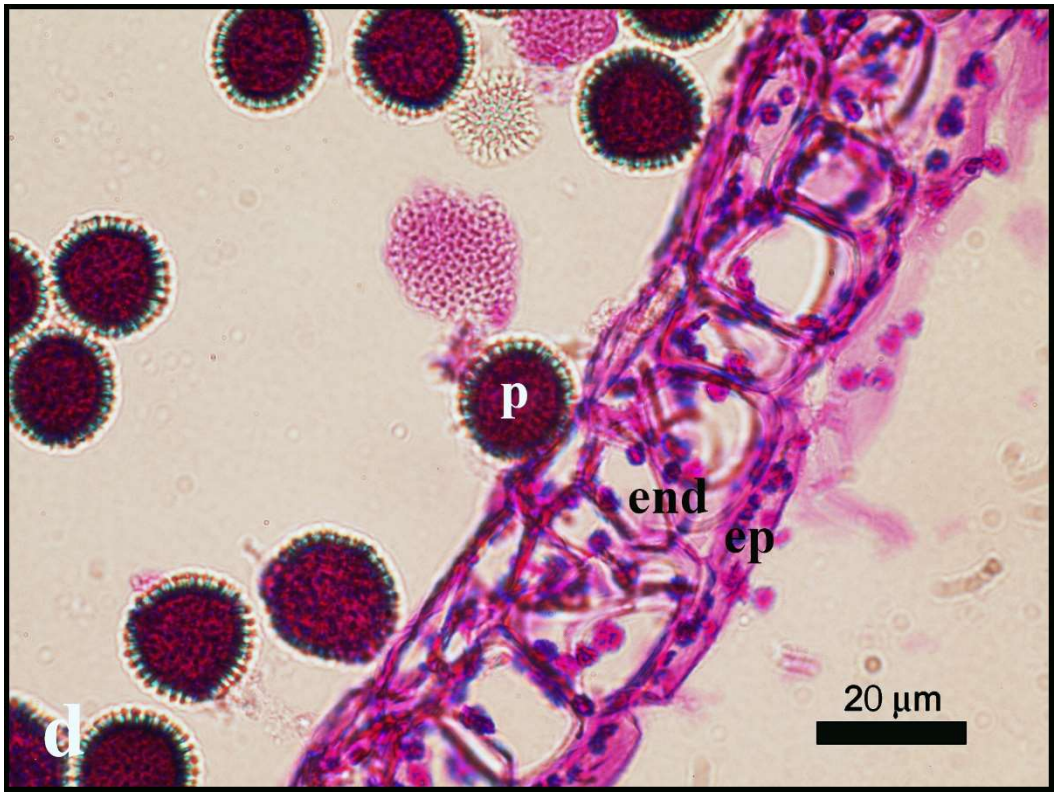
4.1.1.2. Tetrad Evresi ve Mikrogametogenezin Çeşitli Evrelerinde Anter Çeperinin Histokimyasal Özellikleri

Matthiola incana'ya ait farklı boylardaki genellikle olgun anterlerden alınan kesitler, PAS ve toluidin mavisi ile boyanarak gametogenezin çeşitli evrelerinde polisakkarit ve RNA içerikleri bakımından incelendi. Anterdeki polisakkarit içeriğinin genellikle hücre çeperlerinde özellikle tapetum hücrelerinde yoğun olduğu gözlenmiştir. Tetradlar da kalloz çeperden dolayı koyu renkte boyanmıştır (Şekil 4.9a). Buruşuk mikrospor evresinde ise tapetum hücrelerinin dejenerasyon oranı artmıştır, bu yüzden daha açık renk boyanmaktadırlar. Diğer anter çeperi tabakalarının ise polisakkarit içeriğinden dolayı koyu renkte boyandığı gözlenmiştir (Şekil 4.9b). Tek çekirdekli mikrospor evresinde endotesyum tabakası ve epidermiste polisakkarit taneciklerinin birikimi gözlenmiştir. Mikrosporlar koyu renkte boyanmıştır (Şekil 4.9c). Olgun polen evresinde ise tapetum hücrelerinin tamamen dejenere olduğu, genellikle polisakkarit içeriğinin endotesyum tabakasında yoğunlaştığı gözlenmiştir (Şekil 4.9d).



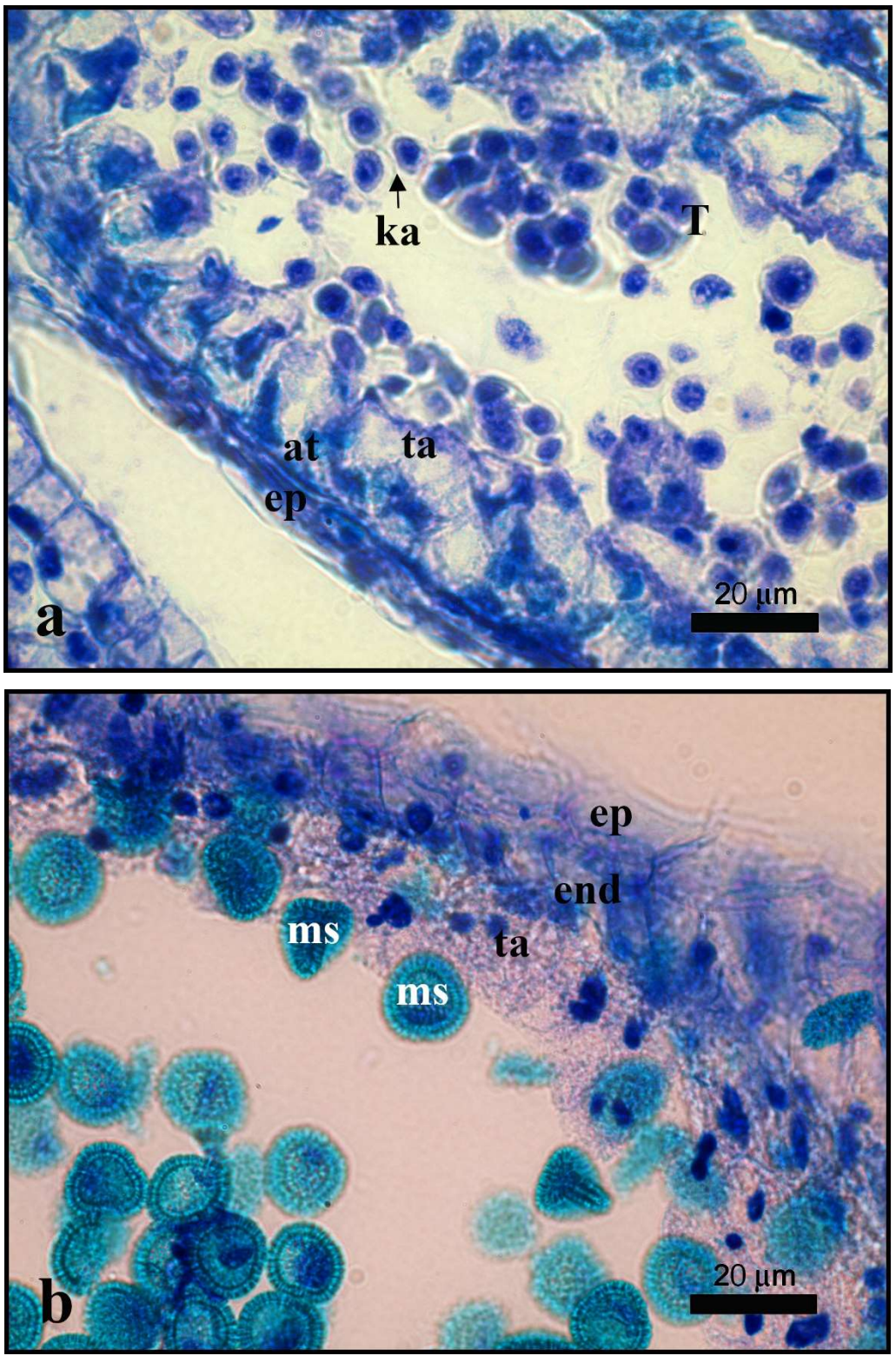

ep
end
at
ta
ms
20 µm
b

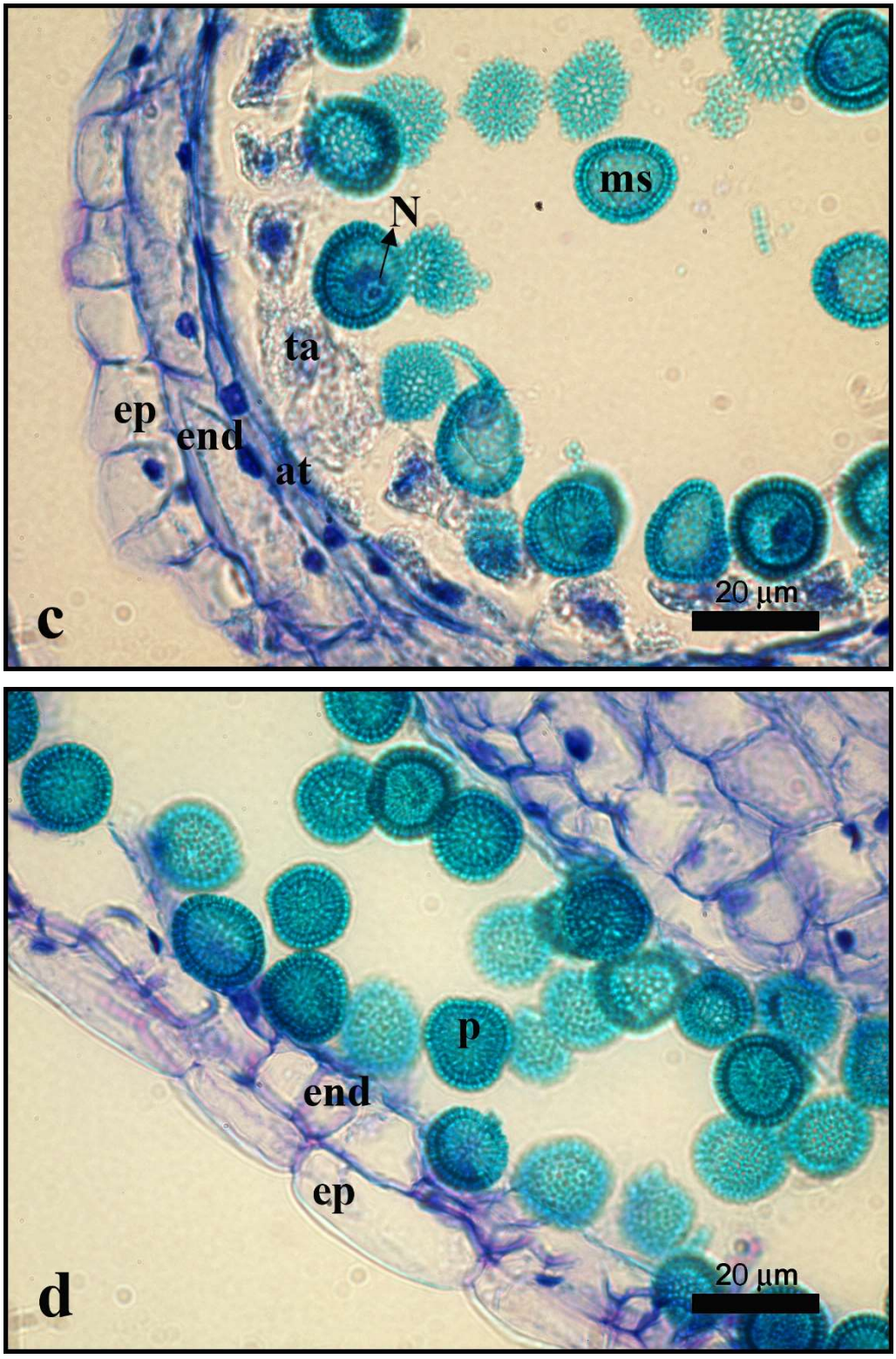

ep
end
at
ta
ms
20 µm
c



Şekil 4.9. PAS ile boyanmış *M. incana*'nın tetrad evresi ve mikrogametogenezin çeşitli evrelerindeki anterlerin enine kesiti. a, tetrad evresi; b, buruşuk mikrospor evresi; c, tek çekirdekli mikrospor evresi; d, olgun polen evresi (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum)

Mikrogametogenezin erken evresinde (geç tetrad) anter çeperinin RNA içeriği bakımından zengin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.10a). Buruşuk mikrospor evresinde tapetum hücrelerinin sitoplazmalarındaki dejenerasyon ilerlediğinden bu hücrelerdeki RNA içeriği azalmıştır. Mikrosporlar ise polen mitozuna hazırlandığı için RNA içeriği bakımından zengindir (4.10b). Tek çekirdekli mikrospor evresinde ise ara tabakanın diğer çeper hücrelerine göre RNA içeriği bakımından daha zengin olduğu görülmüştür (4.10c). Olgun polen evresi, anter çeperinin RNA içeriği bakımından en fakir olduğu evredir (4.10d).


ka
T
at
ta
ep
20 µm
a
ep
end
ms
ta
ms
20 µm
b



Şekil 4.10. Toluidin mavisi ile boyanmış *M. incana*'nın geç tetrad evresi ve mikrogametogenezin çeşitli evrelerindeki anterlerin enine kesiti. a, geç tetrad evresi; b, buruşuk mikrospor evresi; c, tek çekirdekli mikrospor evresi; d, olgun polen evresi (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ka, kalloz çeper; N, nukleus; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum)

4.1.1.3. Mikrosporogenez

Matthiola incana'da mikrosporogenez evresi incelendi. *Matthiola incana*'da farklı anter lokuslarında MAH'de mayoz bölünmenin asinkronik olarak geçtiği gözlendi. Bir lokusta Profaz I evresi görülürken diğer lokusta ise telofaz I evresi görülmüştür. (Şekil 4.11). Ayrıca bir anter lokusunda da MAH'lerinde mayoz bölünmenin asinkronik olarak geçtiği gözlenmiştir. Mayoz I'in farklı evreleri tek bir anter lokusunda görülmüştür (Şekil 4.12).

İnterfaz: Bu evrede parafin kesitlerden alınan preperatlarda mikrospor ana hücrelerinin nukleusları hacim olarak birbirine benzemektedir. Kalloz çeper henüz görülmemektedir (Şekil 4.13a, b). Bazı hücrelerde mikronukleuslar gözlenmiştir (Şekil 4.15a, oklar)

Leptoten: Mikrospor ana hücrelerinin nukleuslarındaki kromatin bu evrede daha az yoğundur. MAH'lerin etrafındaki kalloz çeper oluşumu başlamıştır ve gelişmektedir (Şekil 4.13c).

Zigoten: Kromatin materyali bu evrede gevşek bir hal alır ve hücre boyunca yayılmıştır. MAH'leri etrafında kalloz çeper oluşumu tamamlanmıştır. (Şekil 4.13d).

Pakiten: Homolog kromozomlar bir araya gelmiştir (Şekil.4.13e). Daha sonra hücrenin merkezinde yer alan nukleus hücrenin kenarına çekilmiştir. Kromatin materyali hücre zarına bitişik yoğun halde yer alır. Bu evreye buket evresi denir (Şekil 4.13f).

Diploten: Bu evrede bivalent kromozomların boyları kısalmaya başlamıştır (Şekil 4.13g).

Diakinez: Bu evrede parafin kesit alınması sebebiyle farklı hücrelerde farklı bivalent kromozom sayıları gözlenmiştir (Şekil 4.13h).

Metafaz I: İncelenen hücrelerde kromozomların ekvator tablosunda normal dizildikleri gözlenmiştir (Şekil 4.13i)

Anafaz I: Mayoz bölünmenin anafaz I evresinde çoğu hücrede kromozomların kutuplara normal şekilde çekildikleri (Şekil 4.13j), bazı hücrelerde kalgın

kromozomlar (Şekil 4.15b, ince oklar), bazılarında ise kromozom köprüsü oluşumu gibi anormallikler saptanmıştır (Şekil 4.15b, kalın ok).

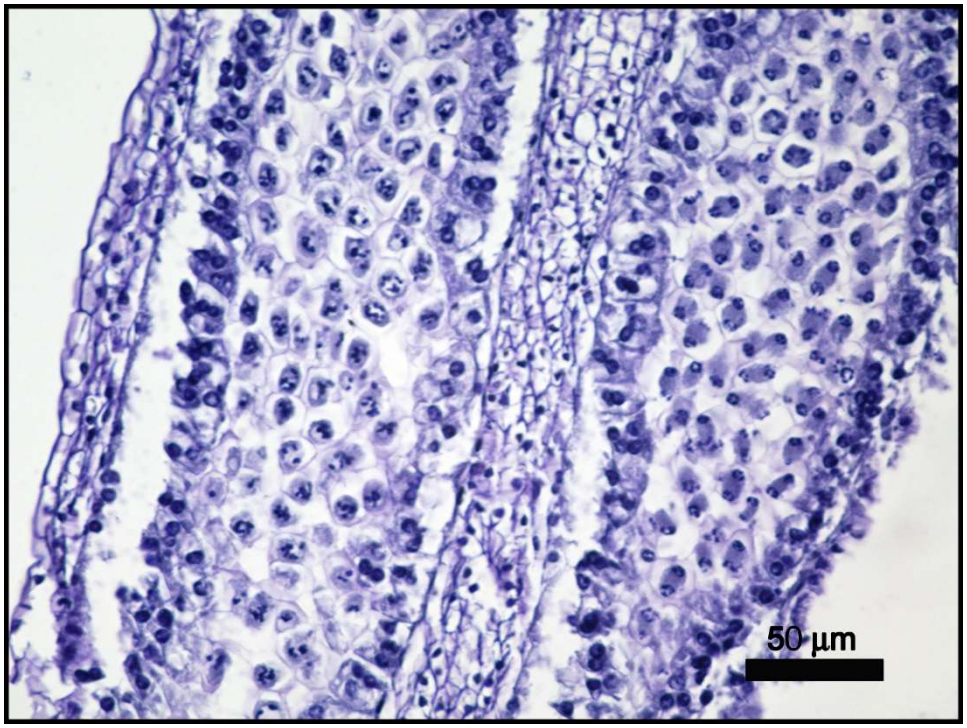
Telofaz I: Bu evrede, normal olarak homolog kromozomların kutuplara çekildiği gözlenmiştir (Şekil 4.13k). Telofaz sonunda iki nukleus arasında orta lamel oluşmadan diad meydana gelmiştir, dolayısıyla simultane tip sitokinez gözlenmiştir (Şekil 4.13.l)

Metafaz II: Genellikle kromozomların ekvator tablasında düzenli olarak dizildikleri gözlenmiştir (Şekil 4.13m, ok başları).

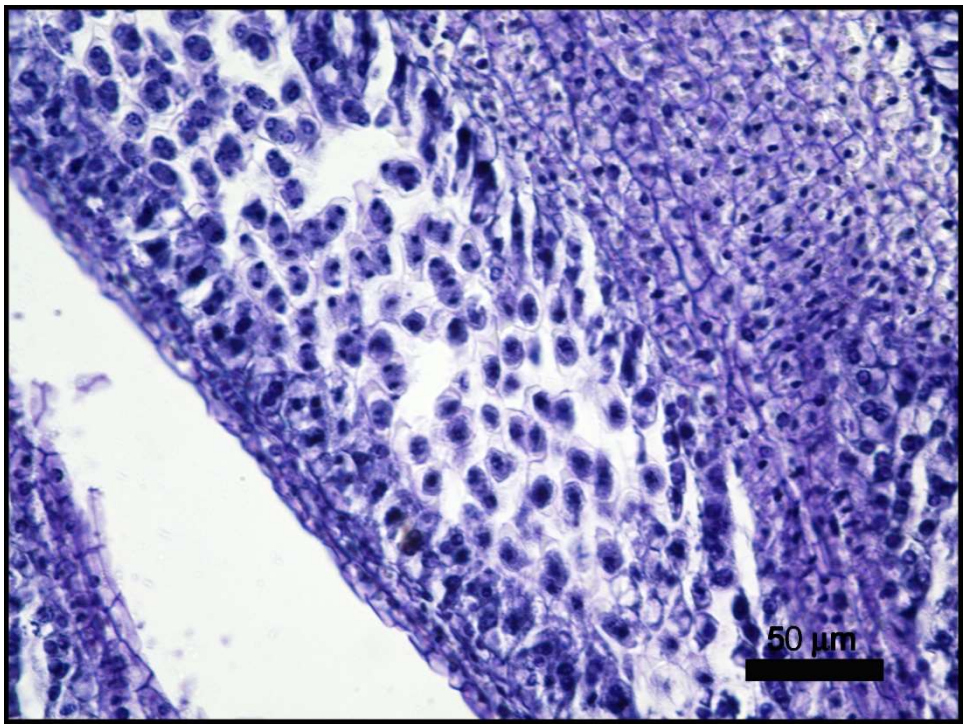
Anafaz II: Genellikle ekvator tablasında dizilen kromozomların kromatidlerinin kutuplara düzenli bir şekilde çekildiği gözlenmiştir (Şekil 4.13n)

Telofaz II: Telofaz II sonunda 3 farklı tip tetradın oluştuğu saptanmıştır. Genellikle romboidal (Şekil 4.14a), tetrahedral ve dekusat (Şekil 4.14b) tipte tetradlara rastlanmıştır. Tetradlarda iyi gelişmiş kalloz çeper gözlenmiştir (Şekil 4.13o,p) İlerleyen evrelerde mikrosporların etrafındaki kalloz çeper parçalanmış ve mikrosporlar serbest kalmıştır.

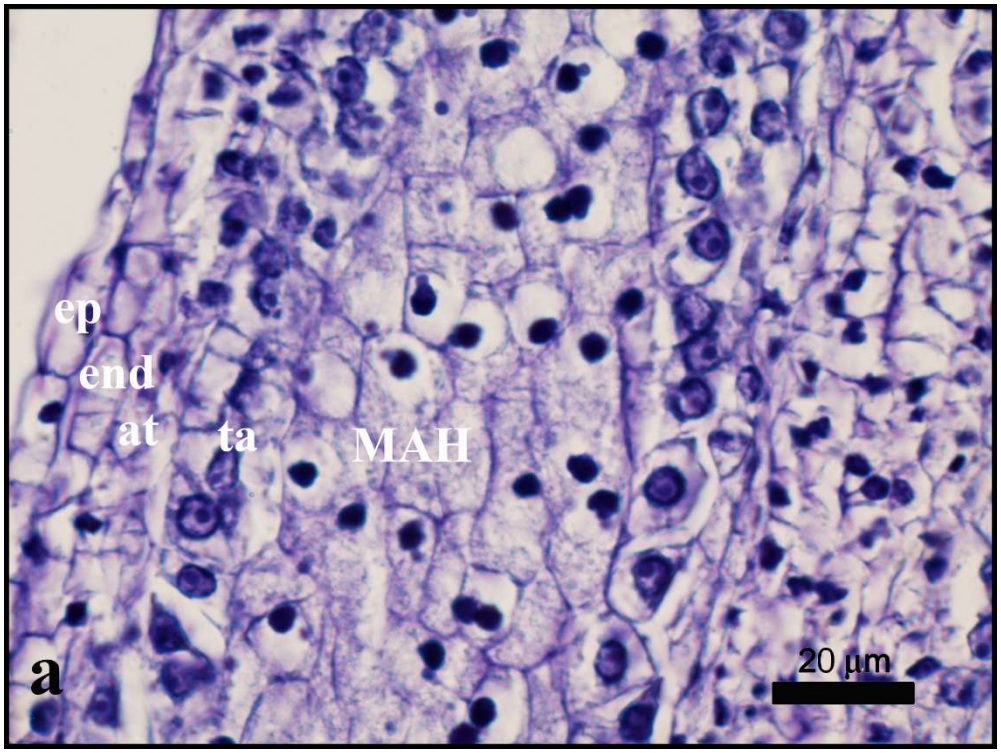
Mikrosporogenez genellikle düzenli olmasına rağmen nadiren bazı düzensizlikler gözlenmiştir.

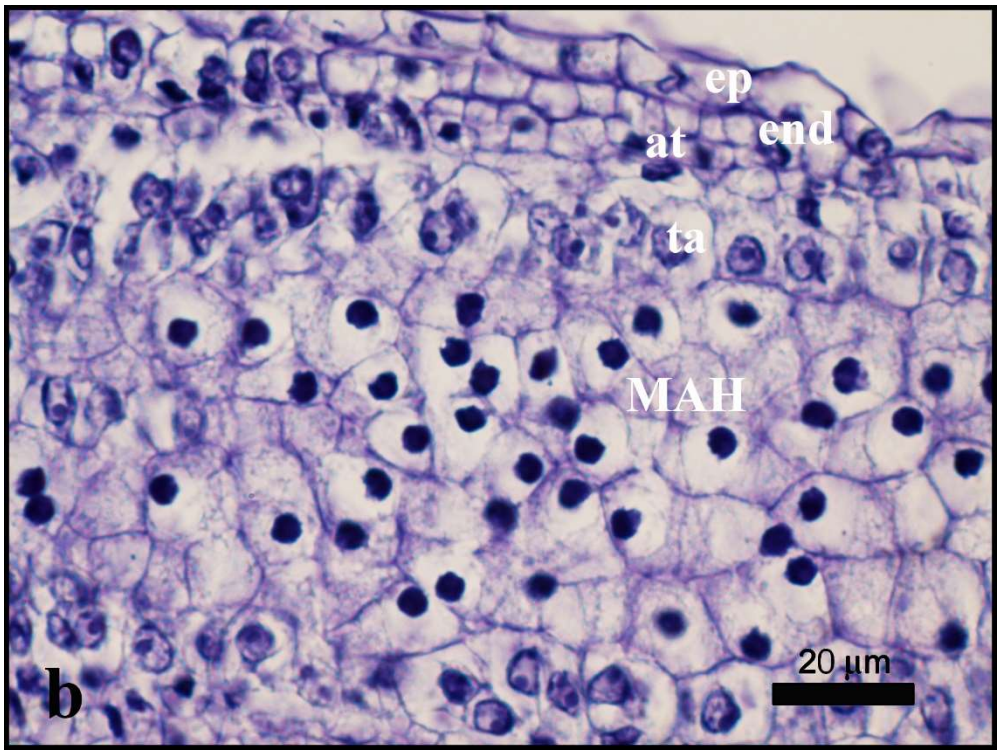


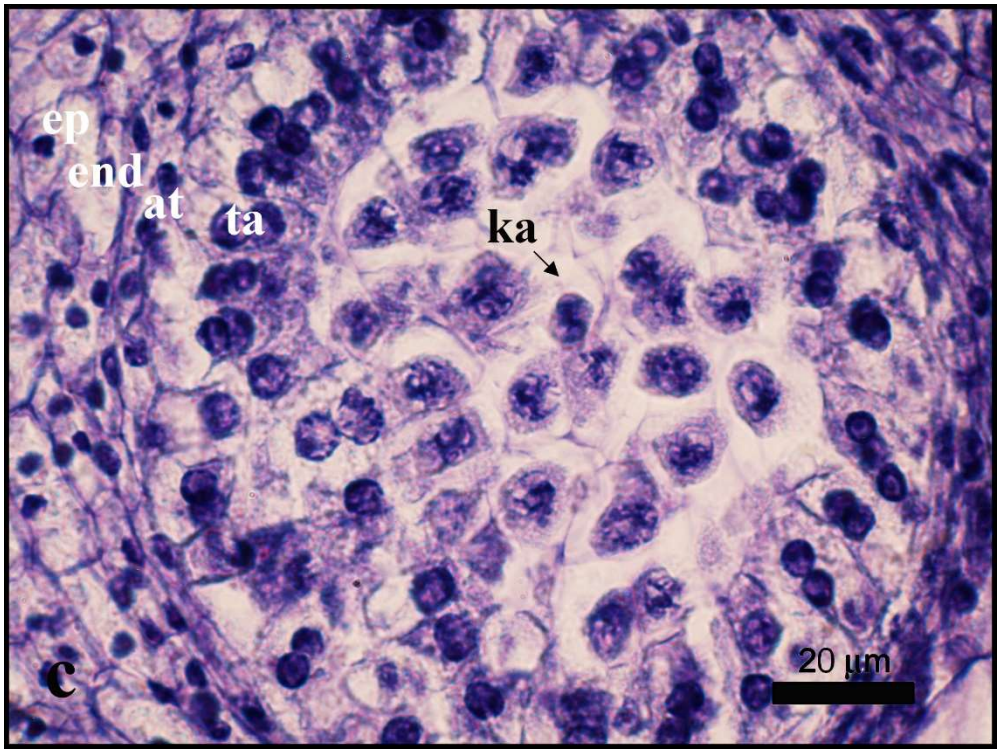
Şekil 4.11. *M. incana*'nın bir anterindeki asinkronik mayoz bölünme evreleri

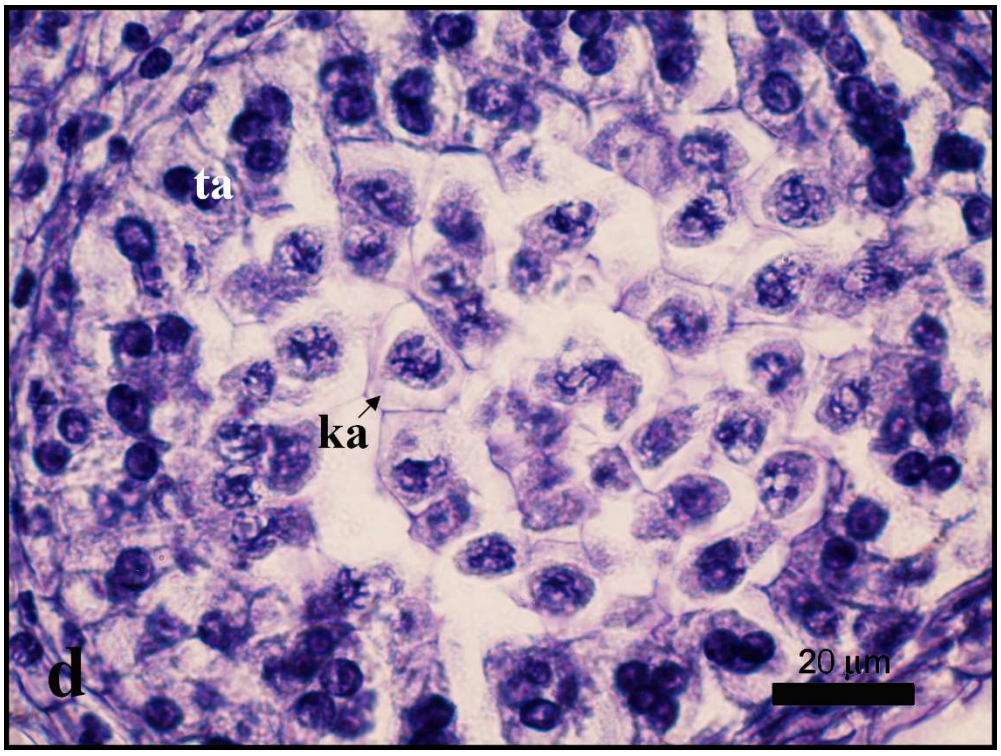


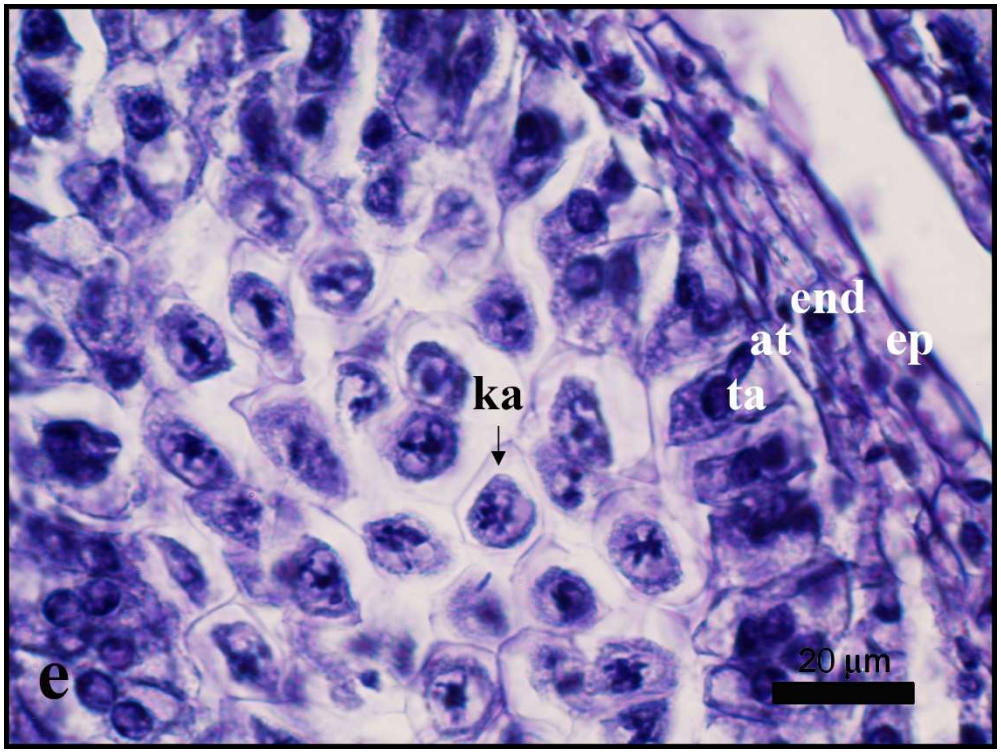
Şekil 4.12. *M. incana*'nın bir anter lokusundaki asinkronik mayoz bölünme evreleri

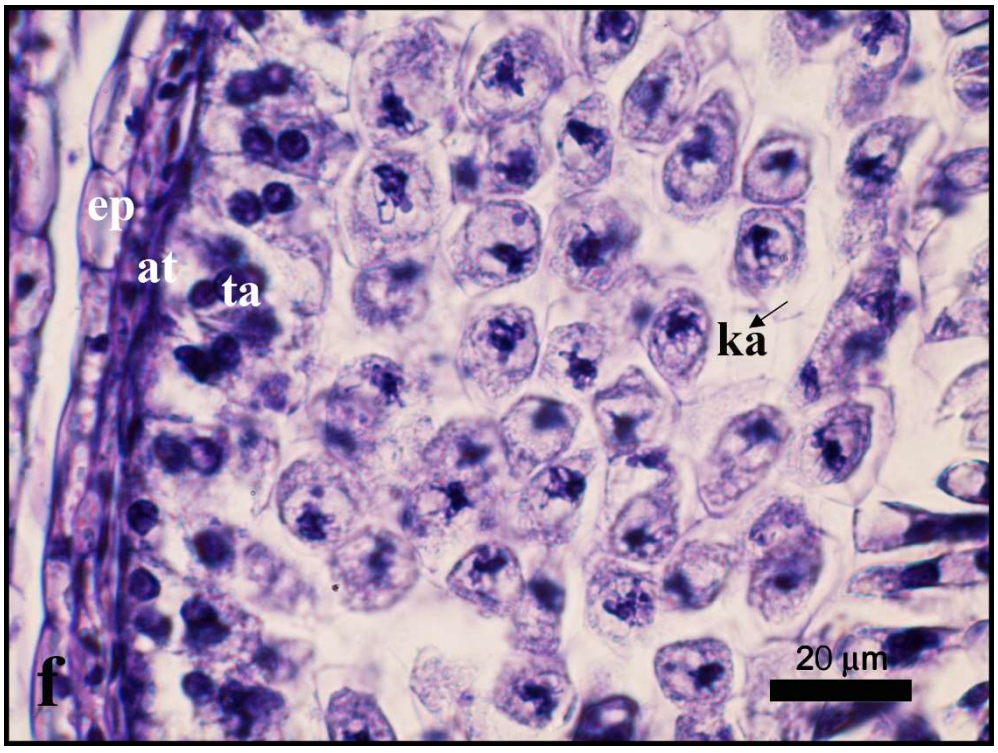

ep
end
at
ta
MAH
a
20 µm

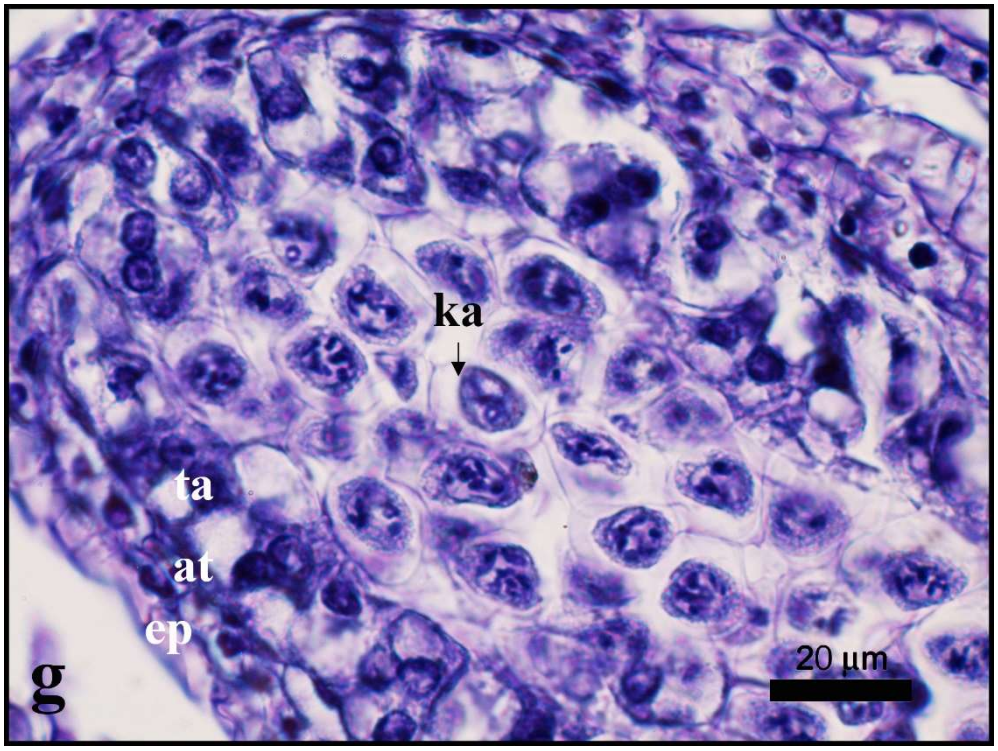

ep
end
at
ta
MAH
b
20 µm

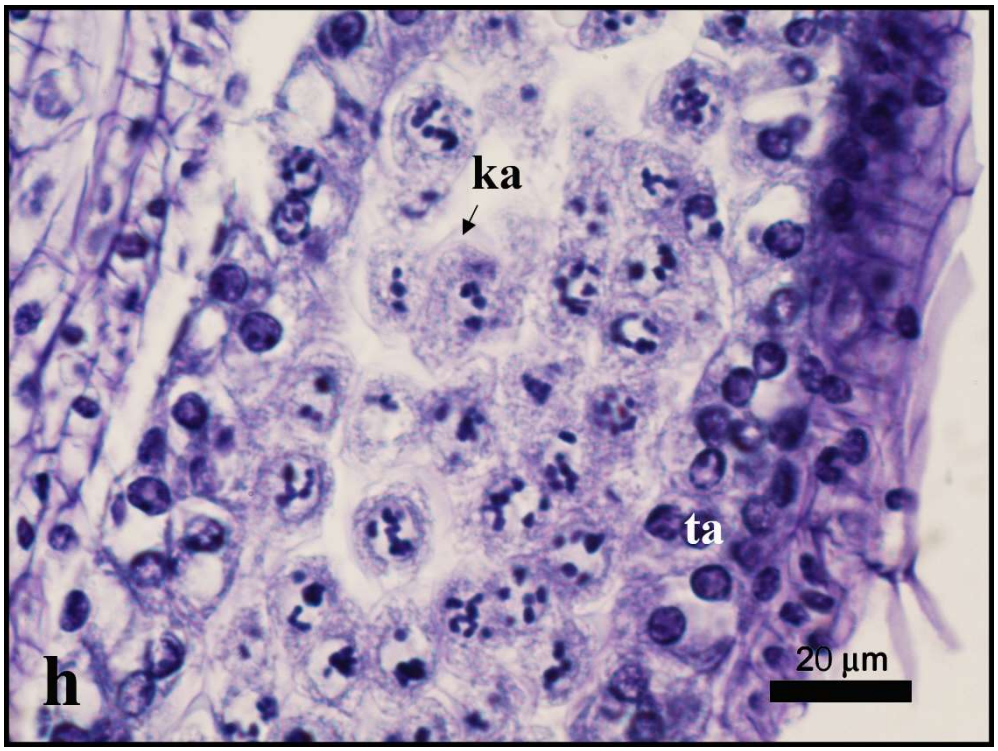

ep
end
at
ta
ka
c
20 µm

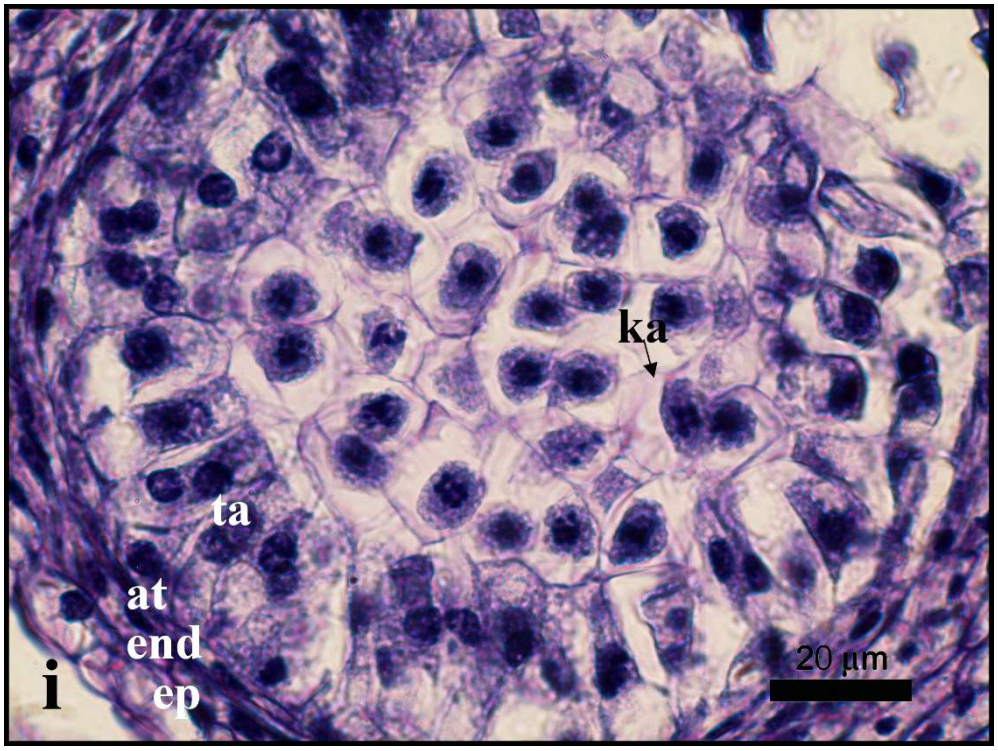

ta
ka
d
20 µm

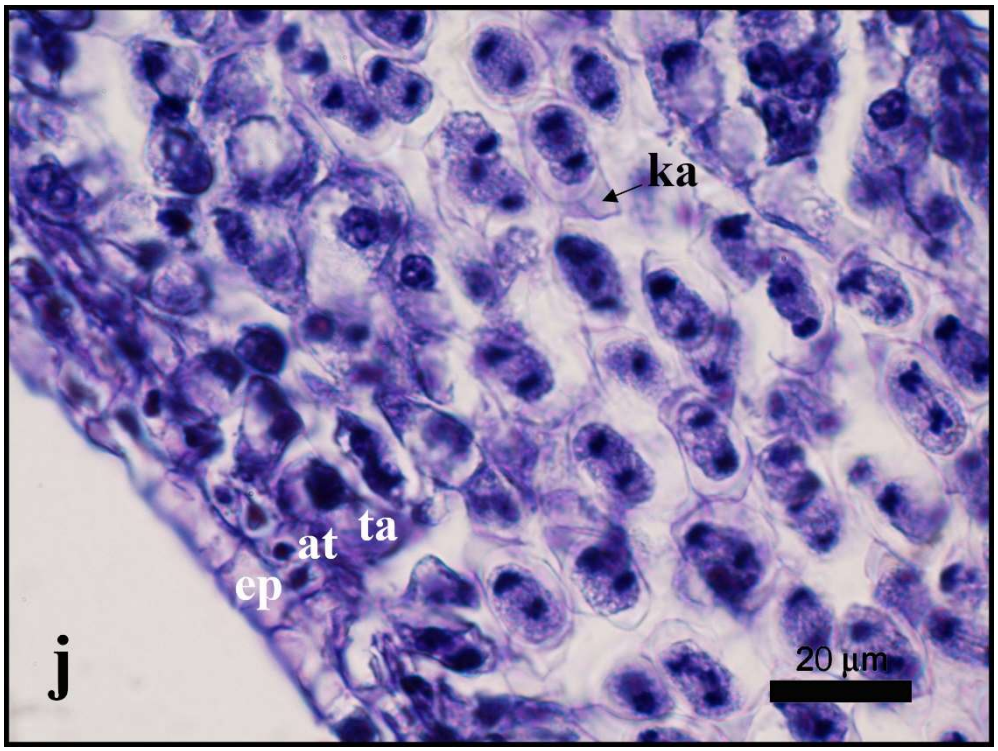

end
at
ep
ta
ka
e
20 µm

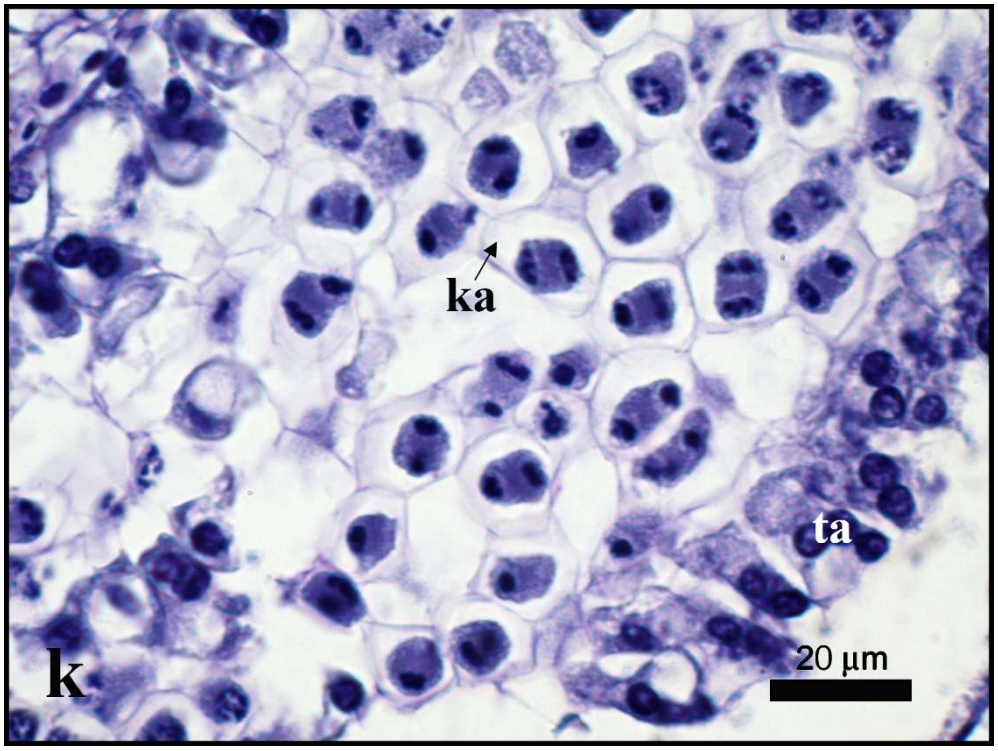

ep
at
ta
ka
f
20 µm

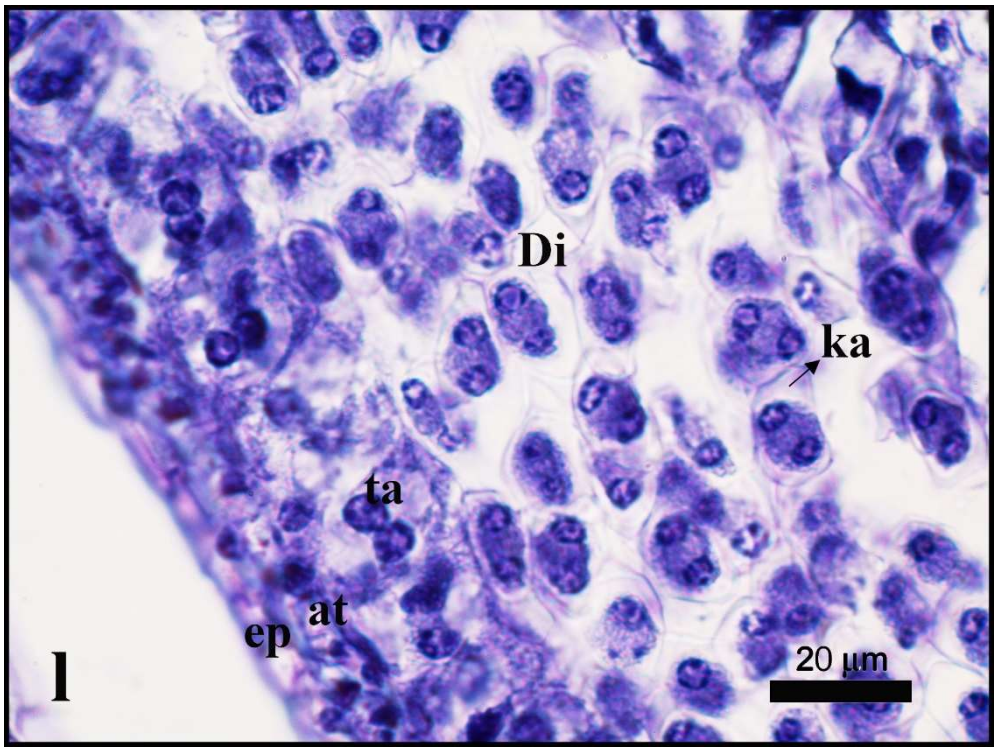

ka
ta
at
ep
20 µm
g

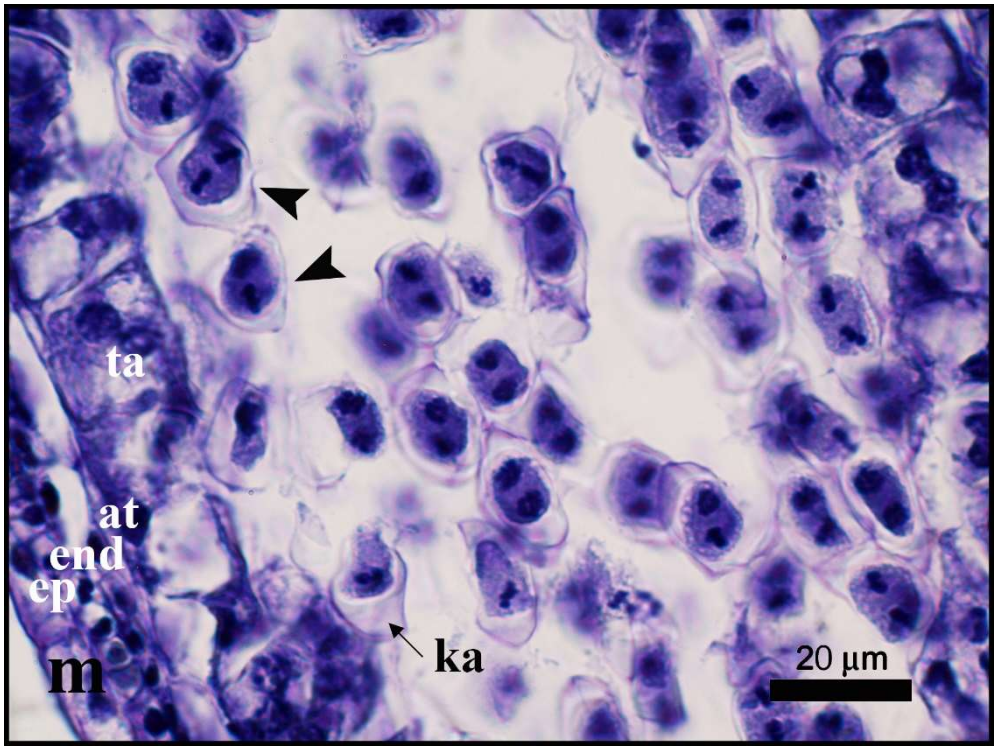

ka
ta
20 µm
h

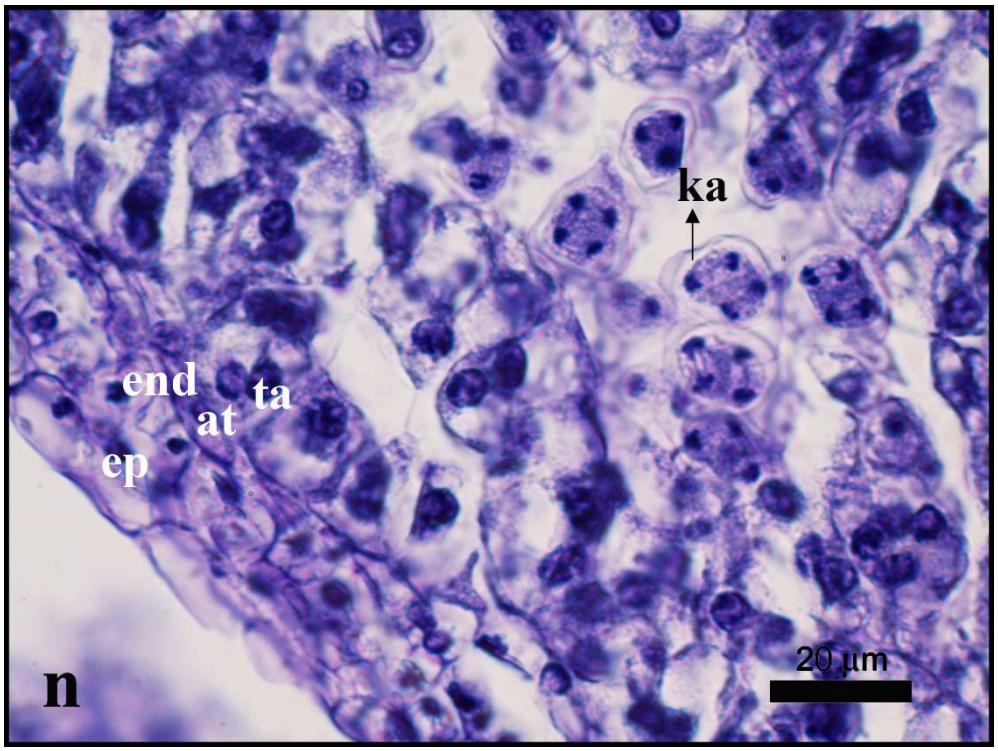

ka
ta
at
end
ep
i
20 µm

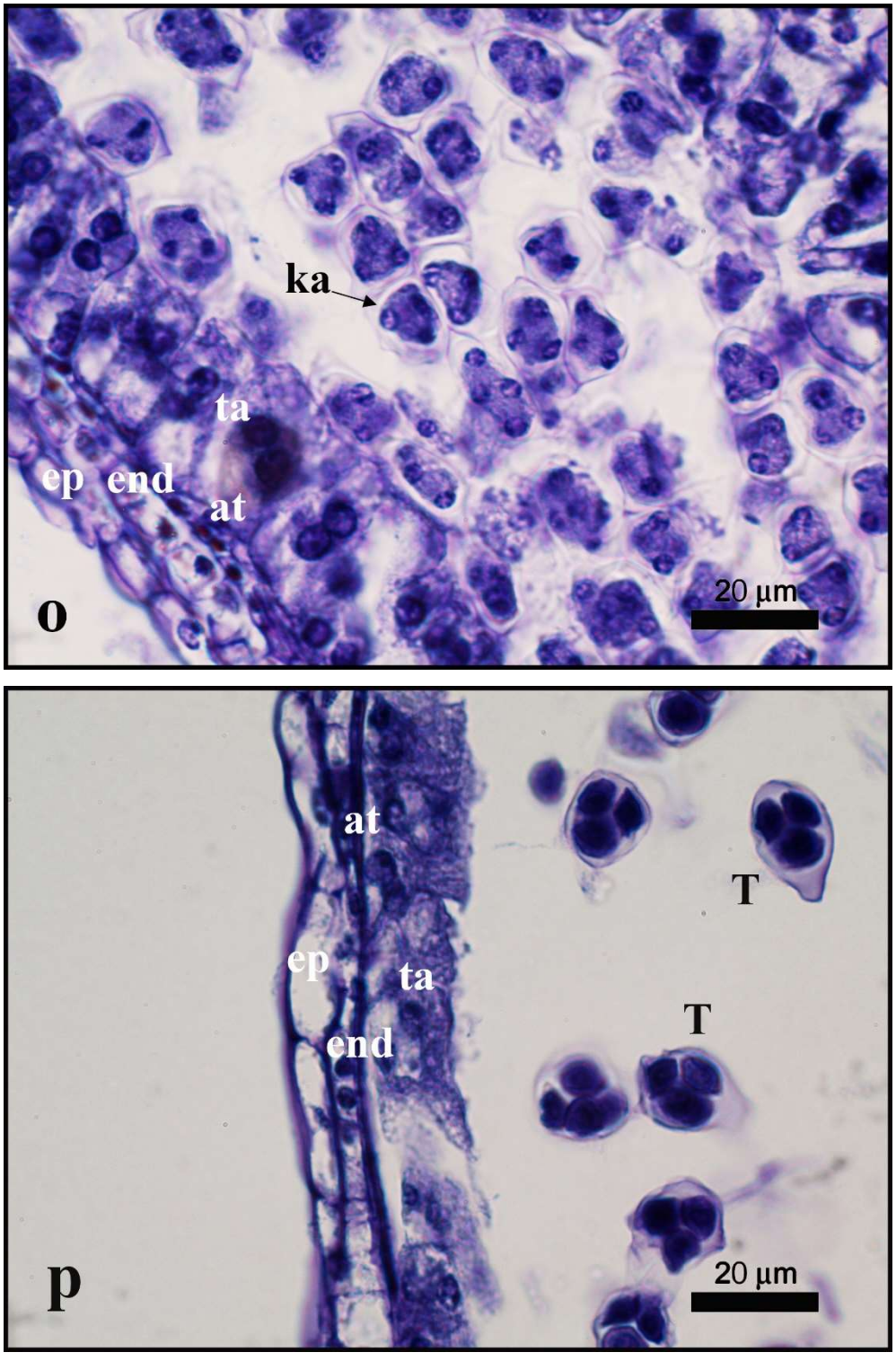

ka
at
ta
ep
j
20 µm


ka
ta
k
20 µm

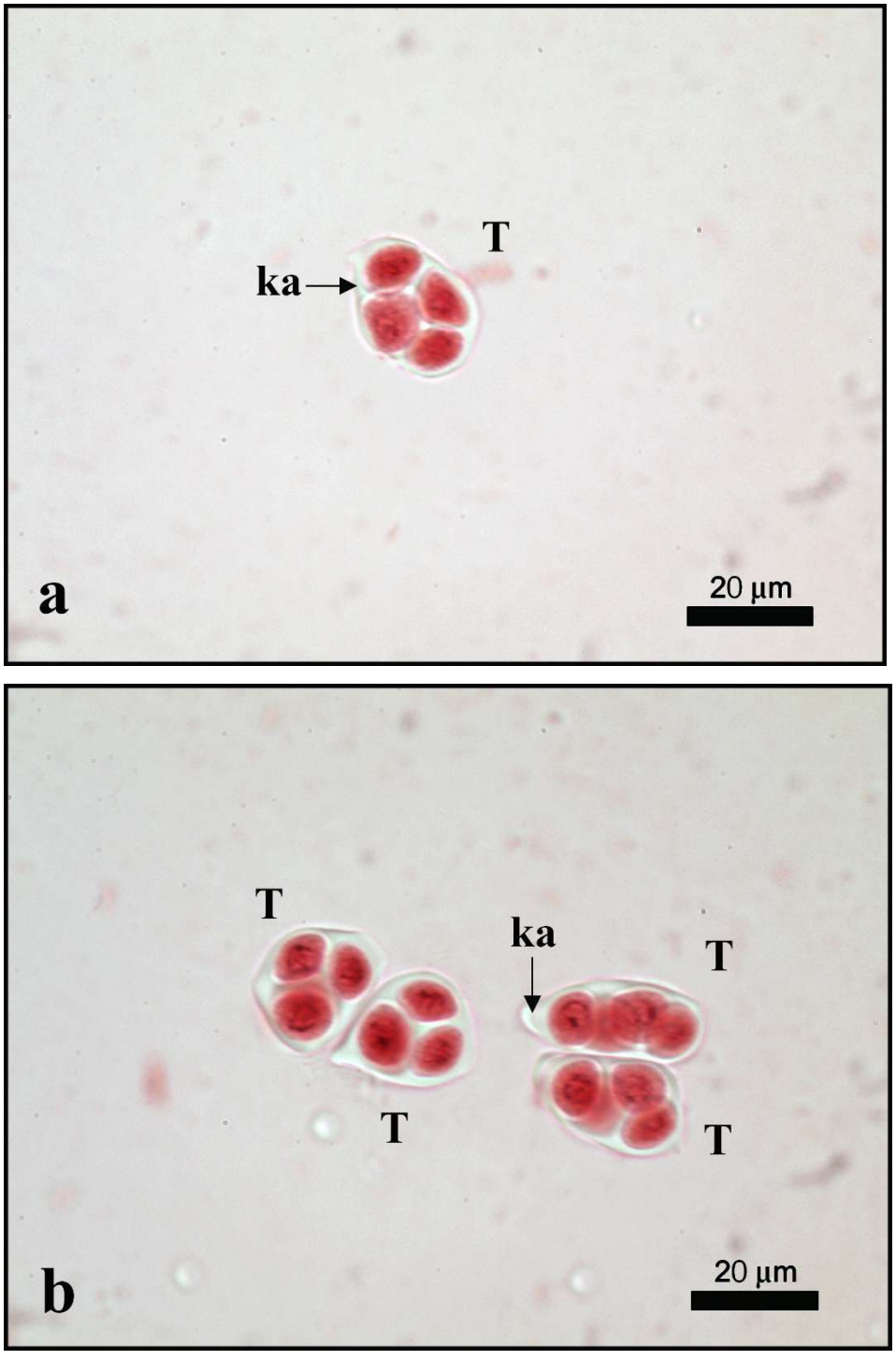

Di
ka
ta
ep
at
l
20 µm


ta
at
end
ep
ka
20 µm
m

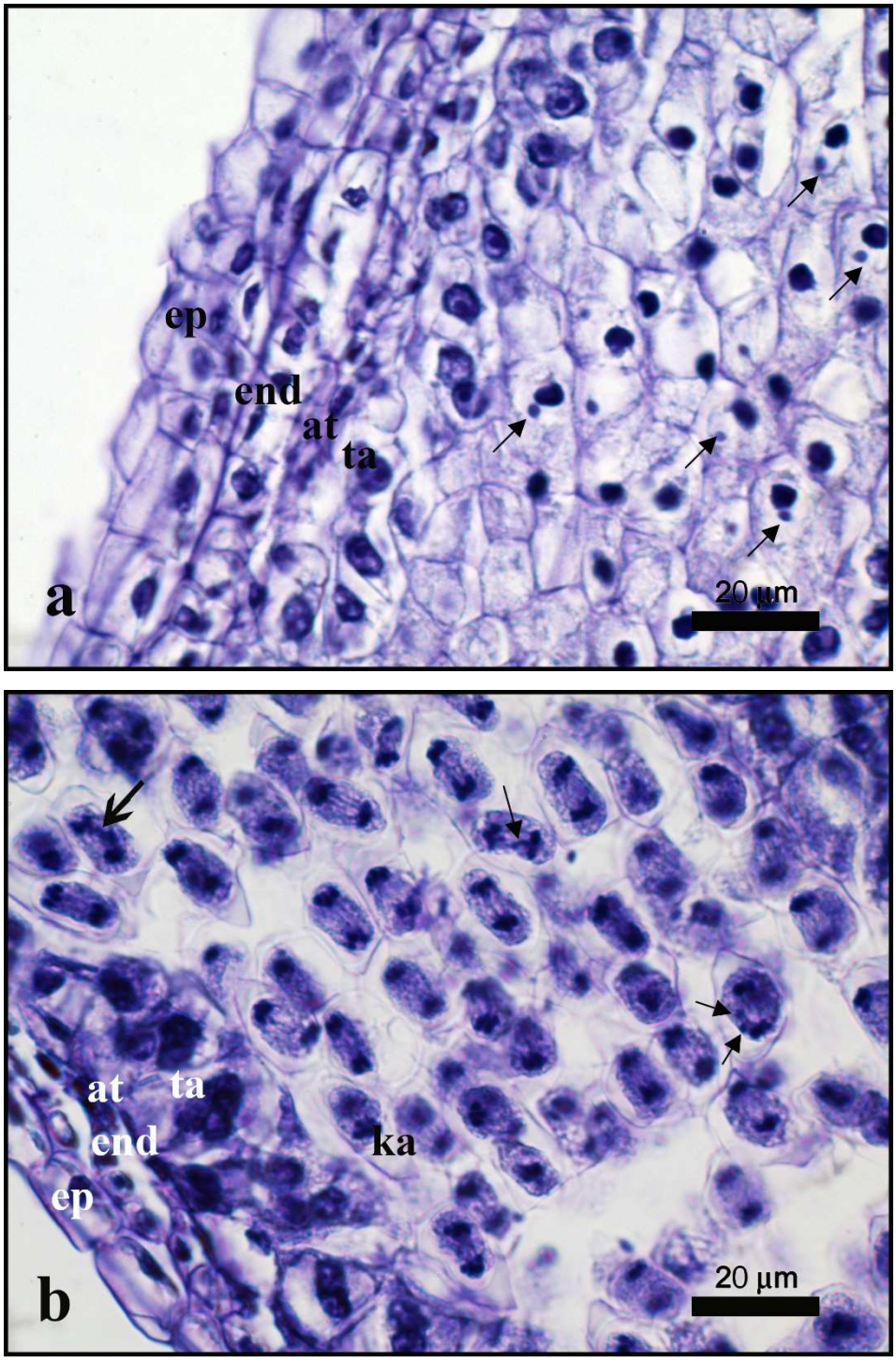

ka
end
ta
at
ep
20 µm
n



Şekil 4.13. *M. incana*'nın mikrospor ana hücresinde simultane tipte mayoz bölünme. a, interfaz; b, erken profaz; c, leptoten; d, zigoten; e, pakiten; f, buket evresi; g, diploten ; h, diakinez; i, metafaz I; j, anafaz I; k, telofaz I; l, diad; m, metafaz II; n, anafaz II; o, telofaz II; p, tetrad evresi (at, ara tabaka; Di, diad; end, endotesyum; ep, epidermis; ka, kalloz çeper; MAH, mikrospor ana hücresi; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum)



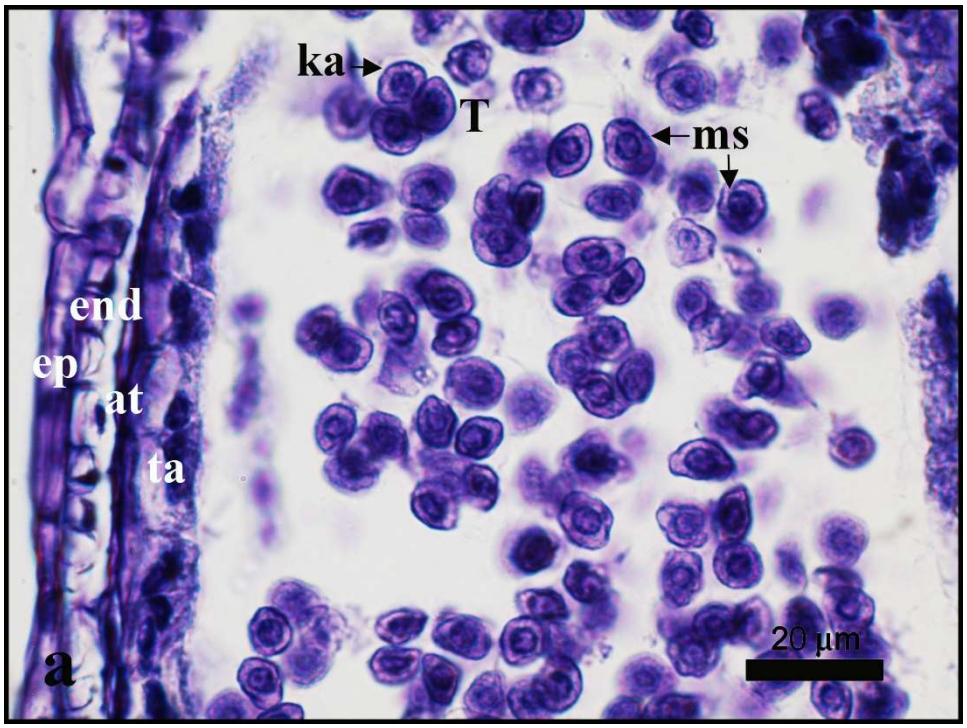
Şekil 4.14. *M. incana*'da görülen tetrad tipleri. a, romboidal; b, dekusat, tetrahedral ve romboidal tetradın yandan görünüşü (ka, kalloz çeper; T, tetrad)

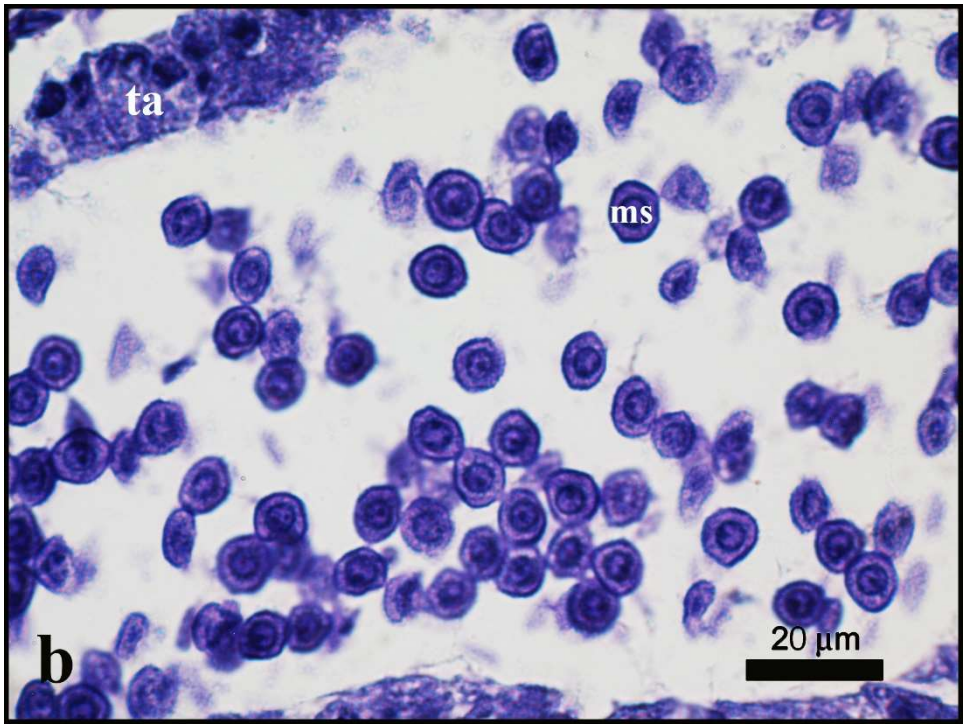


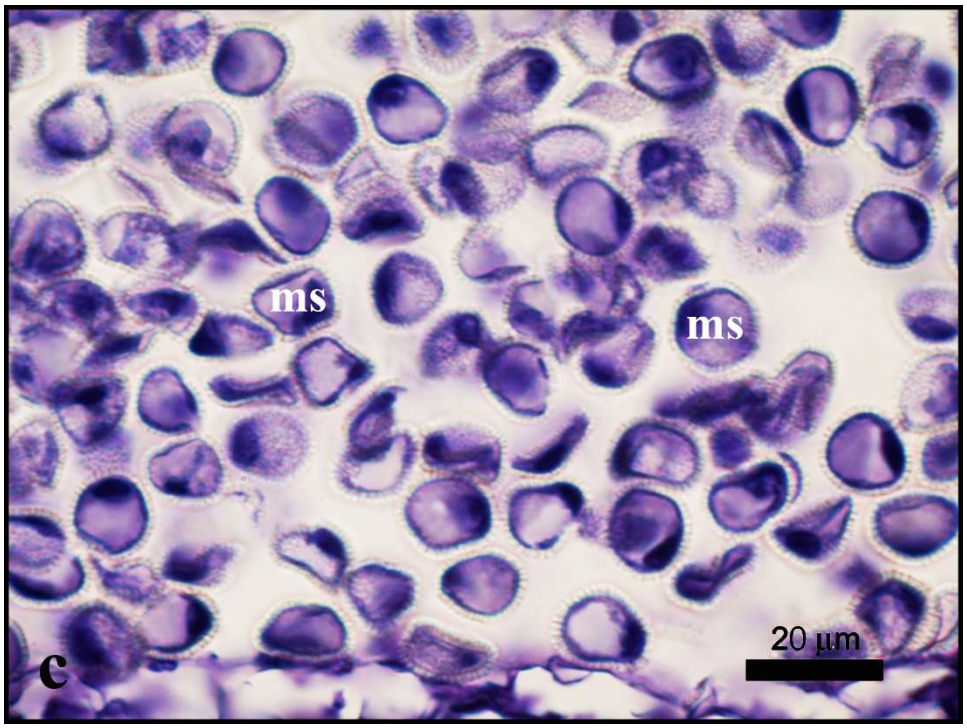
Şekil 4.15. *M. incana*'da mikrosporogenez sırasında görülen bazı anormallikler. a, erken profaz I'de mikronukleuslar (oklar); b, Anafaz I'de kalgın kromozom (ince oklar) ve kromozom köprüsü (kalın ok).(at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; ka, kalloz çeper, ta, tapetum)

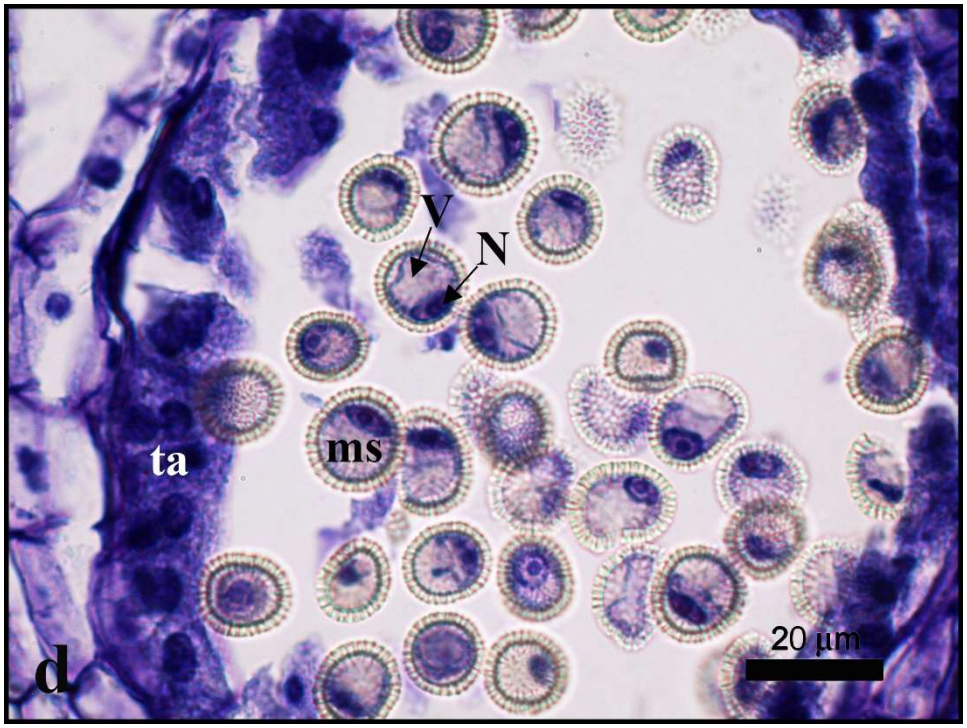
4.1.1.4. Mikrogametogenez

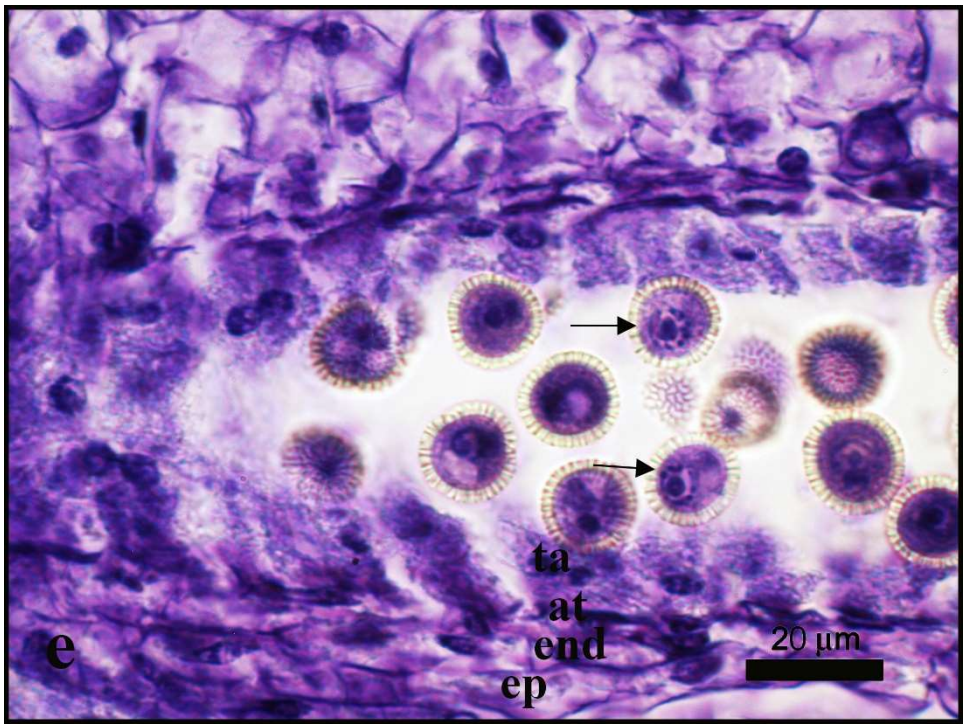
Matthiola incana'da tetrad evresindeki kallozun parçalanmasıyla mikrosporlar serbest kalır (Şekil 4.16a). Tetradtan ayrılan mikrosporlarda nukleus ortada yer almaktadır. Bu evrede mikrosporlar etrafında ekzin henüz gelişmemiştir (Şekil 4.16b). Daha sonraki evre buruşuk mikrospor evresidir. Nukleus hücrenin bir köşesine çekilmiştir. Geri kalan kısımda ise büyükçe bir vakuolün oluştuğu gözlenmiştir. Ayrıca bu evrede mikrosporlar çevresinde ekzin oluşmaya başlamıştır (Şekil 4.16c). Mikrosporlar lokustaki sıvıyı alarak şişerler. Mikrosporlarda belirgin bir polarite gözlenmiştir (Şekil 4.16d). Polen mitozunda profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinin normal geçtiği gözlenmiştir (Şekil 4.16e, f, g, h, oklar). Polen mitozu sonunda çepere yakın olan nukleusun generatif hücreyi, diğerinin ise vejetatif hücreyi oluşturduğu gözlenmiştir. Olgun polen tanelerinde generatif hücre nukleusunun daha koyu boyandığı vejetatif hücre nukleusunun ise daha açık renk boyandığı gözlenmiştir (Şekil 4.16i). Polen mitozunun genellikle normal gerçekleştiği görülmüştür fakat bazı evrelerde anormalliklere de rastlanmıştır. Bazı mikrosporlarda polen mitozunun anafaz evresinde kromozom köprülerinin oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.17).

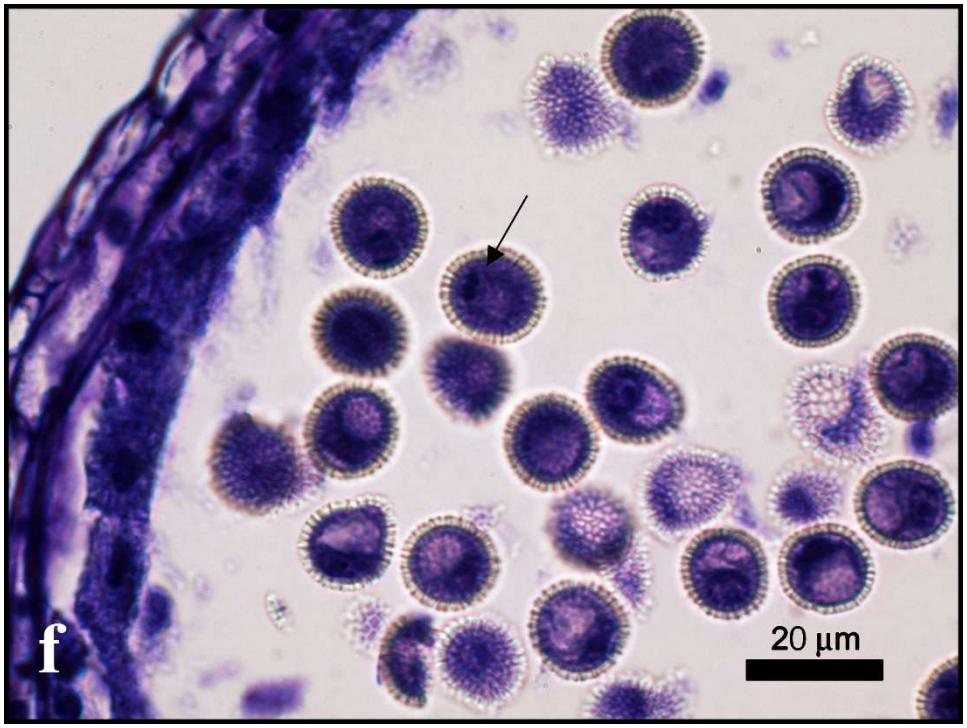



ta
ms
20 µm
b

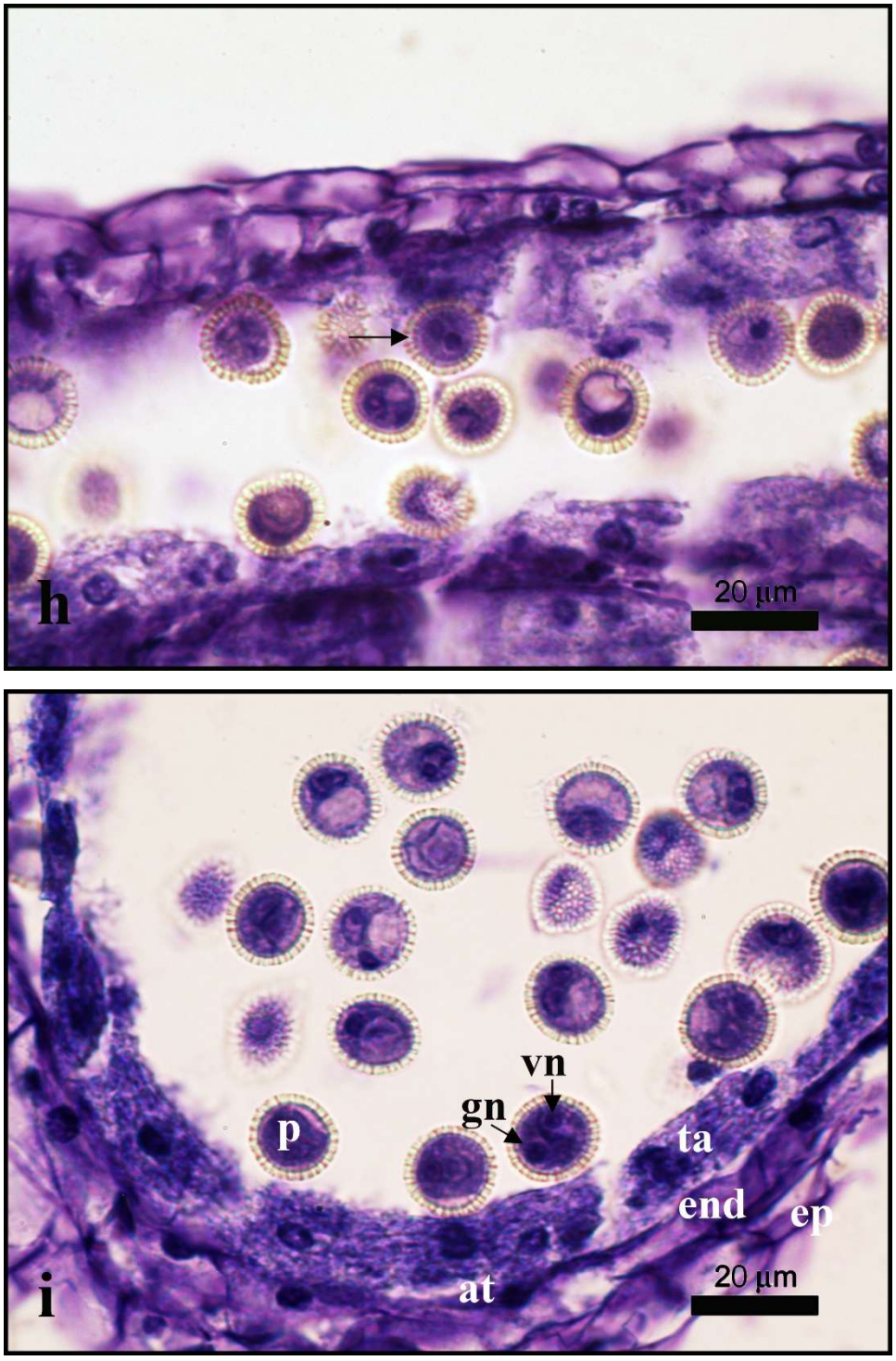

ms
ms
20 µm
c


V
N
ta
ms
20 µm
d

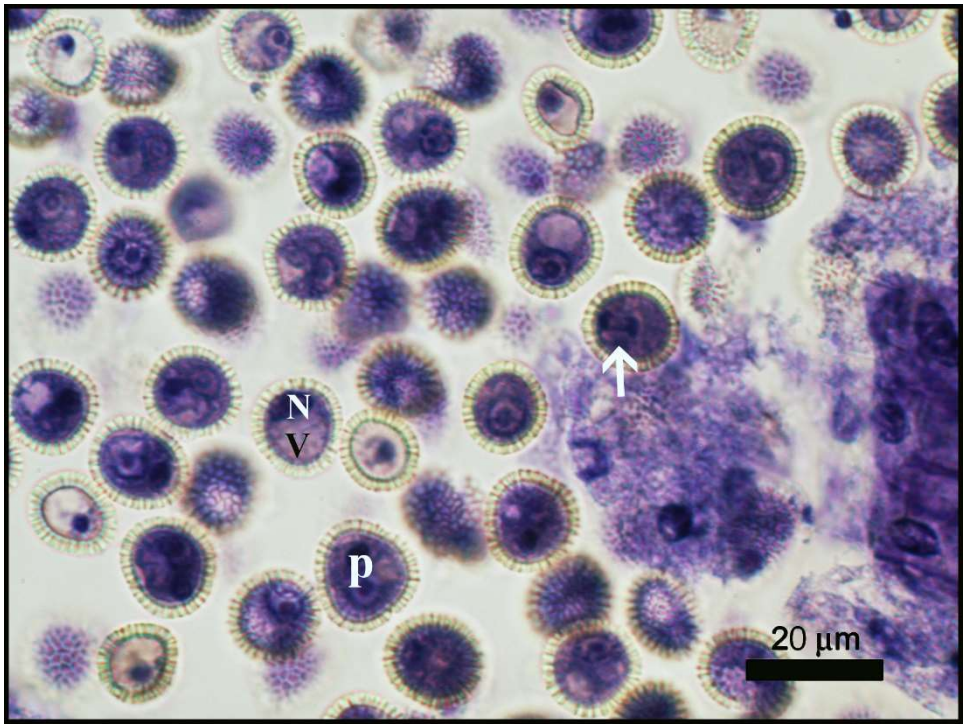

ta
at
end
ep
20 µm
e


f
20 µm


g
20 µm



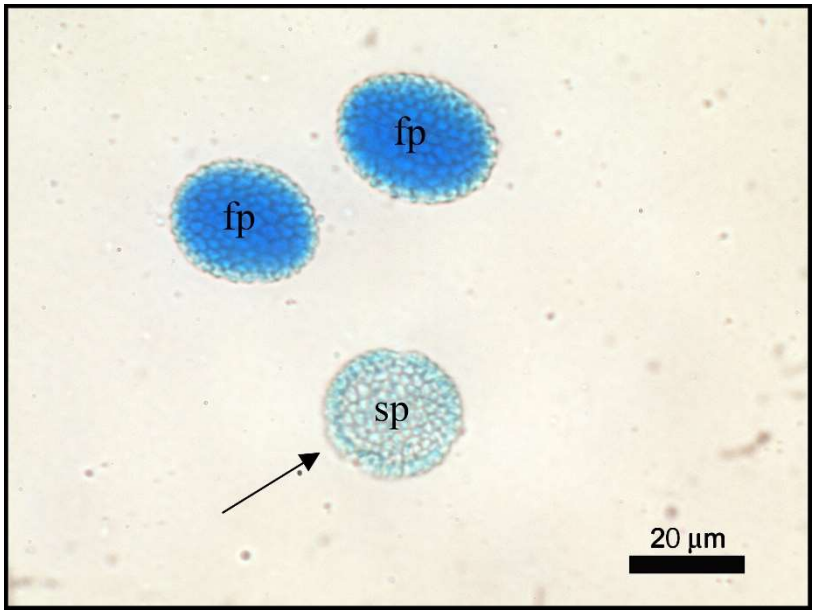
Şekil 4.16. *M. incana*'da mikrogametogenez. a, b, tetrad sonrası evre; c, buruşuk mikrospor evresi; d, polarize olmuş tek çekirdekli mikrospor evresi; e, profaz; f, metafaz; g, anafaz; h, telofaz; i, iki nukleuslu olgun polen evresi (at, ara tabaka; end, endotesyum; ep, epidermis; gn, generatif nukleus; ka, kalloz çeper; N, nukleus; ms, mikrospor; p, polen; T, tetrad; ta, tapetum; V, vakuol; vn, vejetatif nukleus)



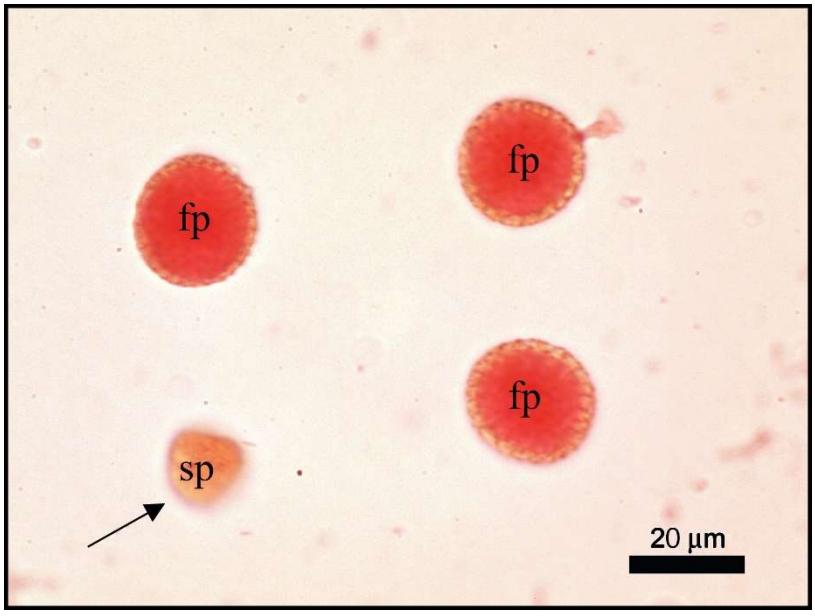
Şekil 4.17. *M. incana*'da polen mitozu anafaz evresinde görülen kromozom köprüsü (ok) (N, nukleus; p, polen; V, vakuol)

4.1.1.5. Polen Canlılığı

Matthiola incana'da polen canlılığı ışık mikroskopi yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Polenlerin genellikle iyi boyandıkları görülmüştür. Polen taneleri laktofenolde hazırlanan anilin mavisi (Şekil 4.18) ve gliserinde hazırlanmış asetocarmin (Şekil 4.19) ile boyanmıştır. Boyanan polenler fertil, boyanmayanlar ise steril kabul edilmiştir. 18044 adet polen tanesi sayılmıştır ve polen sterilite oranı %0,2 bulunmuştur.



Şekil 4.18. *M. incana*'da anilin mavisiyle boyanmış fertil ve steril (ok) polenler. (fp, fertil polen; sp, steril polen)



Şekil 4.19. *M. incana*'da asetocarmin ile boyanmış fertil ve steril (ok) polenler (fp; fertil polen, sp; steril polen)

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Trakya Üniversitesi Biyoloji Bölümü serasında yetiştirilen *Matthiola incana* türünün erkek gametofiti sitolojik ve embriyolojik olarak incelenmiştir. Farklı gelişim evrelerindeki anter çeperlerinin yapısı ile histokimyasal özellikleri incelenmiştir. Aynı zamanda farklı gelişim evrelerindeki polen tanelerinin ve anter çeperlenin RNA ve polisakkarit içerikleri incelenmiştir. Polen tanelerinin sterilite oranı ortaya koyulmuştur. Elde edilen veriler ışık mikroskobunda çekilen fotoğraflar ile desteklenmiştir.

Türkiye'de *M. incana* ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış ancak sitolojik veya embriyolojik bir çalışmaya rastlanmamıştır. *M. incana* ile yapılan sitolojik ve embriyolojik çalışmalar kısıtlı olduğundan mikrosporogenez ve mikrogametogenez ile ilgili bulgularımız *Matthiola* cinsinin farklı türleri ve Brassicaceae familyasından farklı cinsler ile karşılaştırılmıştır.

Matthiola incana'da andrekeum 4-6 stamenden oluşmaktadır. Anterler beyazımsı sarı renkli ve bazifikstir. Olgun anter boyu genellikle 4, 5 mm'dir ve nadiren 6 mm'ye de rastlanmıştır. Filamentler yeşil renkli ve anterlerden daha kısadır. Bu özellikler Brassicaceae familyasında daha önce saptanan özelliklere benzerlik gösterir. Brassicaceae familyasında stamenler çoğunlukla altı adettir. (Al-Shehbaz, 2012). Olgun anterlerde mikrosporangiyumlar yarılarak açılır.

Matthiola incana'da anterler tetrasporangiattır. Erken evrelerinde anter çeperi genellikle 3-4 hücre sırasından oluşmaktadır. Genç anter çeperi, dıştan içe doğru

epidermis, tek sıralı endotesyum, 1-2 hücre sıralı ara tabaka ve 1-2 sıralı tapetumdan meydana gelmiştir. Brassicaceae familyasından *Lepidium campestre* ve *Lepidium ruderale* türlerinde de anterler tetrasporangiattır ve monokotiledon tipte gelişim gösteren anter çeperleri her biri tek sıralı olmak üzere epidermis, endotesyum, ara tabaka ve salgı tapetumundan oluşmaktadır (Yankova-Tsvetkova, Semerdjieva, Nikolova & Zheljazkov, 2018). Diğer Brassicaceae türlerinden; *Biscutella laevigata* L. (Kwiatkowska, Kłosowska & Kurczyńska, 2020), *Iberis saxatilis* subsp. *saxatilis* (Yurukova-Grancharova, Anchev & Goranova, 2004)*, Brassica jordanoffii* (Yankova-Tsvetkova, Yurukova-Grancharova & Vladimirov, 2016) , *Cardamine matthioli, Cardamine rivularis* ve bir triploid melez olan *Cardamine×rhodopaea'*da da (Ančev, Ignatova, Goranova, Stoyanov & Yurukova-Grancharova, 2013) anterler tetrasporangiattır.

*Matthiola incana'*da epidermis hücreleri diğer hücrelerden daha büyük görünmektedir. Olgun anter çeperinin en dışında, gelişimin sonuna kadar parçalanmayan 1 sıra yassı ve şişkin epidermis hücrelesi bulunmaktadır. Polen gelişminin sonuna kadar kalan epidermis hücreleri *L. campestre, L. ruderale* (Yankova-Tsvetkova vd., 2018)*, I. saxatilis* subsp. *Saxatilis* (Yurukova-Grancharova vd., 2004) *ve B. jordanoffii* (Yankova-Tsvetkova vd., 2016) türlerinde de görülmektedir.

*Matthiola incana'*nın olgun anter çeperinde, epidermisin altında bulunan endotesyum tabakası iyi gelişmiştir ve endotesyumda fibrilsi kalınlaşmalar görülmektedir. Brassicaceae familyasından *L. campestre* ve *L. ruderale* türlerinde (Yankova-Tsvetkova vd., 2018) ve *I. saxatilis* subsp. *saxatilis*'de (Yurukova-Grancharova vd., 2004) de fibrilsi kalınlaşmalar görülmüştür. *C. xrhodopaea* endotesyumundaki fibrilsi kalınlaşmalar, *C. matthioli* ve *C. rivularis*'teki endotesyum kalınlaşmalarına göre daha azdır (Ančev vd., 2013).

*Matthiola incana'*da ara tabaka, *L. campestre, L. ruderale* ve *I. saxatilis* subsp. *saxatalis* türlerinde de olduğu gibi yassılaşmış hücrelerden ve 1-2 sıradan oluşmaktadır. *C. ×rhodopaea*'da anter çeperi genellikle tek sıralı ara tabaka içerir, *C. rivularis* ve *C. matthioli*'de 2 ara tabaka oluşumu daha sık gözlenmiştir. Bu *Cardamine* türleri arasında *Cardamine* × *rhodopaea*'da ara tabaka en geçicidir ve MAH'inde

mayoz II başlangıcına kadar dejenere olmaktadır ve diğer iki diploid türde dejenerasyon daha sonra gerçekleşmektedir. *B. jordanoffii* ve *Lepidium vesicarium'*da ara tabaka geçicidir. *Iberis saxatilis* subsp. *saxatalis*'de ara tabaka geçici değildir ve mikrosporogenezin sonuna kadar kalmaktadır. *L. campestre* ve *L. ruderale*'de ara tabaka kısmen korunmuştur (Yurukova-Grancharova vd., 2004; Chehregani & Sedaghat, 2009; Ančev vd., 2013; Yankova-Tsvetkova vd., 2016; Yankova-Tsvetkova vd., 2018). Çalışma materyalimizde de ara tabakanın kalıcı olduğu görülmektedir.

Matthiola incana'da tapetum hücreleri 1-2 sıralı ve salgı tipindedir. Salgı tapetumu Brassicaceae familyasından farklı türlerde de görülmektedir (Chehregani & Sedaghat, 2009; Ančev vd., 2013; Yankova-Tsvetkova vd., 2016; Yankova-Tsvetkova vd., 2018). *I. saxatilis* subsp. *saxatalis*'de tapetum başlangıçta salgı tipindedir ancak iki hücreli polen oluşumundan sonra ameboid yalancı periplazmodyuma dönüşmektedir. Farklılaşmadan sonra neredeyse tamamen dejenere olmuştur (Yurukova-Grancharova vd., 2004). *Matthiola incana*'nın tapetum hücreleri genellikle iki nukleusludur ancak tek nukleuslu hücrelere de rastlanmıştır. *I. saxatilis* subsp. *saxatalis*'de tapetum hücreleri başlangıçta tek nukleuslu büyük hücrelerdir, mitoz bölünmelerden sonra iki veya dört nukleuslu hale gelirler (Yurukova-Grancharova vd., 2004). *B. jordanoffii'*de de tapetum hücreleri başlangıçta tek nukleusludur, mitotik bölünmeler sonucu iki nukleuslu hale gelirler (Yankova-Tsvetkova vd., 2016). *C. matthioli, C. rivularis* ve *C. ×rhodopaea* türlerinin tapetumları başlangıçta tek nukleuslu hücrelerden oluşurken, mitotik bölünmelerin sonucunda katlanarak iki veya nadiren dört nukleustan meydana gelmektedir (Ančev vd., 2013).

Mikrosporogenezin tetrad evresinde tapetum hücrelerinin dejenere olmaya başladığı görülmüştür. Ancak mikrogametogenezin erken evrelerinde bazı anterlerde dejenere olmamış tapetum hücreleri de saptanmıştır. *L. campestre* ve *L. ruderale* türlerinin olgun polen evrelerinde tapetum kalıntıları görülmektedir, tapetumları dejenere olmuştur (Yankova-Tsvetkova vd., 2018). *C. matthioli, C. rivularis* ve *C. ×rhodopaea* tapetumları ise bölünmelerin sonuna kadar görünmektedir (Ančev vd., 2013).

Bu çalışmada *M. incana*'da bazı gelişim evrelerinde anter çeperi hücrelerinin polisakkarit ve RNA içeriği araştırılmıştır. Anter çeperinin erken gelişim evrelerinde

PAS(+) reaksiyonu genellikle hücre çeperlerinde özellikle tapetum hücrelerinde tespit edilmiştir. Çeper hücrelerinin sitoplazmasında PAS(+) reaksiyon görülmemiştir. Tetradlar da kalloz çeper bulunmasından dolayı PAS(+) reaksiyonu göstererek koyu renkte boyanmıştır. Pacini ve Juniper'e göre (1984) çözünmeyen polisakkaritler, tetradların kalloz çeperinde ve gelişen polen tanesinde primeksin, intin, amiloplastlar ve sitoplazmik veziküllerde yoğunlaşmaktadır. Toplam polisakkarit içeriği; ATP üretimi, temel metabolik faaliyetler, diğer PAS(+) olmayan moleküllerin sentezi ve hidroliz yoluyla çözünür şekerlerin üretilmesi gibi faaliyetlerde kullanılarak azalabilmektedir (Pacini & Viegi,1995).

Matthiola incana'nın buruşuk mikrospor evresinde tapetum hücreleri dejenere olmaya başladığı için polisakkarit içeriği azalmıştır. Diğer anter çeperi tabakaları ise polisakkarit bakımından zenginleşmiştir. Tek çekirdekli mikrospor evresinde endotesyum tabakası ve epidermiste polisakkarit taneciklerinin birikimi gözlenmiştir. Olgun polen evresinde ise tapetum hücrelerinin tamamen dejenere olmasından dolayı polisakkarit içeriği genellikle endotesyum tabakasında yoğunlaşmıştır. Geç evrelerde yoğunlaşan polisakkarit içeriği, endotesyum hücrelerinin çeper farklılaşmasında kullanılabileceğini göstermektedir.

Pacini ve Viegi (1995) tarafından, *Borago oficinalis* ve *Lycopersicum peruvianum* türlerinde PAS(+) reaksiyonu kullanarak erken mikrospor evresinden olgun polen evresine kadar toplam polisakkarit içerikleri incelenmiştir. Boraginaceae familyasından *Borago oficinalis*'te polisakkarit içeriği, geç mikrospor evresinde ve mayoz II'de artış göstermiştir. Solanaceae familyasından *Lycopersicum peruvianum*'da, yalnızca geç evre sırasında artış görülmüştür. Her iki türde de toplam polisakkarit içeriği, polen gelişiminin son aşamasında önemli ölçüde azalmıştır. Bu azalmaya nişastanın hidroliz olması ve polenin polisakkarit depolarının sitoplazmaya aktarılması neden olduğu düşünülmektedir (Pacini & Viegi, 1995). Çalışma materyalimizde toplam polisakkarit içeriği miktar olarak incelenmemiştir ancak PAS(+) reaksiyonunu dikkate aldığımızda polisakkaritlerin artış gösterdiği evreler *Borago oficinalis* ve *Lycopersicum peruvianum'*da incelenen evreler ile benzerlik göstermektedir.

Matthiola incana'da mikrogametogenezin erken evresinde anter çeperi RNA içeriği bakımından zengindir. Buruşuk mikrospor evresinde ise tapetum hücrelerindeki RNA içeriği azalmıştır. Bunun nedeni sitoplazmalarındaki dejenerasyonun artmasıdır. Mikrosporlar ise polen mitozuna hazırlandığı için RNA içeriği bakımından zengindir. Tek çekirdekli mikrospor evresinde ara tabaka en zengin RNA içeriğine sahiptir. Olgun polen evresinde anter çeperinin RNA içeriğinin azaldığı görülmektedir.

*Matthiola incana'*nın MAH'lerinde mikrosporogenez evreleri genellikle düzenli gerçekleşmiştir. MAH'de mayoz bölünme sırasında sitokinez birçok dikotilde olduğu gibi simultane tip olarak görülmüştür. Mayozu çeper oluşumu izlememiş, kalloz çeper kenarlardan başlayıp merkeze doğru ilerleyerek tetrad oluşturmuştur. Brassicaceae familyasından *L. campestre, L. ruderale,* (Yankova-Tsvetkova vd., 2018) *B. Laevigata* (Kwiatkowska vd., 2020)*, C. matthioli, C. rivularis* ve *C. ×rhodopaea* (Ančev vd., 2013)*, Cardamınopsıs Arenosa (L.)* Hayek (Kwiatkowska & Izmailow, 2014), *B. jordanoffii* (Yankova-Tsvetkova vd., 2016) türlerinde de simultane tipte sitokinez meydana gelmiştir. *Matthiola incana*'nın leptoten evresinde gelişimi ilerleyen ve zigotende oluşumu tamamlanan kalloz çeper, tetrad evresinin sonlarına doğru, parçalanarak kaybolmaktadır.

Matthiola incana 'da elde ettiğimiz bulgulara göre hem metafaz I hem de metafaz II'de sıklıkla asinkroni gözlenmiştir. Asinkronizasyon hem bir anter içindeki farklı lokuslarda hem de aynı anter lokusunda birden fazla evre şeklinde görülmüştür. Bazı anter lokusunda metafaz I, anafaz I ve telofaz I evreleri birlikte görülmüştür. Asinkronizasyonda en çok birlikte görülen evreler metafaz-anafaz, anafaz-telofaz ve diad-tetrad evreleridir. Aynı zamanda aynı tomurcuğun farklı anterleri arasında da asinkroni tespit edilmiştir. Bir anterde diad görülürken başka bir anterde tetrad evresi görülebilmektedir. Brassicaceae familyasından *Fibigia* cinsinde nükleusta asinkronizasyon araştırılmıştır ve metafaz II'deki çoğu popülasyonda asinkroni saptanmıştır (Ranjbar vd., 2014). Ayrıca *I. saxatilis* subsp. *saxatalis'*in triploid popülasyonunun anter lokuslarında da asinkroni gözlenmiştir (Yurukova-Grancharova vd., 2004). Bu örneklerin aksine *L. vesicarium*'da bir anter içindeki anter lokuslarında mikrospor oluşumu sinkronik olarak gerçekleşmiştir ve asinkroniden söz edilmemiştir (Chehregani & Sedaghat, 2009). Aynı anter lokusu içinde görülen asinkronizasyonlar besin materyallerinin kademeli şekilde iletiminden kaynaklanabilmektedir.

Mikrosporogenez *M. incana*'da genellikle düzenli gerçekleşmiştir ancak bazı kromozom anomalilerine de rastlanmıştır. Bazı hücrelerde profaz evresinde mikronukleuslar, anafaz I'de kalgın kromozom, kromozom köprüsü görülmüştür. Bu bulgular türün 2017 yılında Irani ve Arab tarafından elde edilen verileri ile uyumludur. Ayrıca daha önce Brassicaceae familyasında yapılan birçok çalışmada MAH'de parçalanmış kromozomlar, kromozom köprüleri, kromozomal ayrılmama, kalgın kromozom, asinkronik nukleus, trizomi ve sitomiksis gibi çok çeşitli mayotik anormallikler tespit edilmiştir (Irani & Arab, 2017). *Boechera stricta'*nın diad ve triadlarında mikronukleus gibi anormallikler, tetradlarda dejenere mikrosporlar ve nadiren boş anterler görülmüştür (Rojek vd., 2018).

Mayoz bölünme, ökaryotik yaşamda önemli bir süreçtir, çünkü doğru haploid kromozom takımını içeren, genetik yeniden düzenlenme ve gamet üretimi için gereklidir. Dolayısıyla uygun şekilde yürütülmesi tür içi devamlılık, türlerin evrimi ve sağlığı için büyük öneme sahiptir ve bu nedenle oldukça düzenli olması gerekmektedir (Barchi, Cohen & Keeney, 2016).

Matthiola incana'nın tetrad evresinde hem diad hem de tetrad oluşumu gözlenmiştir. *Lepidium campestre, Lepidium ruderale* (Yankova-Tsvetkova vd., 2018)*, Biscutella laeviagata* (Kwiatskowska vd., 2020)*, Cardaminopsis Arenosa* (Kwiatkowska & Izmailow, 2014)*, Boechera stricta* (Rojek vd., 2018)*, Brassica jordanoffii* (Yankova-Tsvetkova vd., 2016) türlerinde de benzer şekilde tetrad oluşumu görülmüştür. *Iberis saxatilis* subsp. *saxatalis*'de diploid popülasyonlarda tetrad oluşumu görülürken, triploid popülasyonda monad, diad, triad ve ara sıra poliad oluşumuna da rastlanmıştır (Yurukova-Grancharova vd., 2004).

Matthiola incana'da tetradlar genel olarak romboidal, dekusat ve tetrahedral şekilde görülmüştür. Brassicaceae familyasından *L. campestre, L. ruderale* (Yankova-Tsvetkova, 2018) ve *Boechera stricta* (Rojek vd., 2018), *Brassica jordanoffii* (Yankova-Tsvetkova vd., 2016) türlerinde tetradlar tetrahedral şeklindedir. *L. vesicarium'*da ise izobilateral şeklindedir (Chehregani & Sedaghat, 2009). *Biscutella laeviagata*'da çoğunlukla linear şekildedir ve T şeklinde tetradlar da görülmüştür (Kwiatkowska vd., 2020). *Iberis saxatilis* subsp. *saxatalis*'de ise genellikle tetrahedraldir ve izobilateral tetradlar da görülmüştür. Bu türdeki triploid popülasyonların anterlerinde tetrahedral, T-şekilli ve lineer tetradlara da rastlanmıştır

(Yurukova-Grancharova, 2004). Diploid *Cardamine* türlerinde sıklıkla tetrahedral ve nadiren izobilateral ve T şekli olarak görülürken, triploid *Cardamine×rhodopaea* melezinde farklı tipte mikrospor tetradları görülmüştür. Triploid türlerde oluşan farklı mikrospor tetradları, MAH'lerinde ve mikrosporogenezde mayoz sırasında meydana gelen anormalliklerden kaynaklanmaktadır (Ančev vd., 2013).

Matthiola incana'nın tetrad evresinde kallozun parçalanmaya başlaması ile ayrılan mikrosporlar serbest kalmaktadır. Tetradlardan yeni salınan mikrosporlar *Lepidium vesicarium*'da da olduğu gibi başlangıçta düzensiz bir şekle sahiptir, yoğun bir sitoplazması ve merkezi nukleusu bulunmaktadır (Chehregani & Sedaghat, 2009). Bu evrede mikrosporların etrafında henüz ekzin gelişmemiştir. Daha sonra mikrosporların hücre çeperlerinde ekzin oluşumu başlamaktadır. Hücre çeperi buruşuk bir görünüme sahiptir. Hücrenin bir kenarında büyük bir vakuol geliştikçe, başlangıçta merkezde olan nukleus sitoplazma ile beraber hücrenin diğer kenarına doğru hareket etmektedir. Geri kalan kısımda ise oldukça büyük bir vakuolün oluştuğu gözlenmiştir. Tetradtan ayrılan mikrosporlar lokustaki sıvıyı alarak şişerler ve bu aşamada mikrosporların tapetum hücrelerine yakın konumlandığı görülmektedir. Tapetum hücrelerinin dejenerasyonu bu evrede başlamakta ve tapetum içeriği anter lokusuna aktarılmaktadır. Tapetum dejenerasyonundan sonra mikrospor hücrelerinin hacimlerinde artış görülmektedir.

Matthiola incana'nın polen mitozundaki mikrosporlarda belirgin bir polarite vardır. Polen mitozu sonunda çepere yakın olan nukleusun generatif hücreyi, diğer nukleusun ise vejetatif hücreyi oluşturduğu gözlenmiştir. *Matthiola incana'*da mikrogametogenez daha önce meydana gelen evrelerde olduğu gibi büyük ölçüde düzenli gerçekleşmiştir. Yalnız bazı mikrosporlarda, anafaz evresinde kromozom köprüsü tespit edilmiştir.

Çalışma materyalimiz *M. incana*'nın olgun polen taneleri, Brassicaceae üyelerinden; *L. campestre, L. ruderale'*de (Yankova-Tsvetkova vd., 2018) ve *I. saxatilis* subsp. *saxatilis*'de (Yurukova-Grancharova vd., 2004) olduğu gibi anterden atılırken 2 hücrelidir. Ancak *Biscutella laevigata* (Kwiatkowska vd., 2020), *Brassica jordanoffii* (Yankova-Tsvetkova vd., 2016) ve *Lepidium vesicarium*'da (Chehregani & Sedaghat, 2009) ise olgun polen taneleri 3 hücrelidir.

Matthiola longipetala subsp. *bicornis*'te ise polen tanelerinin monad olduğu belirlenmiştir (Çıtak, Dural & Gönen, 2016). *M. incana* polen taneleri de aynı şekilde monad olarak görülmektedir.

Matthiola incana'nın olgun polen taneleri diğer bütün *Matthiola* türlerinde olduğu gibi trikolpattır. *Matthiola incana* türünde ekzin ornemantasyonu (skulptur) retikulat, polen şekli sferoidal olarak görülmüştür. Daha önce *Matthiola'*nın farklı türlerinde de polen morfolojileri karakterize edilmiştir. *Matthiola longipetala* subsp. *bicornis*'te ekzin ornamentasyonu retikulat, polen şekli prolat-sferoidal olarak kaydedilmiştir (Çıtak vd., 2016). *Matthiola sinuata* (L.) R.Br'de polen şekli sferoidal ve ekzin ornamentasyonu retikulat olarak belirlenmiştir (Olgaç, 2014). *Matthiola anchoniifolia* Hub. -Mor. türünde ise polen tanelerinin şekli prolat ve ekzin kabaca retikulattır (Tekin, Yılmaz & Martin, 2013). Tekin vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Matthiola anchoniifolia* Hub. -Mor.'un polen morfolojisi incelenmiş ve diğer Matthiola türleri ile karşılaştırılmıştır. *M. arabica* Boiss, *M. fruticulosa* (L.) Maire, *M. longipetale* (Vent.) DC subsp. *longipetale* türlerinde polen şekli prolat, *M. parviflora* (Schousb.) R. Br.'da ise subprolattır. Ekzin ise bu çalışmada karşılaştırılan bütün *Matthiola* türlerinde kabaca retikulattır. Yapılan çalışmalardan elde edilen verileri karşılaştırdığımızda, *Matthiola* cinsinde farklı türlerin polen şekillerinin genellikle benzerlik gösterdiği ve ekzin yüzeyinin genellikle retikulat yani girintili çıkıntılı bir görünüme sahip olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda *M. incana* için polen canlılığı %99,8 olarak hesaplanmıştır. Farklı bir çalışmada çeşitli *M. incana* kültivarları test edilmiş ve polen canlılığı ortalamaları % 82.1 - % 98.9 arasında tespit edilmiştir (Irani & Arab, 2017). Bu sonuçlar bize *M. incana* türünde fertilite oranının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Ranjbar vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, Brassicaceae familyasına ait *Fibigia* cinsinden alınan anterler, polen verimliliği açısından analiz edilmiş ve karşılaştırılan popülasyonlarda, polen canlılığı oranlarının %77,29-99,70 arasında olduğu saptanmıştır. Yine Brassicaceae familyasından olan *Lepidium sativum* L. ve *Thlaspi arvense* L. türlerinde polen canlılığı incelenmiş ve *Lepidium sativum*'un iki kültivarında sırasıyla %93 - %100, *Thlaspi arvense*'de ise %100 olarak tespit edilmiştir (Gupta, Kumar, Gupta R. & Singhal 2018). *Biscutella laevigata*'nın iki

farklı kültivarında polen canlılığı yüzdeleri sırasıyla %98 ve %87 olarak bulunmuştur (Kwiatkowska vd., 2020).

Kwiatkowska ve Izmailow (2014) tarafından yapılan bir çalışmada ağır metallerin polen çimlenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Ağır metal kirliliği görülmeyen alanda yetişen Brassicaceae familyasından *Cardaminopsis arenosa* (L). Hayek'te polen canlılığı %98 olarak belirlenirken, ağır metal kirliliği görülen iki farklı alanda yetişen bitkilerde ise polen canlılığı %95 (Boleslow) ve %92.5 (Bukowno) olarak kaydedilmiştir. *Cardaminopsis arenosa*'da erkek hatların dişi olanlara göre daha dirençli olduğu ve çok yüksek frekansta canlı polen ürettiği tespit edilmiştir (Kwiatkowska & Izmailow, 2014).

Brassicaceae familyasından farklı türler ile yapılan polen canlılığı çalışmalarından elde edilen bulgular, *M. incana'*da elde ettiğimiz polen canlılığı bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Çalışma materyalimizde düşük oranda steril polen tanesi, az sayıda mayotik düzensizlik ve normal bir tapetum gelişimi görülmüştür. Çalışmamızda az sayıda mayotik düzensizlik saptanmıştır. Bunlar da sterilite oranına etki edebilmektedir. Brassicaceae familyasında özellikle de *Matthiola* cinsinde kaydedilen yüksek polen canlılığı oranları, birçok türün çevresel faktörlere dayanıklı olduğunu göstermektedir ve bitki ıslahı çalışmaları açısından bu önemli bir özelliktir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında *Matthiola incana*'nın erkek gametofit gelişim evrelerinde bazı sitolojik ve embriyolojik özellikleri açıklanmaya çalışılmıştır. Elde edilen veriler hem *Matthiola incana* türünün üreme biyolojisinin ortaya çıkarılmasına hem de türün taksonomik özellikleri ile ilgili yapılan araştırmalara katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Ahmadi Hesar, A., Kaviani, B., Hashemabadi, D., Tarang, A. R., Bohlooli Zanjani, S., & Ansari, M. H. (2015). *Matthiola incana* micropropagation using shoot tips and callus induction derived from lamina explants and rooting capacity from callus. *Journal of Ornamental Plants*, *1*(3), 129-136.

Alexander, M.P. (1969). Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technology*, 44, 117-122.

Allen, I. M. (1924). The cytology of *Matthiola incana* with reference to the genetics of certain cultivated varieties. *New Phytologist, 23*(2), 103-112.

Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A. & Kellogg, E. A. (2006). Systematics and Phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): An overview. *Plant Systematics and Evolution*, *259*, 89–120.

Al-Shehbaz, I. A. (2012). A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). *Taxon*, *61*(5), 931-954.

Ančev, M., Yurukova-Grancharova, P., Ignatova, P., Goranova, V. & Stoyanov, S. (2013). *Cardamine* × *rhodopaea* (Brassicaceae), a triploid hybrid from the West Rhodope Mts: Morphology, distribution, relationships and origin. *Phytologia Balcanica: International Journal of Balkan Flora and Vegetation, 19*, 323-338.

Barchi, M., Cohen, P. & Keeney, S. (2016). Special issue on "recent advances in meiotic chromosome structure, recombination and segregation". *Chromosoma, 125*, 173-175.

Bizim Bitkiler® (2020). Version 3.1. Published on the Internet; http://www.bizimbitkiler.org.tr/v3/demo/details.php?id=4173 (accessed 24th November).

Chehregani, A. & Sedaghat, M. (2009). Pollen grain and ovule development in *Lepidium vesicarium* (Brassicaceae). *International Journal of Agriculture and Biology, 11*, 601–605.

Conti P. (1900) Les espèces du genre Matthiola. *Mémories de I'Herbier Boissier, 1*(18), 1-86.

Cullen, J. (1965). *Matthiola* W.T. Aiton. In: Davis, P. H. (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean IsIands*. Edinburgh Univ. Press, Edinburgh.

Çelikel, F. G., & Reid, M. S. (2002). Postharvest handling of stock (*Matthiola incana*). *HortScience*, *37*(1), 144-147.

Çıtak, B., Dural, H. & Gönen, B. (2016). Selçuk Üniversitesi Alâeddin Keykubat Kampüsü'nde Yayılış Gösteren Bazı Bitkilerin Polen Morfolojileri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi, 42*(1), 42-56.

Davis, G. L. (1966). *Systematic Embryology of the Angiosperms.* John Wiley & Sons Inc. New York.

Dirmenci, T., Satıl, F. & Tümen, G. (2006). A new species of *Matthiola* R.Br. (Brassicaceae) from Turkey. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *151*, 431–435.

Ecker, R., Yaniv, Z., Zur, M. & Shafferman, D. (1992). Embryonic heterosis in the linolenic acid content of *Matthiola incana* seed oil. *Euphytica, 59*, 93-96.

Ecker, R., Barzilay, A., & Osherenko, E. (1993). Linkage relationships of genes for leaf morphology and double flowering in *Matthiola incana*. *Euphytica*, *74*(1-2), 133-136.

Edger, P. P., Tang, M., Bird, K. A., Mayfield, D. R., Conant, G., Mummenhoff, K., Koch, M.A. & Pires, J.C. (2014). Secondary structure analyses of the nuclear rRNA internal transcribed spacers and assessment of its phylogenetic utility across the Brassicaceae (Mustards). *PLoS One. 9*(7), e101341.

Eid, A. R., Awad, M. N. & Hamouda, A. (2009). Evaluate effectiveness of bio and mineral fertilization on the growth parameters and marketable cut flowers of *Matthiola incana* L. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 5*(4), 509-518.

Epping, B., Kittel, M., Ruhnau, B., & Hemleben, V. (1990). Isolation and sequence analysis of a chalcone synthase cDNA of *Matthiola incana* R. Br. (Brassicaceae). *Plant Molecular Biology*, *14*(6), 1061-1063.

Forkmann, G. (1977). Precursors and genetic control of anthocyanin synthesis in *Matthiola incana* R. Br. *Planta, 137*, 159-163.

Forkmann, G., Heller, W. & Grisebach, H. (1980). Anthocyanin biosynthesis in flowers of *Matthiola incana* flavanone 3- and flavonoid 3'-hydroxylases. *Zeitschrift für Naturforschung*, *35*c, 691-695.

Gabe, M. (1968). Détection histochimique des glucides. *Techniques histologiques*. *Paris; Masson et Cie*, 409-411.

Gautam, V. K., Mittal, A., Nanda, K., & Gupta, S. C. (1983). *In vitro* regeneration of plantlets from somatic explants of *Matthiola incana*. *Plant Science Letters*, *29*(1), 25-32.

Ghaffari, S. M. (2006). New or rare chromosome counts of some angio- sperm species from Iran. *Iranian Journal of Botany, 11*, 185-192.

Gupta, H., Kumar, R., Gupta, R. C. & Singhal, V. K. (2018). New chromosome counts and evolutionary tendencies in some dicots analyzed from Parvati Valley, Kullu district, Himachal Pradesh. *Caryologia, 71*(3), 1-25.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., (edlr.), (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.

Hall, J. C., Sytsma, K.K. & Iltis, H. H. (2002). Phylogeny of Capparaceae and Brassicaceae based on chloroplast sequence data. *American Journal of Botany, 89*(11), 1826–1842.

Heller, W., Britsch, L., Forkmann, G., ve Grisebach, H. (1985a). Leucoanthocyanidins as intermediates in anthocyanidin biosynthesis in flowers of *Matthiola incana* R. Br. *Planta*, *163*(2), 191-196.

Heller, W., Forkmann, G., Britsch, L., & Grisebach, H. (1985b). Enzymatic reduction of (+)-dihydroflavonols to flavan-3, 4-cis-diols with flower extracts from *Matthiola incana* and its role in anthocyanin biosynthesis. *Planta*, *165*(2), 284-287.

Hemleben, V., Dressel, A., Epping, B., Lukačin, R., Martens, S., & Austin, M. (2004). Characterization and structural features of a chalcone synthase mutation in a white-flowering line of *Matthiola incana* R. Br. (Brassicaceae). *Plant Molecular Biology*, *55*(3), 455-465.

Hickman, J. C. (1993). *The Jepson Manual: Higher Plants of California*. University of California Press, 1-1400.

Heywood, Y. H. (1993). *Flowering Plants of the World.* Oxford Univ. Press, New York.

https://www.evanthia.nl/en/products/snijbloemen/matthiola-incana-stock

Irani, S. F., Arab, M., Norouzi, M. & Lotfi, M. (2016). Genetic Diversity of Stock (*Matthiola incana* L.) Cultivars Based on Cytogenetic Characteristics. *Asian Journal of Advanced Basic Sciences*, *4*(2), 65-73.

Irani, S. F. & Arab, M. (2017). Meiotic behaviour and morpho-phenological variation in cut stock (*Matthiola incana* L.) flower. *Folia Horticulturae*, *29*(1), 51-61.

İnce, H. (1989). *Bitki preperasyon teknikleri*. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, *127*, 73-76.

Jensen, W. A. (1962). *Botanical Histochemistry*. W. H. Freeman and Company, San Francisco.

Johansen, D. A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.

Johnson, B. L. (1953). Evidence for irregularity in crossing over of the S locus in the eversporting type of *Matthiola incana* (L.) R. Br. *Genetics*, *38*(3), 229.

Kaviani, B. (2014). Micropropagation of ten weeks (*Matthiola incana*) and lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) (two ornamental plants) by using kinetin (KIN), naphthalene acetic acid (NAA) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 13*(1), 141-154.

Kaviani, B., Hesar, A. A. & Kharabian-Masouleh, A. (2011). *In vitro* propagation of *Matthiola incana* (Brassicaceae)-an ornamental plant. *Plant Omics Journal, 4*(7), 435-440.

Khalik, K. A., Van Den Berg, R. G., Van Der Maesen, L. J. G. & El Hadidi, M. N. (2002). Pollen morphology of some tribes of Brassicaceae from Egypt and its systematic implications. *Feddes Repertorium, 113*, 211–223.

Kew Backbone Distributions (2020). The International Plant Names Index and World Checklist of Selected Plant Families. Published on the Internet at http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:286910-1#source-KBD (accessed 24th November).

Koch, M. A., Dobeš, C., Kiefer, C., Schmickl, R., Klimeš, L., & Lysak, M. A. (2006). Supernetwork identifies multiple events of plastid trn F (GAA) pseudogene evolution in the Brassicaceae. *Molecular Biology and Evolution*, *24*(1), 63-73.

Kwiatkowska, M. & Izmailow, R. (2014). Ovules, female gametophytes and embryos are more sensitive to heavy metal pollution than anthers and pollen of *Cardaminopsıs arenosa* (L.) Hayek (Brassicaceae), a member of Calamine flora. *Acta Bıologıca Cracoviensia Series Botanica, 56*(1), 128−137.

Kwiatkowska, M., Kłosowska, K. & Kurczyńska, E. U. (2020). Germline development and seed set of metallophyte *Biscutella laevigata* L. (Brassicaceae). *Flora*, 151752.

Martin, E., Duran, A. & Dirmenci, T. (2007). Karyotype of *Matthiola trojana* (Brassicaceae), a recently described endemic from Turkey. *International Journal of Botany, 3*(2), 222-225.

Martin, E., Yılmaz, G. & Tekin, M. (2013). Karyology of endemic *Matthiola anchoniifolia* Hub.-Mor. (Brassicaceae) in Turkey. *Caryologia, 66*, 293–295.

Martin, E., Ünal, M., Doğan, B., Altınordu, F., Sefalı, A., & Kaya, A. (2016). Karyotype analyses of the genus *Matthiola* (Brassicaceae) in Turkey. *Cytologia*, *81*(1), 53-60.

Mclean, R. C. & Cook, W. R. I. (1941). *Plant Science Formulae*. Macmillan and Co., Limited, London.

Mustafavi, S. H., Badi, H. N., Sękara, A., Mehrafarin, A., Janda, T., Ghorbanpour, M. & Rafiee, H. (2018). Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. *Acta Physiologiae Plantarum, 40*, 102.

Olgaç, E. (2014). *Matthiola Sinuata* (L.) R. Br. Üzerinde Morfolojik, Palinolojik ve Karyolojik Araştırmalar (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Ozban, N. & Özmutlu, Ö. (1991). *Mikropreperasyon Yöntemleri*. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No:221. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul.

Pacini, E. & Juniper, B. J. (1984). The ultrastructure of pollen grain development in *Lycopersicum peruvianum*. *Caryologia, 37*, 21-25.

Pacini, E. & Viegi, L. (1995). Total polysaccharide content of developing pollen in two angiosperm species. *Grana, 34*, 237-241.

Ranjbar, M., & Karami, S. (2013). Meiotic chromosome number and behavior of *Matthiola shehbazii* sp. nov. (Brassicaceae, Anchonieae) from central Iran. *Nordic journal of botany*, *32*(6), 713-716.

Ranjbar, M., Karami, S. & Rostami, M. (2014). Cytogenetic study and meiotic behaviour on 13 populations of *Fibigia* (Brassicaceae) in Iran, *Webbia*, *69*(2), 269-280, DOI: 10.1080/00837792.2014.969532.

Riley, H. P. (1948). *Genetics and Cytogenetics*. New York.

Rojek, J., Kapusta, M., Kozieradzka-Kiszkurno, M., Majcher, D., Górniak, M., Sliwinska, E., Sharbel, T.F. & Bohdanowicz, J. (2018). Establishing the cell biology of apomictic reproduction in diploid *Boechera stricta* (Brassicaceae). *Annals of Botany,122*, 513-539.

Saito, N., Tatsuzawa, F., Nishiyama, A., Yokoi, M., Shigihara, A., & Honda, T. (1995). Acylated cyanidin 3-sambubioside-5-glucosides in *Matthiola incana*. *Phytochemistry, 38*(4), 1027-1032.

Shanan, N. T. & Higazy, A. M. (2009). Integrated biofertilization management and cyanobacteria application to ımprove growth and flower quality of *Matthiola incana. Agriculture and Biological Sciences, 5*(6), 1162-1168.

Snow, R. (1925). Germination tests with pollen of stocks. *Journal of Genetics*, *15*(2), 237-243.

Spribille, R. & Forkmann, G. (1981). Genetic control of chalcone synthase activity in flowers of *Matthiola incana* R. Br. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *36*(7-8), 619-624.

Su, J., Wang, W., Zhang L. & Chen Z. (2012). Phylogenetic placement of two enigmatic genera, *Borthwickia* and *Stixis*, based on molecular and pollen data, and the description of a new family of *Brassicales*, *Borthwickiaceae. Taxon, 61*(3), 601–611.

Tekin, M., Yılmaz, G. & Martin, E. (2013). Morphological, anatomical and palynological studies on endemic *Matthiola anchoniifolia* Hub. -Mor. (Brassicaceae). *Notulae Scientia Biologicae*, *5*(2), 163-168.

Ünal, M. (1983). Correlation between pollen stainability and pollen viability. *Doğa Seri A*, *7*(3), 572-574.

Yankova-Tsvetkova, E., Yurukova-Grancharova, P. & Vladimirov, V. (2016). On the embryology of *Brassica jordanoffii* (*Brassicaceae*) – an endemic species in the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica, 22*(2), 149-153.

Yankova-Tsvetkova, E., Semerdjieva, I. B., Nikolova, R. & Zheljazkov, V. D. (2018). On the embryology of two species of genus *Lepidium* (Brassicaceae), *HortScience*, *53*(4), 582-588.

Yurukova-Grancharova, P., Anchev, M. & Goranova, V. (2004). Embryological study on diploid and triploid populations of *Iberis saxatilis* subsp. *saxatilis* (Brassicaceae) in the Bulgarian flora. *Phytologia Balcanica, 10*(1), 69–78.

Yücel, E. (2002). *Türkiye'de Yetişen Çiçekler ve Yerörtücüler I*. Etam Matbaa Tesisleri, Eskişehir.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Nazlıcan Çolak

Doğum yeri, tarihi: İstanbul, 11/07/1994

Medeni hali: Bekar

Adres: Gökalp Mah. 47/1 Sokak, No:16 Daire:7, 34020, Zeytinburnu/İSTANBUL

e-mail: nazlican.colak@hotmail.com

EĞİTİM

Ziya Gökalp İlköğretim Okulu/İSTANBUL

Haluk Ündeğer Lisesi/ İSTANBUL

Lisans

Trakya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Öğretmenliği/EDİRNE (Haziran - 2016)

Yüksek Lisans

Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Genetik A.B.D. (Disiplinlerarası)

2016-2017 yılları arasında İstanbul TOKİ Seyitnizam İmam Hatip Ortaokulunda ve 2019-2020 yılları arasında Yöntem Özel Öğretim Kursu'nda Fen Bilgisi öğretmeni olarak görev aldım.