

**ÇAVUŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNDE TOHUM TASLAKLARI
VE EMBRİYO GELİŞİMİ İLE BOŞ ÇEKİRDEKLİLİK
ARASINDAKİ İLİŞKİLER ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

Birhan MARASALI

**Doktora Tezi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı**

**1992
ANKARA**

22808

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇAVUŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNDE TOHUM TASLAKLARI VE EMBRİYO GELİŞİMİ
İLE BOŞ ÇEKİRDEKLİLİK ARASINDAKİ İLİŞKİLER ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR

Birhan MARASALI

DOKTORA TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 20/02/1992 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından 100 (Yüz) Not Takdir Edilerek Oybirliği / Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.



Prof. Dr. Hasan ÇELİK
Danışman



Prof. Dr. Y. Sabit AĞAOĞLU



Prof. Dr. Fevzi ECEVİT

ÖZET

Doktora Tezi

ÇAVUŞ ÜZÜM ÇEŞİDİNDE TOHUM TASLAKLARI VE EMBRİYO GELİŞİMİ İLE BOŞ ÇEKİRDEKLİLİK ARASINDAKİ İLİŞKİLER ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Birhan MARASALI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Hasan ÇELİK

1992, Sayfa: 93

Jüri : Prof.Dr. Hasan ÇELİK
Prof.Dr.Y.Sabit AĞAOĞLU
Prof.Dr.Fevzi ECEVİT

Bu araştırmada, fonksiyonel dişi çiçek yapısının yanısıra çekirdeklerinin son derece düşük çimlenme özelliği nedeniyle boş çekirdekli bir üzüm çeşidi olarak bilinen ve bu iki önemli olumsuz özelliği nedeniyle melezleme ıslahı çalışmalarında üstün sofralık özelliklerinden ancak sınırlı ölçüde yararlanılabilen Çavuş üzüm çeşidinde, tohum taslakları ve embriyo gelişimi ile boş çekirdeklilik arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Bu amaçla Çavuş üzüm çeşidinin ülkemiz standartlarına girmiş en önemli tipi olan Bozcaada Çavuşu'nun klon adayları üzerinde çalışılmıştır. Ayrıca normal gelişmiş tohum taslakları ile karşılaştırma yapmak amacıyla çeşidin orijinal ekolojisi olan Bozcaada'da dölleyici olarak kullanılan Karasakız üzüm çeşidinde dişi gametofitin gelişmesi kontrol olarak izlenmiştir.

Tohum taslakları ve embriyonun anatomik yapısı ve gelişimi serbest tozlanmaya bırakılan Çavuş ve kendilenen Karasakız genotiplerinde çiçek kömeçlerinin braktelerden ayrılmasından başlayarak sekiz gelişme dönemi halinde; Çavuş x Karasakız genotiplerinde ise tam çiçeklenmeden itibaren beş gelişme dönemi halinde parafin metodu ile incelenmiştir.

Çavuş üzüm çeşidinde farklı gelişme dönemlerine ait olmak üzere tohum taslaklarında beş farklı dejenerasyon tipi belirlenmiştir. Bunlardan zigotun vakuolizasyona uğrayarak bölünemediği dejenerasyon tipi ile embriyo hücrelerinin düzensiz bir bölünme gösterdiği dejenerasyon tipinin, boş çekirdekliliğe neden olduğu kabul edilmiştir. Serbest ve Karasakız ile tozlanan Çavuş örneklerinin tohum taslaklarında zigot dejenerasyonunun görülme oranı sırasıyla %1.12 ve %0.83 iken, embriyo dejenerasyonunun görülme oranı sırasıyla %7.70 ve %4.38 olarak bulunmuştur.

Araştırmada tozlayıcı çeşitlerin Çavuş çekirdeklerinin çimlenme yetenekleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan altı tozlayıcı çeşidin (Karasakız, Amasya Beyazı, Hafızali, Hamburg Misketi, Kozak Beyazı ve Yapıncak) bu yönde önemli bir etkilerinin bulunmadığı görülmüştür. İki yıla ait sonuçların ortalaması olarak son derece düşük olan çimlenme oranlarına ait en düşük değer Çavuş x Amasya Beyazı tohumlarından (%1.26), en yüksek değer ise Çavuş x Karasakız tohumlarından (%7.93) elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Vitis vinifera* L., Çavuş üzüm çeşidi, tohum taslağı, embriyo, megasporogenez, megagametogenez, embriyogenez, boş çekirdeklilik, zigot dejenerasyonu, çekirdek, çimlenme.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

**OVULE AND EMBRYO DEVELOPMENT OF CHAOUCH CV.
IN RELATION TO EMPTY-SEEDEDNESS**

Birhan MARASALI

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof.Dr. Hasan ÇELİK

1992, Page : 93

Jury : Prof.Dr. Hasan ÇELİK

Prof.Dr.Y.Sabit AĞAOĞLU

Prof.Dr.Fevzi ECEVİT

Ovule and embryo development of Chaouch which is the most popular white table grape variety in Türkiye were, examined in relation to empty-seededness. Although it has a superior table grape quality, Chaouch is of minor importance in cross-breeding studies because of its both functionally female flowers and empty seeds which have abortive embryos at 99.5%.

Different types of Chaouch (Bozcaada, White, Aromatic, Rose) were still grown in different regions of Türkiye. This study was carried on the candidate clones of Bozcaada Chaouch cv., which were selected by Tekirdağ Viticulture Research Institute, and widely grown on Bozcaada, as a symbol of the island. The female gametogenesis of Karasakız cultivar which is a unique pollinator cultivar of Chaouch cv. on Bozcaada and having normal ovule development, was studied as control.

Ovule and embryo development were examined by paraffin method, using flower and seed samples taken from consecutive stages of development. Eight growth stages, beginning with the separation of the inflorescences from the bracts in self-pollinated Chaouch and open-pollinated Karasakız, and five stages after anthesis in Chaouch x Karasakız hybridization, were studied.

Five different degeneration types were determined in the ovules of Chaouch, and two of those, undivided zygote (zygote degeneration) and irregular division of embryogenic cells (embryo degeneration) were considered as the reason of empty-seededness. In open and cross-pollinated Chaouch ovules, zygote degeneration rates were found to be at 1.12% and 0.83%, while the rates of embryo degeneration were at 7.70% and 4.38%, respectively.

The germination abilities of hybrid Chaouch seeds obtained by controlled crossing with Karasakız, Amasya Beyazı, Hafızali, Muscat of Hamburg, Kozak Beyazı and Yapıncak were also very low. These results indicate that the pollinator varieties have no significant effect in increasing the germination ability. The lowest and the highest germination rates were 1.26% and 7.93% as the averages of two-year trials in the hybrids with Amasya Beyazı and Karasakız, respectively.



KEY WORDS : *Vitis vinifera* L. cvs., Chaouch cv., embryo, megasporogenesis, megagametogenesis, embryogenesis, empty-seededness, zygote degeneration, embryo abortion, seed, seed germination.

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında yakın ilgisi, yönlendirici katkıları ve çok değerli yardımları için danışman hocam Sayın Prof.Dr. Hasan ÇELİK'e (A.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara) teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Doktora tezimin yürütülmesi ve yazımı aşamasında yakın ilgi ve yapıcı önerilerini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof.Dr. Yılmaz FİDAN'a (A.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı Başkanı, Ankara); ve Sayın Prof.Dr. Y.Sabit AĞAOĞLU'na (A.Ü. Ziraat Fakültesi Dekan Yardımcısı, Ankara) şükranlarımı sunarım.

Bir bölümü Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilen çalışmalarım sırasında Müdür olarak görev yapan ve kuruluşun tüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Sayın Cemal BARIŞ'a (Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürü, Yalova); örneklerin alınması safhasında büyük yardımlarını gördüğüm Ziraat Yüksek Mühendisi Mehmet Settar ÜNAL'a (Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Tekirdağ) ve bu kuruluştaki görevli diğer Ziraat Mühendisleri ile tüm görevlilerine;

Araştırmanın ağırlıklı bölümünü oluşturan sitolojik yöntemlerin geliştirilmesi aşamasında yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşım Yard.Doç.Dr. Fatih TOPÇUOĞLU'na (İnönü Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü, Malatya); laboratuvar tekniklerinin uygulanması sırasında büyük bir özveri ile zaman ayıran ve yardım eden değerli arkadaşım Araş.Gör. Nurhan BAKAR'a (A.Ü. Fen Fak. Biyoloji Bölümü, Ankara); mikroskoptan fotoğrafların çekilmesi sırasında karşılaştığımız güçlükleri aşmamızı sağlayan hocam Sayın Doç.Dr. Cihat TOKER'e (A.Ü. Fen Fak. Biyoloji Bölümü, Ankara) ve çalışmalarımda kullandığım bazı literatürleri yurt dışından sağlayan değerli arkadaşım Yard.Doç.Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ'e (A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara);

Tez çalışmalarım süresince ilgi ve desteklerini gördüğüm A.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ndeki tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma; tez projesini mali yönden destekleyen Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü'ne; yazım ve basım işlemlerini titizlik ile gerçekleştiren değerli arkadaşlarım Mücahit ÖZKAYA'ya, Müberra ÖZDEMİR'e ve Sami ZÜNBÜL'e teşekkür ederim.

Ayrıca maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyerek beni daima daha ileriye yönlendiren çok değerli aileme özellikle teşekkür ederim.



SİMGELER ve KISALTMALAR

μm	: Mikron
an	: Antipot hücresi
ah	: Apikal hücre
bh	: Bazal hücre
di	: Dış integüment
eç	: Serbest endosperm çekirdeği
epç	: Endosperm primer çekirdeği
ii	: İç integüment
m	: Megaspor
ma	: Megaspor ana hücresi
pç	: Polar çekirdek
sç	: Sekonder çekirdek
sn	: Sinerjit hücresi
y	: Yumurta hücresi
z	: Zigot
K	: Karasakız
Çs	: Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu
ÇxK	: Bozcaada Çavuşu x Karasakız
ÇxAB	: Bozcaada Çavuşu x Amasya Beyazı
ÇxHA	: Bozcaada Çavuşu x Hafızali
ÇxHM	: Bozcaada Çavuşu x Hamburg Misketi
ÇxKB	: Bozcaada Çavuşu x Kozak Beyazı

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

(Proje No : 88-25-00-35)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1.GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Tohum Taslaklarının Anatomik Yapısı	4
2.1.1. Kusursuz tohum taslağı oluşumunun meyve tutumu ve çekirdek gelişimi üzerine etkileri.....	7
2.1.2. Kusurlu tohum taslağı oluşumunun meyve tutumu ve çekirdek gelişimi üzerine etkileri.....	9
3. MATERYAL VE METOD.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Metod.....	15
3.2.1. Mikroteknik Metodlar.....	18
3.2.1.1. Örneklerin alınması ve tespit edilmesi.....	18
3.2.1.2. Kesite hazırlama.....	19
3.2.1.3. Kesit alma.....	23
3.2.1.4. Kesitlerin boyanması.....	23
3.2.1.5. Sabit preparatların hazırlanması.....	24
3.2.1.6. Preparatların incelenmesi.....	24
3.2.2. Çekirdeklerin çimlendirilmesi.....	24
4. SONUÇLAR.....	25
4.1. Tohum Taslakları ve Embriyonun Gelişimi.....	25
4.1.1. Kendilenen Karasakız üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun gelişimi.....	25
4.1.2. Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun gelişimi.....	43
4.1.3. Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun gelişimi.....	60

4.2. Dişi Gametofitte Belirlenen Gelişme Bozuklukları ile Boş Çekirdeklik Arasındaki İlişkiler.....	72
4.3. Gelişme Dönemleri İtibariyle Tohum Taslaklarının Boyutlarındaki Gelişmeler.....	74
4.4. Tohumların Çimlenmesi İle Boş Çekirdeklik Arasındaki İlişkiler.....	78
5. TARTIŞMA.....	81
KAYNAKLAR.....	87



1. GİRİŞ

Tohumlu yüksek bitkilerde generatif gelişmenin son ürünü olan ve tohum taslağından oluşan çimlenme yeteneğindeki olgun bir tohum, döllenmiş yumurta hücrelerinin yani diploid zigotun oluşturduğu embriyo ile bunu çevreleyen ve embriyo kesesi sekonder çekirdeğinin döllenmesi sonucu oluşan triploid endosperm çekirdeğindeki bölünmelerle meydana gelen endosperm ve bütün bu yapıların etrafını çevreleyen integümentlerin oluşturduğu sert tohum kabuğundan ibarettir (Weiwer ve ark. 1974).

Angiosperm'lerde genel olarak tohum, olgunlaşmasının son döneminde bitkiden herhangi bir nedenle ayrıldıktan sonra, gerçek dinlenmeye giren türlerde embriyogenik gelişme ile çimlenme, geçici bir periyot olan dinlenme ile ayrılmaktadır. Uygun koşullar sağlandığında ise çimlenme olayı meydana gelmektedir (Finkelstein ve Crouch 1984).

Bütün yüksek bitkilerde olduğu gibi, asmada da çok zengin olan genetik varyasyonun ortaya çıkmasında, heterozigot yapıdaki tohumun açılımı önemli bir rol oynamıştır. Dünya üzerinde çok farklı iklim kuşaklarına adapte olmuş nadir bitkilerden birisi olan asmanın yüksek oranda ve sürekli olarak yabancı döllenmesi sonucu ortaya çıkan heterozigotik kalıtsal yapı, tohumdan elde edilen fertler arasında büyük genetik farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu özelliği sebebiyle tohum, asmanın çoğaltılmasında pratik bir değer taşımamakla birlikte ister kendileme ister yabancı tozlanma ve döllenme sonucunda meydana gelsin, melezleme ürünü olan tohumların mümkün olan en yüksek oranda çimlenmesi ıslah çalışmaları için büyük önem taşımaktadır.

Bağcılıkta ıslah çalışmaları esas olarak XIX. yüzyılın ikinci yarısında Amerikan kökenli önemli bağ hastalıkları (1852'de Külleme, 1878'de Mildiyö ve 1885'de Siyah Kök Çürüklüğü) ve ardından Filoksera'nın (1863) Avrupa bağlarına bulaşması ve çok kısa bir sürede bu kıtada yerli bağcılığı adeta yok olmanın eşiğine getirmesinden sonra, bu hastalık ve zararlılara dayanıklı anaç ve çeşitlerin elde edilmesine yönelik olarak önem ve hız kazanmıştır. Uzun süre özellikle bu amaca yönelik olarak sürdürülen asma ıslahı çalışmaları, zamanla gerek kullanılan teknikler gerekse de amaç yönünden büyük bir çeşitlilik kazanmıştır. Günümüzde asma ıslahı çalışmaları dayanıklılığın yanısıra,

cinsiyetin değiştirilmesi, erkenci, geci ve ekirdeksiz çeşitlerin elde edilmesi, yüksek verimli ve kaliteli çeşitlerin geliştirilmesi gibi değişik amaçlara yönelik olarak sürdürülmektedir.

Melezleme ile elde edilen tohumların her biri ümitvar birer fert olarak kabul edildiğinden, yeni bir bitkinin kökenini oluşturan embriyo ve gelişme yeri olan tohum taslaklarının anatomik yapısı ve gelişiminin bilinmesi ıslah çalışmaları açısından önemli olduğu gibi, tane tutumu ve gelişmesi üzerine olan etkileri sebebiyle yetiştirme tekniği bakımından da büyük önem taşımaktadır.

zm eşitlerinde tohum taslaklarının anatomik yapısı ve gelişme Şekilleri konusunda ilk detaylı çalışmalardan birisini gerçekleştiren **Pearson (1932)**, normal çekirdekli meyve tutumu dışında, kısmen veya tamamen ekirdeksiz gelişmeler olan stenospermokarpik ve partenokarpik tane tutumunun mekanizmasını büyük ölçüde açıklığa kavuştururken, **Stout (1936)** zm çeşitlerinde çekirdek ve tane gelişmesi ile ilişkili olarak altı ayrı tipte tohum taslağı oluşumunun söz konusu olduğunu belirtmiştir. Bunu izleyen yıllarda ise asma tür ve eşitleri üzerinde oldukça detaylı çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Asmalarda tohum taslaklarının anatomik yapısı ve gelişimi ile ilgili olarak dört farklı meyve tutum mekanizmasının varlığı kabul edilmektedir. Bunlar; 1- Normal çekirdekleri meydana getiren kusursuz tohum taslakları ve normal meyve tutumu, 2- Fonksiyonel embriyo kesesi oluştuğu halde iz halinde (rudimenter) ekirdek oluşturan tohum taslakları ve stenospermokarpik meyve tutumu, 3- Tohum taslağı ve embriyo kesesinin kısmen veya tamamen kusurlu yapısı nedeniyle çekirdek oluşturmeyen tohum taslakları ve buna bağlı olarak partenokarpik meyve tutumu, 4- Fonksiyonel embriyo kesesi oluştuğu halde boş çekirdek oluşturan tohum taslakları ve boş çekirdekli meyve tutumudur (**Winkler ve ark. 1974**).

Boş ekirdeklilik olayının mekanizması ise ilk olarak **Olmo (1934)** tarafından avuş zm çeşidinde ayrıntılı olarak incelenmiş ve olayın genetik yapıdan kaynaklanan kalıtsal bir özellik olduğu belirtilmiştir.

İri taneli, ince kabuklu, kendine özgü aroması ve nisbeten az çekirdekli oluşu ile son derece kaliteli sofralık bir üzüm çeşidi olan avuş, iek biyolojisi yönünden fonksiyonel dişi iekli (Morfolojik erdişi-fizyolojik dişi) bir çeşit olup, iek tozları mutlağa yakın oranlarda kısırır. İyi bir meyve tutumu ise ancak yabancı tozlanma ve

döllenme sonucunda meydana gelmektedir. (Oraman 1941, Özbek 1951, Dağlı 1962, Fidan 1969, Fidan ve Çelik 1980). Nitekim Çavuş üzüm çeşidinde yabancı tozlanma ve döllenme normal olarak gerçekleştiği halde, çimlenme gücünde olmayan ancak normal görünümü nedeniyle biyolojik olarak kusurlu bir durumun söz konusu olmadığını düşündüren boş çekirdeklerin meydana gelmesinin, tohum taslaklarında gelişmenin erken dönemlerinde ortaya çıkan embriyo aborsiyonu ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir (Olmo 1934).

Meyve kalitesi üzerinde olumsuz bir etki yaratmayan bu durum, çiçek biyolojisi nedeniyle çeşidin yalnız ana olarak kullanılabilmesi ıslah çalışmalarında elde edilen çekirdeklerin çok düşük bir oranda çimlenmesine neden olmakta ve melezlemelerden beklenen başarıyı büyük ölçüde azaltmaktadır.

Bu araştırma ile Olmo (1934) tarafından %99.5 oranında boş çekirdeklilik gösteren bir çeşit olarak tanımlanan Çavuş üzüm çeşidinin, ıslah programlarında daha etkili bir şekilde kullanılabilmesi amacıyla, tohum taslakları ve embriyo gelişimi ile boş çekirdeklilik arasındaki ilişkiler mikroteknik olarak araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Asmalarda çiçekler bileşik salkım üzerinde meydana gelirler ve çiçek salkımını oluşturan çiçek organ taslaklarının farklılaşması çiçeklerin açılmasından önceki yaz gelişme periyodunda ve kışlık gözler içerisinde gerçekleşmektedir. Böylece dinlenme döneminin başlangıcında salkım taslakları çiçek organ taslaklarını oluşturmuş bir halde dinlenmeye girmektedirler. Genel olarak dinlenme süresince hiç bir değişikliğin meydana gelmediği çiçek organ taslaklarının gelişmesi, ilkbaharda yapraklanma ile birlikte çiçeklerin çeşitli kısımlarını oluşturmak üzere yeniden hızlandığı ve sırasıyla kaliks, korolla, stamen ve pistilin farklılaştığı belirlenmiştir (İlter 1968, Fidan 1966, Aġaoġlu 1969). Gelişmenin ilerlemesiyle stamenler, filament ve anterleri oluşturmak üzere farklılaşırken, karpeller de pistil ve onun kısımlarını oluşturmak üzere birleşmekte ve bu gelişmelere paralel olarak anterlerde mikrosporogenez, ovaryumda ise tohum taslaklarının farklılaşmasıyla birlikte megasporogenez başlamaktadır (Winkler ve ark. 1974).

Aġaoġlu (1971), kaliksin ayırt edilmesiyle başlayan çiçek organlarındaki ilk farklılaşmanın Ankara koşullarında Hasandede ve Kalecik Karası üzüm çeşitlerinde Ağustos başında, Papaz Karası'nda ise Ağustos sonunda başladığını saptamıştır. Her üç üzüm çeşidinde de çiçek organlarının gelişmesi genel olarak sürme gerçekleşip çiçek somaklarının görülmesinden itibaren 10-15 gün içerisinde tamamlanmıştır.

Swanepoel ve Archer (1988), elektron mikroskobu ile yaptıkları çalışmalarında salkım taslaklarının ve çiçeklerin farklılaşma zamanı ve süresinin büyük ölçüde ekolojik faktörlere bağlı olduğunu ancak çiçek organlarındaki farklılaşma düzeninin değişmediğini, kaliks ve korollanın ayırımından sonra stamen ve pistilin geliştiğini belirlemişlerdir.

2.1. Tohum Taslaklarının Anatomik Yapısı

Tohumlu bitkilerde embriyo kesesinin gelişme yeri olan tohum taslağı (ovül), bir veya iki integüment ile çevrilmiş nusellus hücrelerinden ibaret olup, ovaryumun plasentasına funikulus ile bağlanmıştır. Tohum taslağının serbest ucunda integümentler arasında kalan açıklık "mikropil", integümentlerin funikulus ile birleştiği bölge ise "şalaza" olarak tanımlanmaktadır (Fahn 1974).

Aynı zamanda megasporangium olarak da adlandırılan tohum taslağı ilk evrelerde plasenta üzerinde konik bir çıkıntı şeklinde belirldikten sonra epidermiste periklinal bölünmelerle önce iç, sonra dış integümentler gelişmektedir (Yentür 1984).

Angiosperm'lerde olgun tohum taslakları gelişme şekillerine göre beş gruba (Atrop, Anatrop, Kampilotrop, Hemianatrop, Amfitrop) ayrılmakta olup, bunlar arasında bazı ara formlar da bulunmaktadır. Tohum taslaklarının farklılaşmasına paralel olarak devam eden dişi gametofitin anatomik gelişiminin ise fonksiyonel megasporun bölünme şekline bağlı olarak "monosporik", "bisporik" ve "tetrasporik" olmak üzere üç gruba ayrıldığı; megagametogenez sırasında bölünen çekirdeklerin sayısı ve polarizasyonuna bağlı olarak ise on farklı embriyo kesesi gelişme tipinin (Poligonum, Oenothera, Scilla, Peperomia, Panaea, Drusa, Fritillaria, Plumbagella, Plumbago ve Adoxa) bulunduğu belirtilmektedir (Maheshwari 1950; Battaglia 1951).

Angiosperm'lerin 11 cins ve 600 türünün dahil olduğu *Vitaceae* familyasına (Lawrence 1951) giren türlerden *Vitis trifolia* Linn., *Vitis latifolia* Roxb. ve *Vitis himalayana* Brandis.'nin çiçek morfolojisini araştıran Kashyap (1958), söz konusu türlerde ovaryumun her karpelinde anatrop tipte iki tohum taslağının yer aldığını belirlemiştir.

Benzer şekilde Nair ve Mani (1960), *Vitaceae* familyasına giren sekiz türde (*Cissus quadrangularis* Linn., *Cissus pallida* Planch., *Cissus carnososa* Roxb., *Cissus rependa* Vahl., *Cissus trilobata* Lamk., *Vitis lanata* Roxb., *Ampelocissus latifolia* Roxb. ve *Cayratia pedata* (Vahl.) Gagdep., çiçek organlarının orijini ve floral anatomisini karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar *Vitaceae* familyasına giren türlerin en önemli ortak özellikleri olarak üst durumlu ve birleşmiş karpellerden oluşan bir dişi organ ile parietal plasentalanma gösteren anatrop formda tohum taslaklarına sahip olmalarını göstermişlerdir. Bununla birlikte dişi organın morfolojik yapısı, sepallerin orijini ve birleşme şekilleri ile anterlerde mikrosporangiumların yapısı ve sayısı bakımından türler arasında farklılıklar olduğunu belirtmişlerdir.

Tohum taslağının nusellusunda diğer hücrelerden daha büyük ve bol sitoplazmalı oluşu ile ayırt edilen megaspor ana hücresinin embriyo kesesine dönüşümünün asmada "monosporik-poligonum" tipte olduğu belirlenmiştir (Barritt 1970). Megasporogenez sonucunda oluşan ve genellikle şalaza tarafında bulunan fonksiyonel bir megasporndan üç mitotik bölünme ile sekiz çekirdekli bir embriyo kesesinin meydana geldiği ve

çekirdeklerden üçünün şalazal kutupta (antipotlar), üçünün mikropilar kutupta (sinerjitler ve yumurta hücresi), ikisinin ise orta kısımda (polar çekirdekler) bulunacak şekilde polarize olduğu kese gelişim şekli monosporik-poligonum tip olarak tanımlanmaktadır (Johri 1984).

Negi ve Randhawa (1971) iyi gelişmiş tohum taslaklarına sahip Bhokri çeşidinde tohum taslakları ve embriyo kesesinin anatomik yapısını inceledikleri araştırmalarında, tohum taslağının iç integümentinin 3-4, dış integümentin ise 4-5 hücre sırasına sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, olgun embriyo kesesinde yumurta hücresinin mikropil tarafında bulunan ucunun dar, üst kısmının ise biraz daha geniş bir yapı gösterdiğini; buna karşılık sinerjit hücrelerinin kıvrık uçları ile kolaylıkla tanınabileceğini; antipot hücrelerinin ise çok kısa ömürlü olduklarını ileri sürmüşlerdir.

Asmalarda tohum taslağı ve embriyo kesesinin gelişimi üzerinde çok sayıda detaylı çalışmalar gerçekleştirmiş olan Kassemeyer ve Staudt (1981), Gewürtztraminer ve Weisser Burgunder (*Vitis vinifera* L.) çeşitleri ile Müller-Thurgau x *Vitis armata* melezlerinde çiçeklenmeden 14 gün önce tohum taslağında megaspor ana hücresinin geliştiğini ve bundan sonra yedi gün içerisinde mayoz bölünmenin gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Araştırmanın sonuçlarına göre şalazal megasporun mitoz bölünmesi ile meydana gelen poligonum tip embriyo kesesi çiçeklenmeden önce dölleme olgunluğuna ulaşmaktadır.

Diğer iki çalışmalarında döllemeden iki gün sonra endosperm primer çekirdeğinin embriyo kesesinin merkezine doğru göç ettiğini ve bundan sonra ilk bölünmelerin başladığını bildiren Kassemeyer ve Staudt (1982a, 1983), döllemeden 20-21 gün sonra endosperm hücresel hale geldiğini ve endosperm gelişmesinin Barritt (1970) tarafından da belirlendiği gibi "helobial" tipte olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar embriyo kesesi hücresel hale geldikten ve zigot bölünmeye başladıktan sonra tohum taslaklarında tohum kabuğunu meydana getiren taş (sklerenkima) hücrelerinin yoğun bir şekilde oluşmaya başladığını, böylece integümentlerde belirgin bir farklılaşmanın meydana geldiğini bildirmektedirler.

Önemli bir Amerikan asma türü olan *Vitis riparia*'nın erkek ve dişi çiçeklerinin anatomisi ve ontogenisini inceleyen Gerrath ve Posluszny (1988), erkek çiçeklerde tohum taslaklarının farklılaştığı halde gelişmediğini, dişi borusu ve stigmanın dumura uğradığını buna karşılık dişi çiçeklerde anatrop formda normal tohum taslaklarının

geliştiğini ve oldukça kısa yapılı bir dişicik borusu ile disk şeklinde ve iki parçalı bir stigmanın bulunduğunu gözlemişlerdir. Dişi çiçeklerin tozlanma ve döllenişmesi sonucunda ise 1-4 adet çekirdeğin meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Asmalarda embriyogenez konusunda çok az sayıdaki araştırmalardan birini gerçekleştiren Nair ve Parasuraman (1962)'a göre *Vitis pallida* türünde embriyogenez, zigotun ikiye bölünerek bazal ve terminal hücreyi oluşturmasından sonra, her iki hücrenin bölünmesiyle oluşan hücre topluluklarının birlikte embriyoyu meydana getirdiği "asteread" tipine uygun olarak gelişmektedir.

Vallade ve ark. (1987) ise, *Vitis vinifera* L. türünde zigotik embriyo gelişmesinin Johansen (1950) tarafından tanımlanmış olan "onograd" veya "asteread" tiplerine benzediğini, embriyo kesesindeki gelişmenin mikropil-şalaza doğrultusunda gerçekleştiğini ve olgun bir embriyonun yaklaşık olarak 300 hücreden oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Monoembriyonik bir tür olarak tanımlanan *Vitis vinifera* L. türüne giren bazı çeşitlerde poliembriyoninin varlığını araştıran Bouquet (1980), genetik olarak poliembriyoniye eğilimli çeşitlerde bu durumun ortaya çıkmasının, büyük ölçüde çevre faktörlerine bağlı olduğunu ve diploid homozigot bitkicikler veren poliembriyonik tohumların embriyogenezin erken safhalarında zigotun segmentasyonu sonucunda meydana geldiğini belirtmiştir. Araştırmada Vinifera çeşitlerinde poliembriyoninin çok düşük bir oranda (%0.054) gerçekleştiği bulunmuştur.

2.1.1. Kusursuz tohum taslağı oluşumunun meyve tutumu ve çekirdek gelişimi üzerine etkileri

Stout (1936), asmalarda döllendiği zaman normal çekirdekleri oluşturan, dolayısıyla normal çekirdekli meyve tutumunun meydana geldiği mekanizmada anatrop formdaki tohum taslaklarında embriyo kesesinin kusursuz olarak geliştiğini, tozlanma ve döllenişmeden sonra endosperm ve embriyo gelişmesinde kusursuz bir şekilde devam ettiğini belirtmiştir.

Normal çekirdekli meyve tutumunun izlendiği çeşitlerde iyi gelişmiş, çimlenme gücünde olgun bir asma çekirdeğinde anatomik olarak, tohumun diş yüzeyini örten kütikula ve tek tabakalı epidermisten sonra, diş integümentin gelişmesi ile oluşan çok tabakalı ve sert tohum kabuğu (testa), iç integüment hücrelerinin farklılaşması ile

meydana gelen ve endosperm dokusunu çevreleyen 2-3 sıralı parankimatik zar, endosperm primer çekirdeğindeki bölünmeler sonucu oluşan endosperm ve zigotun bölünmesi ile meydana gelen oldukça küçük yapılı bir embriyonun ayırt edilebildiği belirtilmektedir (Fidan ve Eriş 1975). Bununla birlikte, normal çekirdekli meyve tutumunda sık sık iyi gelişmemiş çekirdeklere rastlanması, yetersiz tozlanma ve dölllenme veya beslenme noksanlığı gibi nedenlerle açıklanmaktadır (Curre ve ark.1983).

Zuluaga ve ark. (1968), erselik çiçek yapısına sahip üzüm çeşitlerinde tozlanma ve dölllenme zamanında atılmamış korollanın çekirdekli tane tutumunu önlediğini ve partenokarpiye eğilimi arttırdığını ileri sürmelerine rağmen, Lombardo ve ark. (1983) atılmamış bir korollanın meyve tutumunu azalttığını kabul etmekte, ancak çekirdekli meyve tutumunu tamamen önlediği görüşüne katılmamaktadırlar. Staudt (1986) ise, Müller-Thurgau ve Blauer Spätburgunder çeşitlerinde çiçeklerin çok önemli bir bölümünün henüz çiçekler açılmadan tozlandığını ve döllendiğini saptayarak en azından bu çeşitlerin kesin olarak cleistogamik olduğunu belirtmektedir. Araştırmacı iki yıllık deneme sonuçlarına göre aynı çeşitte çok yakın oranlarda cleistogami görülmesini söz konusu çeşitlere özgü genetik bir karakter olarak yorumlarken; Castelli ve ark. (1986), *Vitis vinifera* L. çeşitlerinde cleistogaminin mümkün olduğunu, ancak bu durumun yapısal faktörler, çevre faktörleri ve beslenme koşulları tarafından kontrol edildiğini savunmaktadırlar.

Üzüm çeşitlerinde tohum taslakları ve embriyo kesesi kusursuz geliştiği halde, çiçek tozlarının kısmen veya tamamen kısır olması nedeniyle tozlanma ve döllenenin yetersiz olduğu, dolayısıyla normal yapıda çekirdeklerin meydana gelmediği durumlarla da karşılaşmaktadır. Lombardo ve ark. (1976, 1978) erdişi çiçek yapısına sahip Picolit giallo üzüm çeşidinin kendi çiçek tozları ile tozlandığında normal çekirdekli tane tutumunun son derece düşük bir oranda gerçekleştiğini belirlemiş ve bunun nedenlerini araştırmışlardır. Scanning ve transmission elektron mikroskopi tekniklerini kullanan araştırmacılar, dişi organda stigma ve tohum taslağının normal bir gelişme gösterdiğini, ancak polen tanelerinin dış yüzeyinin oldukça kalın yapılı olan ve yüzey boyunca aynı kalınlığı koruyan bir dış zar ile kaplı olduğunu tespit etmişlerdir.

Fidan (1975) ise, fonksiyonel dişi çiçek yapısına sahip Karagevrek üzüm çeşidinde çiçek tozlarının tamamen kısır olmasına karşılık tohum taslakları ve dişi

gametofitin yapısının kusursuz olduğunu ve uygun tozlayıcılar kullanıldığında normal meyve tutumu ile birlikte çimlenme yeteneğinde çekirdeklerin elde edildiğini saptamıştır.

Beslenme ile ilişkili olarak çiçeklerin salkım üzerinde buldukları pozisyonun, tohum taslaklarının gelişmesinde etkili olduğunu bildiren **Bouard (1978)** ise, normal çekirdekli meyve tutumunda genel olarak her iki karpelde iyi gelişmiş çekirdeklerin bulunduğu tane sayısının %40'ı geçmediğini ileri sürmüştür.

Asmalarda normal çekirdeklerin yüksek çimlenme gücüne sahip olmaları beklenmekle birlikte, tohumlar üzerinde çalışan bir çok araştırmacı çimlenmeyi etkileyen iç ve dış faktörlerin önemini vurgulamışlardır (**Kachru ve ark. 1972, Manivel ve Weaver 1974, Ottenwaelter ve ark. 1974, Selim ve ark. 1981, Ellis ve ark. 1983**). Embriyogenez sırasında içsel büyümeyi düzenleyicilerin değişimini inceleyen **Kiyotoshi ve ark. (1983)**, gibberellinlerin globular embriyo safhasından kalp şekilli embriyo safhasına kadar arttığını, bundan sonra azalmaya başlayarak embriyonun olgun haline ulaştığı dönemde hemen hemen kaybolduğunu, buna karşılık embriyogenez süresince ABA miktarının giderek arttığını tespit etmişlerdir.

2.1.2. Kusurlu tohum taslağı oluşumunun meyve tutumu ve çekirdek gelişimi üzerine etkileri

Asmalarda yapay yollarla çekirdeksizlik veya kısmi çekirdeksizlik yaratmak mümkün olmakla birlikte genotipe bağlı kısırlıklar çiçek morfolojisi, polen ve daha çok tohum taslaklarının yapıları ve gelişmeleri ile ilişkili olarak ortaya çıkmakta ve bu yapıların araştırılması özellikle ıslah çalışmalarının başarısı üzerinde büyük ölçüde etkili olmaktadır.

Pearson (1932), üzüm çeşitlerinde tohum taslaklarının aborsiyonu ile ilişkili olarak üç farklı çekirdeksizlik şekli tanımlamıştır. Araştırmacı Beyaz ve Kırmızı Korint üzümünde tespit ettiği ve tohum taslağı dejenerasyonunun en ekstrem tipi olarak tanımladığı çekirdeksizlik durumunda, tohum taslaklarının hiç bir zaman anatrop formda olmadığını, yalnız dış integümentin geliştiğini buna karşılık iç integümentin nusellus dokusunun alt kısmında şişkin bir meristematik doku halinde dejenere olduğunu, nusellus hücrelerinin ise aşırı bir gelişme göstererek integümentler arasından sarktığını ve embriyo kesesinin oluşmadığını belirtmiştir. Partenokarpik olarak gelişen bu

tanelerde, genellikle raphenin ucunda artık bir doku halinde kalmış olan nusellus ile dış integümentin oluşturduğu tipik olarak topuz şeklinde ve iz halinde dejenere olmuş tohum taslakları bulunmaktadır.

Çekirdeksizliğin ve partenokarpinin ikinci şeklinde, çiçeklenmeye kadar tohum taslakları ve embriyo kesesinin normal olarak geliştiğini belirten Pearson (1932), çiçeklenmeden hemen sonra embriyo kesesinin dejenere olduğunu, dolayısıyla döllenmenin gerçekleşmediğini ve tohum taslaklarının büzüldüğünü saptamıştır. Siyah Korint üzüm çeşidinde belirlenen partenokarpinin bu şekilde az sayıda da olsa dejenerasyondan önce döllenmenin gerçekleştiği tohum taslaklarından çimlenme yeteneğine sahip çekirdeklerin geliştiği tespit edilmiştir. Araştırmacı Siyah Korint tanelerinden elde ettiği 170 tohumdan 66'sının yüzdüğünü, 60'ının battığını ve batanlar arasından 16 tanesinin çimlendiğini ifade etmiştir.

Çekirdeksizliğin üçüncü şekli Sultani Çekirdeksiz, Pembe Çekirdeksiz ve Monukka çeşitlerinde tanımlanmıştır. Her üç üzüm çeşidinde çiçeklenme zamanında tohum taslaklarının normalden daha uzun yapılı olup, iç integümentin uç kısmının karpel duvarının baskısı nedeniyle bükülmüş olduğu, dış integümentin ise normalden daha kısa yapılı olduğu belirlenmiştir. Fonksiyonel embriyo kesesinin geliştiği tohum taslaklarında döllenmeden sonra zigotta olması beklenen bölünmelerin gerçekleşmediği, endosperm çekirdeğinin ise bir süre bölündükten sonra dejenere olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan tohum kabuğunun oluşumunda rol oynayan dış integümentin orta ve iç tabakasındaki hücrelerin çeşitlere göre farklı düzeylerde olmak üzere dejenere olduğu, orta tabakayı oluşturan hücrelerin dejenerasyonu nedeniyle ise tohum çukurlarının gelişmediği, sonuçta ince ve yumuşak bir çekirdek izinin meydana geldiği belirtilmiştir (Pearson 1932).

Olmo (1934), morfolojik olarak normal görünümlü olmakla birlikte, çimlenme oranının son derece düşük olduğu tohumları "boş çekirdekli" olarak nitelendirmiş ve bu mekanizmanın erken dönemde embriyo aborsiyonu sonucunda meydana geldiğini ileri sürmüştür. Vinifera varyeteleri veya *Vitis vinifera* L. ile diğer türler arası melezlerin büyük çoğunluğunun F₁ generasyonunda yüksek oranda boş çekirdeklilik gösterdiğini belirten araştırmacı, Vinifera varyetelerinin %70'inde boş çekirdeklilik oranının %10 veya daha az olduğunu, türler arası melezlerin ise yaklaşık %58'inin bu kategoriye girdiğini ve boş çekirdekliliğin ana ebeveyn tarafından kontrol edilen kalıtsal bir karakter olduğu

görüşünü ileri sürmüştür. Tohumların düşük çimlenme oranı ile boş çekirdeklilik arasındaki ilişkilerin araştırıldığı bu çalışmada 20 üzüm çeşidi arasında Çavuş %99.5 oranında boş çekirdeklilik gösteren bir üzüm çeşidi olarak tanımlanırken, bunu Dattier (%57.9) ve Tokay (%40.5) çeşitleri izlemiş; İskenderiye Misketi (%5.7), Emperor (%6.2) ve Blowers Misketi (%5.9) ise yüksek oranda fertil çekirdeklere sahip çeşitler olarak belirlenmiştir.

Oraman (1941), Çavuş üzüm çeşidinin çiçek tozlarının mutlak kısır olduğunu ve hiç bir çimlenme ortamında çimlenmenin elde edilemediğini belirtmiştir. Araştırmacı kendileme yapıldığında partenokarpik çekirdeksiz tane tutumunun meydana geldiği bu çeşitte, yabancı tozlanma ve döllenme durumunda ise normal meyve tutumunun gerçekleştiğini kabul etmiştir.

Çavuş üzüm çeşidinde tozlayıcı çeşitlerin çeşitli meyve özellikleri üzerine etkisini (Metaxenie) araştıran **Özbek (1951)**, **Dağlı (1962)**, **Fidan ve Çelik (1980)**, genel olarak tozlayıcı çeşitlerin Çavuş'un özellikleri üzerinde önemli bir etki yaratmadığını, ancak iyi bir tozlanma ve döllenme sonucunda normal görünüşlü çekirdeklerin meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Çavuş üzüm çeşidi ile birlikte bazı önemli sofralık üzüm çeşitlerinde gibberellin uygulamasının çekirdeksizlik üzerine etkilerini araştıran **Gökçay (1975)**, çalışmasının bir bölümünde kontrol olarak incelediği uygulama görmemiş tane örneklerinde tohum taslağında zigotun oluştuğunu belirlemiştir. Ancak bu çalışmada tohum taslaklarının ilerleyen gelişmelerinde embriyo oluşumuna ait açıklayıcı bilgiler bulunamamıştır.

Stout (1936), üzüm çeşitlerinde tohum taslaklarını; 1-Döllendiği zaman normal çekirdekli, 2-Döllenme olmadan apogamik çekirdekli, 3-Döllenme sonucu boş çekirdekli, 4-Döllenmeye uygun embriyo kesesine sahip olan ancak rudimenter çekirdekli, 5-Embriyo kesesinin kısmen kusurlu yapısı nedeniyle çekirdeksiz, 6-Embriyo kesesinin gelişmediği vegetatif yapıda çekirdeksiz, tane oluşturan tohum taslakları olmak üzere altı grup halinde sınıflandırmıştır. Araştırmacı tohum taslaklarının ilk üç şeklinde çekirdekli, dördüncü şeklinde stenospermokarpik, son iki şekilde ise partenokarpik tane tutumunun meydana geldiğini belirtmiştir.

Çekirdekli Concord üzüm çeşidi ile somatik mutanıtı olan Çekirdeksiz Concord'da (Concord Seedless) tohum taslaklarının gelişmesini karşılaştırmalı olarak inceleyen **Nitsch ve ark. (1960)**, çiçeklenmeden itibaren sekizinci güne kadar tohum

taslaklarında gelişmenin her iki çeşitte de normal olarak devam ettiği halde bu aşamadan sonra Concord Seedless'te endospermin dejenere olmaya başladığını, bunu izleyen dönemlerde ise yalnız birkaç hücreden ibaret olan embriyonun ve tohum kabuğunu meydana getirecek olan hücrelerin dejenere olduğunu belirlemişlerdir. Concord Seedless'in yumuşak ve abortif tohum taslaklarının boyu iyi gelişmiş Concord çekirdeklerinin ancak 1/3'ü kadar bir büyüklüğe ulaşabilmiştir.

Pratt ve Einset (1961) ise, çekirdekli Concord çeşidinden selekte edilen küçük salkımlı Concord tipinde tohum taslaklarının rudimenterden normale kadar değişen geniş bir dağılım gösterdiğini belirterek, rudimenter çekirdek oluşumuna neden olan tohum taslaklarını üç tipe ayırarak incelemişlerdir. Her üç tip kusurlu tohum taslağında dejenerasyonun mayoz bölünme öncesinde (pre-meiotik) meydana geldiği bulunmuştur. Birinci tipte tohum taslaklarının tek integümentli olup şekil itibarıyla amfitrop bir yapı gösterdiklerini, ikinci tipte iki integüment gelişmiş olmakla birlikte yapının yine amfitrop olduğu, üçüncü tipte ise normal anatrop tohum taslaklarında mayoz bölünmede gecikme, parçalanma veya düzensizlikler nedeniyle dejenerasyonların meydana geldiği belirlenmiştir.

Emperor üzüm çeşidinin somatik mutanıtı olan Çekirdeksiz Emperor'da çekirdeksizliğin nedenlerini araştıran **İştar (1969a,b)**, tohum taslaklarında iç integümentin iç tabakasının kusurlu bir yapı gösterdiğini, çiçeklenmeden yaklaşık olarak bir ay sonra ise embriyonun aborsiyona uğradığını ve sonuçta sklerenkima dokusu gelişmemiş rudimenter çekirdeklerin meydana geldiğini bildirmiştir.

Narasimhan ve Mukherjee (1969), bazı diploid çeşitlerin (Pearl of Csaba, Blanch Prince, Madeleine Royale, Madeleine Angevine ve Bharat Early) tetraploid formlarında X-ışınları radyo-fotografi tekniğini kullanarak yaptıkları incelemelerde, boş çekirdeklilik oranının çok yüksek olduğunu ve boş çekirdekliliğe neden olan aborsiyon olayının tam çiçeklenmeden genel olarak 25 gün sonra meydana geldiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar diploid formlarına göre daima daha erkenci olan tetraploid formlardaki boş çekirdeklilik olayının, tane büyüme ve gelişme evrelerinden II. fazın oldukça kısa sürmesi, III. fazın ise normale göre daha erken başlayarak hızla tamamlanması ile ilişkili olduğunu kabul etmişlerdir.

Erkenci çeşitlerde embriyonun yeterli olgunluğa ulaşamaması nedeniyle tohumların çok düşük bir çimlenme gücü gösterdiklerini belirten **Balthazard (1969)**, in

vivo koşullarda iyi bir çimlenme için embriyonun 1 mm'den daha büyük bir yapıya sağip olması gerektiğini ileri srmstr.

Barritt (1970), ekirdekli Ontario eşidi ile rudimenter ekirdekli Thompson Seedless melezi olan üç genotipte (Himrod, Interlaken Seedless ve NY 15302) abortif ve normal gelişmiş tohum taslaklarını karşılaştırmıştır. Bütün tiplerde iyi gelişmiş tohum taslaklarının uzunluğu 1.4-1.8 mm arasındayken, dejenere olanlarda 0.7-1 mm arasında değişmiştir. Döllenmiş tohum taslaklarının byklğindeki artışın öncelikle nusellus ve dış integümentlerin hızlı gelişmesine bağlı olduğunu belirten araştırıcı, ekirdeksiz çeşitlerde nusellar dejenerasyon ile integüment dejenerasyonunun görülmesi nedeniyle tohum taslaklarının kk kaldığını belirterek bu çeşitlerde embriyonun iki veya yedi hücreli dönemden sonra dejenerasyona uğradığını ifade etmiştir.

Kassemeyer ve Staudt (1982b), Gewürtztraminer ve Weisser Burgunder eşitlerinde iek dökümleri ile tohum taslaklarının gelişmesi arasındaki ilişkileri inceledikleri araştırma sonuçlarına göre, ovaryumda bulunan tohum taslaklarının tümünün dejenere olması halinde iek dökümünün meydana geldiğini kabul etmektedirler. Dkme neden olan başlıca iki tip tohum taslağı dejenerasyonu belirleyen araştırıcılar, birinci tipte fonksiyonel embriyo kesesi bulunduğu halde yetersiz tozlanma ve döllenme sonucunda kesenin dejenerasyona uğradığını; ikinci tipte ise megasporogenez ve megagametogenez sırasında mayoz ve mitoz blnmelerdeki düzensizlikler sebebiyle embriyo kesesinin büzülerek aborsiyona uğradığını belirlemişlerdir. Araştırmada iek dökümüne neden olan birinci ve ikinci dejenerasyon tiplerinin görülme sıklığı sırasıyla Gewürtztraminer'de %38 ve %30, Weisser Burgunder'de ise %63 ve %8 olarak bulunmuştur.

Japonya'da ıslah edilen ve tetraploid üzüm eşitleri olan Kyoho ve Pione'de düşük verimlilik ile kk ve ekirdeksiz tane tutumunun nedenlerini araştıran **Okamoto ve ark. (1984)**, her iki çeşitte de polen ve tohum taslaklarının gelişmesinde anormallikler olduğunu belirlemişlerdir. Tohum taslaklarında çok yüksek bir oranda olmak üzere fonksiyonel embriyo kesesinin oluşmadığını gözleyen araştırıcılar, tozlanmadan sonra polen tüpünün genellikle oluşmadığını ve oluşanlardan yalnız birkaçının mikropile ulaşabildiğini saptamışlardır.

Barbera eşidinin iki mutant formunda tohum taslaklarının anatomik yapısı ile düşük verimlilik arasındaki ilişkileri inceleyen **Vallania ve ark. (1987)**, aynı çeşidin

diploid formundaki gelişme safhalarını da kontrol olarak izlemişlerdir. Mutant bitkilerde tipik olarak mayoz ve mitoz bölünmelerde düzensizlikler olduğunu gözleyen araştırmacılar, az sayıda olmakla birlikte tohum taslaklarında embriyo kesesinin geliştiği örneklerde ise çiçeklenmeden bir hafta sonra hücrelerin sitoplazmik yapılarını kaybederek kuagüle olduklarını, çekirdeklerin büzüldüğünü, polar çekirdeklerin ise hiç bir şekilde birleşmediğini, dolayısıyla embriyo kesesinin bütünüyle aborsiyona uğradığını belirlemişlerdir. Dejenerasyonun görüldüğü tohum taslaklarında tipik olarak nusellus dokusu ile iç integümentin, dış integümentten ayrılarak büzüldüğü tespit edilmiştir.

Tsolova (1990), çekirdeksiz üç çeşitte (Beyaz Korint, çekirdeksiz bir hibrit olan VI-4 ve Rusalka) çekirdeksizliğin mikrosporogenez veya mikrogametogenez ile ilişkili olmadığını, çekirdeksizliğe neden olan olayların tohum taslağında gerçekleştiğini belirtmiştir.

Embriyo gelişmesinin bir kaç hücreli dönemden globular döneme kadar değişim gösterdiği abortif tohum taslaklarının *in vitro* teknikler kullanılarak çimlendirilmesinde oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Stenospermokarpik meyve tutumunun görüldüğü rudimenter çekirdekli çeşitlerden, **Cain ve ark. (1983)** Sultani Çekirdeksiz, Black Monukka ve Flame Seedless'te; **Spiegel-Roy ve ark. (1985,1986)** serbest, kendine ve resiprokal olarak tozlanan Sultani Çekirdeksiz, Perlette ve Flame Seedless'te; **Emershad ve ark. (1989)** ise Sultani Çekirdeksiz ile stenospermik bir genotip olarak selekte edilmiş olan P60-58'de döllenmiş ovüllerin kültüre alınmasıyla yaşama gücünde bitkiler elde edilebileceğini, ancak aborsiyonun meydana geldiği safhanın sitolojik olarak belirlenmesinin başarılı bir ovül kültürü için son derece önemli olduğunu belirtmektedirler.

Ramming ve ark. (1990) çimlenme oranının *in vivo* koşullarda daima oldukça düşük olduğu bazı çekirdekli erkenci genotiplerde (Early Muscat, C64-97, C66-151, Sivan, Shaharit, Cardinal ve Kinnereth 2) çimlenme oranını arttırmak amacıyla embriyo kültürünün kullanılma olanaklarını araştırmışlardır. Yalnızca batan tohumların kullanıldığı denemelerde *in vivo* çimlenme oranı Shaharit ve Early Muscat'ta %0, C64-97'de %7, C66-151'de %16, Sivan'da %10, Cardinal'de %13 ve Kinnereth 2'de %29 olarak bulunurken, *in vitro* koşullarda bu oranlar sırasıyla %16, %14.6, %24.1, %24.3, %30, %15 ve %51'e yükselmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

Çavuş üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyo gelişimi ile boş çekirdeklilik arasındaki ilişkilerin araştırıldığı bu çalışma, 1988-1991 yılları arasında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü klon koleksiyon bağları ile Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü sitoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

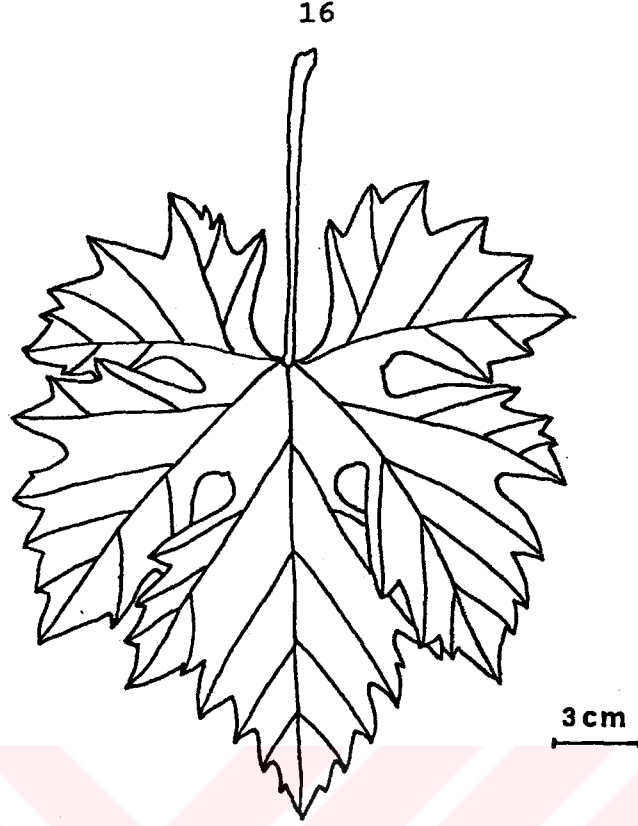
3.1. Materyal

Çavuş üzüm çeşidinin herbiri ayrı birer çeşit olarak tanınan değişik tipleri (Bozcaada Çavuşu, Beyaz Çavuş, Pembe Çavuş, Kokulu Çavuş gibi) ülkemizin değişik yörelerinde yetiştirilmektedir. Bu çalışmada, Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü'nce üzerinde halen klon seleksiyonu çalışmaları sürdürülmekte olan Bozcaada Çavuşu (Anonim 1990a) üzerinde çalışılmıştır. Bu nedenle, metin içerisinde bundan sonra Çavuş yerine Bozcaada Çavuşu ismi kullanılmıştır (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2). Araştırmada üzerinde çalışılan diğer üzüm çeşitleri, Anameriç (1964) tarafından söz konusu ekolojide Bozcaada Çavuşu için en uygun dölleyici olarak tanımlanan ve günümüzde de bu önemini koruyan Karasakız üzüm çeşidi ile, bölgenin önemli standart sofralık üzüm çeşitleri arasında yer alan ve erdişi çiçek yapısına sahip olan Amasya Beyazı, Hafızali, Hamburg Misketi, Kozak Beyazı ve Yapıncak'tır.

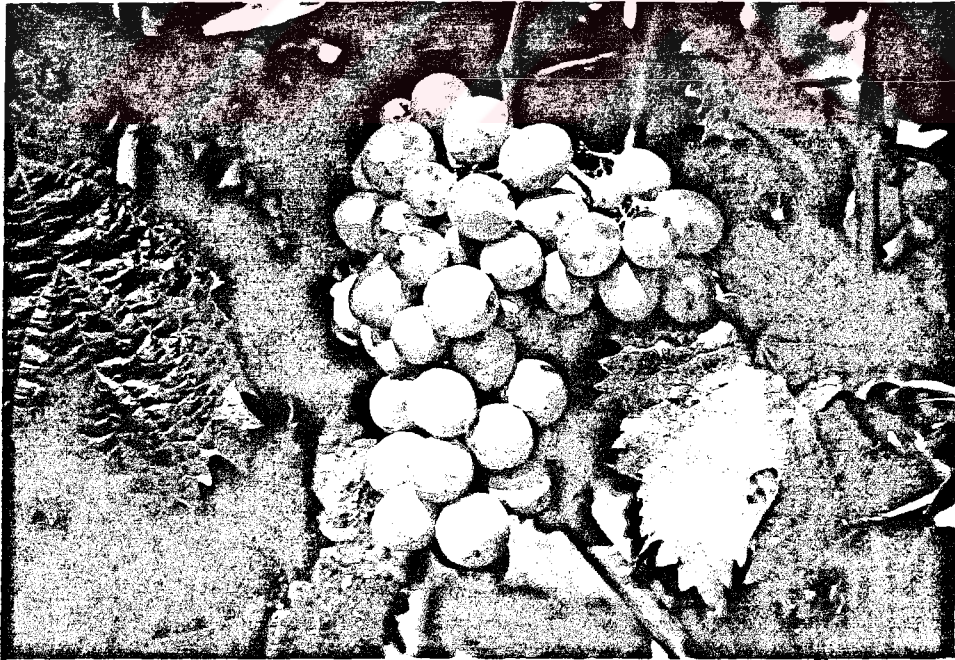
Çanakkale iline bağlı bir ilçe ve aynı zamanda ülkemizin Ege Denizi'ndeki iki adasından birisi olan Bozcaada'da adeta tek ürün olarak yetiştirilen Bozcaada Çavuşu ile çalışmada tozlayıcı olarak kullanılan altı üzüm çeşidinin ampieografik özellikleri Ağaoglu ve ark. (1990) ile Anonim (1990b)'den yararlanılarak Çizelge 3.1'de özetlenmiştir.

3.2. Metod

Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun anatomik yapısı ve gelişiminin incelenmesinde, kontrollü olarak Karasakız üzüm çeşidinin çiçek tozları ile tozlanan ve serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu salkımlarından; kusurlu tohum taslakları ile normal gelişme gösteren tohum taslaklarının karşılaştırmalı olarak incelenmesi amacıyla ise Karasakız üzüm çeşidinin kendilenen salkımlarından alınan çiçek, tane ve çekirdek örnekleri üzerinde çalışılmıştır.



Şekil 3.1. Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinin olgun yaprağı.



Şekil 3.2. Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidine ait olgun bir salkım.

Çizelge 3.1. Araştırmada üzerinde çalışılan üzüm çeşitlerinin önemli ampelografik özellikleri

Çeşitler	Değerlendirme Şekli	Çiçek Tipi	Salkım			Tane				Gelişme Kuvveti	Verimlilik Durumu	Olgunlaşma Zamanı
			Şekli	Büyüklüğü	Sıklığı	Şekli	Büyüklüğü	Rengi	Çekirdek sayısı			
Bozcaada Çavuşu	Sofralık	Fonksiyonel dişi	Kanatlı-Konik	İri	Seyrek	Yuvarlak	İri	Yeşil-Sarı	1-3	Kuvvetli	Yüksek	Orta-Erkenci
Karacak	Şaraplık	Erdişi	Konik	Orta	Sık	Yuvarlak	Orta	Siyah	2-3	Kuvvetli	Yüksek	Orta mevsim
Amasya Beyazı	Sofralık	Erdişi	Konik	İri	Seyrek	Yuvarlak	İri	Yeşil-Sarı	1-2	Çok Kuvvetli	Yüksek	Orta mevsim
Hafızali	Sofralık	Erdişi	Konik	İri	Seyrek	Uzun-Oval	İri	Yeşil-Sarı	2	Çok Kuvvetli	Yüksek	Orta-Geçci
Hamburg Misketi	Sofralık Şaraplık	Erdişi	Kanatlı-Konik	Orta	Seyrek	Oval	Orta	Siyah	2-3	Kuvvetli	Orta Yüksek	Orta mevsim
Kozak Beyazı	Sofralık	Erdişi	Konik	Orta	Seyrek	Oval	İri	Yeşil-Sarı	2-3	Kuvvetli	Yüksek	Orta-Geçci
Yapıncak	Şaraplık Sofralık	Erdişi	Kanatlı-Konik	Orta	Sık	Oval	Orta	Sarı-Kırmızı	2-4	Çok Kuvvetli	Yüksek	Orta-Geçci

Tozlayıcı çeşitlerin, melezleme ürünü Bozcaada Çavuşu çekirdeklerinin çimlenme yetenekleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla bu üzüm çeşidinin yukarıda isimleri verilen altı üzüm çeşidiyle tozlanmasından elde edilen çekirdeklerin çimlenme oranları (%), serbest tozlanma ürünü Bozcaada Çavuşu çekirdekleri ve kendileme ürünü Karasakız çekirdekleri ile karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir.

3.2.1. Mikroteknik Metodlar

Çavuş ve Karasakız üzüm çeşitlerinde tohum taslakları ve embriyo gelişiminin belirlenmesinde izlenen mikroteknik metodlar aşağıda sunulmuştur.

3.2.1.1. Örneklerin alınması ve tespit edilmesi

Tohum taslaklarının belirli dönemlerindeki gelişme aşamalarının incelenmesinde örnek alma sıklığının çalışmanın amacına göre belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Üzüm çeşitlerinde bileşik salkım üzerinde yer alan çiçek ve tanelerin, salkımın her yerinde aynı gelişme düzeyinde olmadıkları bilinmektedir (Castelli ve Pisani 1985). Bu nedenle, aynı gelişme dönemindeki örnek sayısını arttırmak amacıyla mümkün olduğunca sık aralıklarla olmak üzere, morfolojik ve fenolojik gelişme devresi yönünden aynı gruba giren ve salkımların 1/3'lük orta kısmında yer alan çiçek ve tanelerin alınmasına özen gösterilmiştir.

Bu amaçla çiçek kömeçlerinin braktelerden ayrıldıkları tarih saptandıktan sonra örneklerin alınmasına başlanmış ve çiçeklenme başlangıcına kadar üç gün ara ile, başlangıcından çiçeklenme sonuna kadar her gün, çiçeklenme sonundan tane tutumuna kadar yeniden üç gün ara ile, tane tutumundan sonra ise birer hafta ara ile örneklerin alınmasına devam edilmiştir. Örnek alma işlemleri tamamlandıktan sonra ön çalışmalar yapılarak mikroteknik çalışmalarda kullanılmak üzere çiçek, tane ve çekirdek örnekleri, örnek alma tarihi, morfolojik ve fenolojik özelliklerinin birlikte değerlendirilmesi sonucunda gruplandırılmışlardır. Buna göre kendilenen Karasakız ve serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda sekiz; Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu örneklerinde ise beş gelişme dönemi tespit edilmiştir (Çizelge 3.2, Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4).

Çiçek, tane ve çekirdek örneklerinin tespitinde **Johansen (1940)** tarafından formüle edilen, **Fidan (1966)** ve **Ağaoğlu (1969)** tarafından asma tomurcuk ve çiçeklerinin tespitinde başarıyla kullanılan Formalin Aseto Alkol (FAA) tespit çözeltisi kullanılmıştır.

Fiksatifin dokulara daha iyi işlenmesini sağlamak üzere tespit şişelerine alınan örneklerin havası bir minipompa aracılığı ile alınmış ve kesite hazırlanacakları zamana kadar bu çözelti (FAA) içerisinde saklanmışlardır. Hazırlık öncesinde %70'lik etil alkol ile iki defa yıkanan örnekler, sonra aynı derecedeki alkol içerisinde korumaya alınmışlardır.

3.2.1.2. Kesite hazırlama

Örneklerin incelenmesinde **Johansen (1940)** tarafından açıklanan ve sitolojik çalışmalarda bir çok araştırmacının materyallerinin özelliklerine göre modifiye ederek kullandığı "parafin yöntemi"nden yararlanılmıştır.

Parafin yöntemi ile kesiti alınarak sabit preparatları hazırlanacak örneklerde ilk aşama, materyallerin suyunun alınması (dehidrasyon) ve parafini eritecek bir çözücünün dokulara girmesinin sağlanmasıdır. Bu amaçla araştırmada **Algan (1981)**'a göre etil alkol, etil alkol+ksilol serileri ile parafin çözücüsü olarak saf ksilol kullanılmıştır.

Dehidrasyonun son aşamasında saf ksilol içerisine alınan örneklerin önce oda sıcaklığında, daha sonra sırasıyla 25-30°C ve 55-60°C'lik etüv içerisinde parafine doyurulmasında ilk aşamada 45-47°C'de daha sonra 57-60°C'de eriyen saf parafin kullanılmıştır.

Kesite hazırlamanın ikinci aşaması örneklerin uygun ortamlara gömülmesidir. Yöntem gereği parafin ile doymuş hale getirilen örnekler için gömme ortamı olarak, doyurma işleminin son aşamasında kullanılan 57-60°C'de eriyen saf parafin kullanılmıştır. Materyallerin gömüldüğü parafin blokların eldesinde 3.5x4.5x0.7 cm boyutlarındaki porselen küvetlerden yararlanılmıştır.

Çizelge 3.2. Kendilenmiş Karasakız üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyo gelişiminin incelendiği dönemler

Morfolojik ve Fenolojik Gelişme Dönemi	Örnek Alma Tarihi	Örneğin Niteliği	Örnek Büyüklüğü (mm)	
			Uzunluk	Genişlik
1. Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek dönemi	2-4.6.1988 3-4.6.1989	Çiçek	1.84 ± 0.02	1.79 ± 0.02
2. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek dönemi	9-10.6.1988 8.6.1989	Çiçek	2.63 ± 0.02	2.18 ± 0.01
3. Açılmaya hazır kapalı çiçek dönemi	12-13.6.1988 10.6.1989	Çiçek	3.06 ± 0.01	2.54 ± 0.03
4. Tam çiçeklenme dönemi	14-18.6.1988 12-15.6.1989	Çiçek	2.64 ± 0.07	1.60 ± 0.03
5. Döllenenmiş çiçek dönemi	19-26.6.1988 17-26.6.1989	Çiçek	3.89 ± 1.15	2.77 ± 1.45
6. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi	2.7.1988 26.6/1.7.1989	Tane Çekirdek	5.89 ± 0.08 3.88 ± 0.07	5.06 ± 0.09 2.32 ± 0.02
7. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi	10.7.1988 12.7.1989	Tane Çekirdek	11.92 ± 0.11 5.64 ± 0.08	10.54 ± 0.21 3.20 ± 0.04
8. Olgun tane dönemi	3.9.1988 31.8.1989	Tane Çekirdek	18.52 ± 0.15 6.09 ± 0.71	16.25 ± 0.11 4.18 ± 0.03

Çizelge 3.3. Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyo gelişiminin incelendiği dönemler

Morfolojik ve Fenolojik Gelişme Dönemi	Örnek Alma Tarihi	Örneğin Niteliği	Örnek Büyüklüğü (mm)	
			Uzunluk	Genişlik
1. Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek dönemi	2.6.1988 3.6.1989	Çiçek	1.78 ± 0.03	1.46 ± 0.02
2. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek dönemi	9-11.6.1988 7-6.11.1989	Çiçek	2.61 ± 0.06	1.93 ± 0.02
3. Açılmaya hazır kapalı çiçek dönemi	13-14.6.1988 10-12.6.1989	Çiçek	3.11 ± 0.02	2.06 ± 0.13
4. Tam çiçeklenme dönemi	14-18.6.1988 14-17.6.1989	Çiçek	2.25 ± 0.17	1.61 ± 0.02
5. Dölllenmiş çiçek dönemi	20-25.6.1988 22-27.6.1989	Çiçek	3.61 ± 1.13	2.21 ± 2.17
6. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi	30.6.1988	Tane	5.64 ± 0.18	5.52 ± 0.11
	1.7.1989	Çekirdek	3.43 ± 1.55	2.23 ± 0.06
7. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi	7-14.7.1988	Tane	11.51 ± 0.20	10.72 ± 0.19
	9-10.7.1989	Çekirdek	4.63 ± 0.11	3.23 ± 0.35
8. Olgun tane dönemi	2.9.1988	Tane	22.37 ± 0.18	20.21 ± 0.25
	31.8.1989	Çekirdek	6.65 ± 0.23	4.21 ± 0.25

Çizelge 3.4. Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyo gelişiminin incelendiği dönemler

Morfolojik ve Fenolojik Gelişme Dönemi	Örnek Alma Tarihi	Örneğin Niteliği	Örnek Büyüklüğü (mm)	
			Uzunluk	Genişlik
1. Tam çiçeklenme dönemi	14-18.6.1988 14-17.6.1989	Çiçek	2.80 ± 0.03	1.67 ± 0.07
2. Dölllenmiş çiçek dönemi	25.6.1988 21.6.1989	Çiçek	3.42 ± 0.15	2.90 ± 0.02
3. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi	29-30.6.1988 1.7.1989	Tane	5.52 ± 0.31	5.44 ± 0.93
		Çekirdek	2.89 ± 0.31	1.76 ± 0.03
4. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi	7-14.7.1988 9-10.7.1989	Tane	12.14 ± 0.21	11.40 ± 0.25
		Çekirdek	5.60 ± 0.24	3.53 ± 0.03
5. Olgun tane dönemi	2.9.1988 31.8.1989	Tane	21.17 ± 1.01	20.05 ± 0.27
		Çekirdek	6.84 ± 0.11	4.10 ± 1.37

3.2.1.3. Kesit alma

Kesitler, Döner kollu (Rotary) mikrotom ile birbirini izleyen şeritler halinde 10 μm kalınlığında ve boyuna olacak şekilde alınmışlardır.

Seri halindeki bu kesitlerin lama yapıştırılmasında gliserin + albumin karışımı (1:1) kullanılmıştır. Çabuk bozulan bu karışıma küçük bir parça timol kristali atılarak uzun süre bozulmadan korunması sağlanmıştır (Vardar 1962).

3.2.1.4. Kesitlerin boyanması

Boyama işleminde ilk olarak kesitlerin etrafındaki parafinin eritilmesi gerekmektedir. Bunun için şalelere yerleştirilen ve üzerinde kesitleri taşıyan lamalar, daha önce 55-60°C'deki etüv içerisine bırakılarak ısıtılan sıcak saf ksilol içerisine batırılmış ve aynı derecedeki etüv içerisinde 10-15 dakika tutulmuşlardır. Bundan sonra dehidrasyon işleminin tersi uygulanarak, sırasıyla ksilol+ etil alkol ve etil alkol serilerinden geçirilen kesitler son basamakta saf su içerisine alınmışlardır. Bundan sonra boyamaya geçilmiştir.

Boyamada %0.5'lik hemotoksilin ile birlikte %2 ve %3'lük ferri amonyum sülfat (mordan) çözeltilerinin kullanıldığı "Heidenhain Demirli Hematoksilin" tekniği kullanılmıştır.

Boya çözeltilerinin hazırlanmasında Johansen (1940)'a göre, önce %96'lık sıcak etil alkolde hematoksilinin %10'luk stok çözeltisi hazırlanmış ve en az bir hafta süreyle karanlıkta okside olmaya bırakılmıştır. Boyama sırasında ise saf su ile seyreltilerek %0.5'lik kullanma çözeltisi hazırlanmıştır. %2 ve %3'lük mordan çözeltileri ise taze hazırlanarak kullanılmışlardır.

Ön deneme sonuçlarına göre kesitler için en iyi görüntü ve detayların elde edilmesinde, %3'lük mordanda 20 dakika, %0.5'lik hematoksilinde 30 dakika ve %2'lik mordanda 5 dakika tutulmaları yeterli bulunmuştur.

3.2.1.5. Sabit preparatların hazırlanması

Boyama işlemi tamamlanan kesitler, saf sudan başlayarak derece derece yükselen etil alkol, etil alkol + ksilol ve saf ksilol serilerinden geçirildikten sonra entellan ile sabit preparat haline getirilmiştir.

3.2.1.6. Preparatların incelenmesi

Araştırma materyali olarak hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile incelenmişlerdir.

Tohum taslaklarının gelişme durumunu saptamak amacıyla uzunluk ve genişlik ölçümleri mikroskop ve binokülerden Elçi (1982)'ye göre oküler mikrometre kullanılarak, 7(oküler)X4(objektif) büyütmede yapılmıştır.

Mikroskoptan fotoğraf çekimlerinde 25 ASA/15 DIN'lik renkli film kullanılmış ve çekimler esnasında ışığı %6.3 oranında geçiren gri renkli filtreden yararlanılmıştır.

Fotoğraf çekimlerinde farklı büyütme oranları kullanıldığından her fotoğraf için çekimin yapıldığı objektif ve kamera okülerinin büyütmesi ile baskıda gerçekleşen büyütme oranına göre gerçek büyütme oranını belirlemek amacıyla her büyütme oranında objektif mikrometrenin fotoğrafları da çekilmiş ve aynı oranda baskısının yapılması ile bir mikrometre cetveli oluşturulmuştur. Fotoğraflarda büyütme ölçüsü olarak mikrometre cetveli verilmiştir.

3.2.2. Çekirdeklerin çimlendirilmesi

Çekirdekler olgunlaşma zamanında tanelerden çıkarılmış ve meyve etinden tamamiyle temizlenmeleri için akar su altında yıkanmışlardır.

Suda yüzdürme metodu kullanılarak yapılan basit bir canlılık testinin ardından suda yüzen ve batan tohumlar ayrı ayrı olmak üzere, sterilize edilmiş ince dere kumu içerisinde +5°C'de 6 hafta süre ile soğukta katlamaya tabi tutulmuşlardır.

Soğukta nemli katlamayla dinlenmenin kırılması için gerekli soğuklama gereksinimi karşılanan çekirdekler, petri kaplarında, 20-22°C sıcaklıktaki iklim odasında çimlenmeye alınmışlardır. Çimlenme oranı % olarak hesaplanmıştır.

4.SONUÇLAR

4.1. Tohum Taslakları ve Embriyonun Gelişimi

Araştırmada kendilenen Karasakız ve serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda tohum taslakları ve embriyonun anatomik yapısı ve gelişimi, çiçek kömeçlerinin braktelerden ayrıldığı dönemden başlayarak olgunlaşmaya kadar devam eden sekiz gelişme dönemi halinde (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3); Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda ise tam çiçeklenmeden başlayarak olgunlaşmaya kadar devam eden beş gelişme dönemi halinde (Çizelge 3.4) incelenmiş ve elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

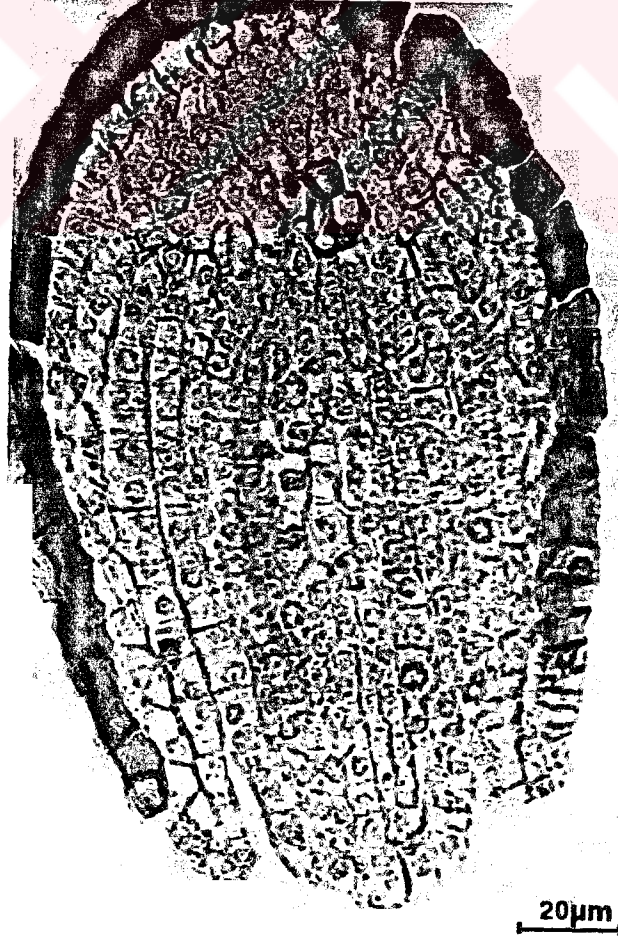
4.1.1. Kendilenen Karasakız üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun gelişimi

Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek dönemi

Bu gelişme dönemine ait çiçek kesitlerinde ovaryumun plasentasında "anotrop" tipte tohum taslaklarının farklılaşmaya başladığı belirlenmiştir (Şekil 4.1). Gelişmenin bu ilk döneminde tohum taslaklarının nusellus hücreleri ile kaplı olduğu ve nusellus hücrelerinin etrafını saran iç ve dış integüment gelişmesinin kusursuz olduğu gözlenmiştir. Farklılaşmakta olan iç integüment tohum taslağının mikropiline kadar ulaştığı halde dış integümentin daha kısa yapılı olduğu görülmektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek döneminde ovaryumun plasentasında farklılaşmakta olan anatrop tipte tohum taslakları.

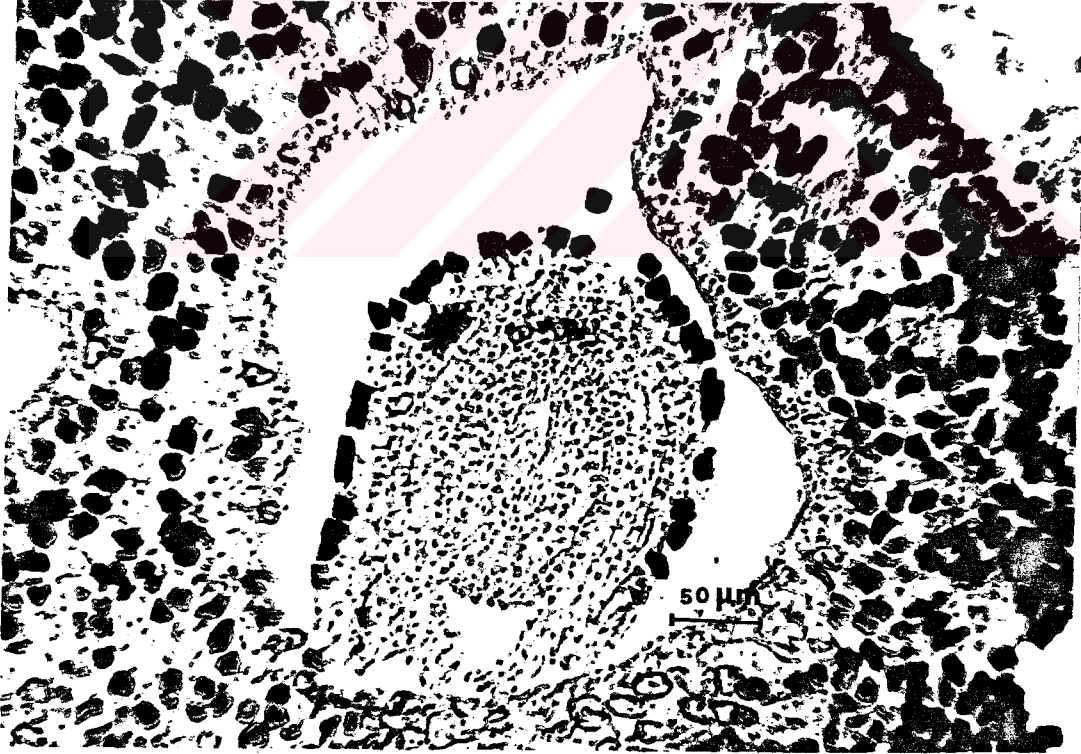


Şekil 4.2. Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek döneminde nusellus hücreleri ile kaplı bir tohum taslağı.

Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek dönemi

Bu gelişme devresinde alınan ovaryum kesitlerinde tohum taslaklarını çevreleyen integümentlerden iç integümentin daha fazla uzayarak mikropil açıklığını kapattığı gözlenmiştir (Şekil 4.3).

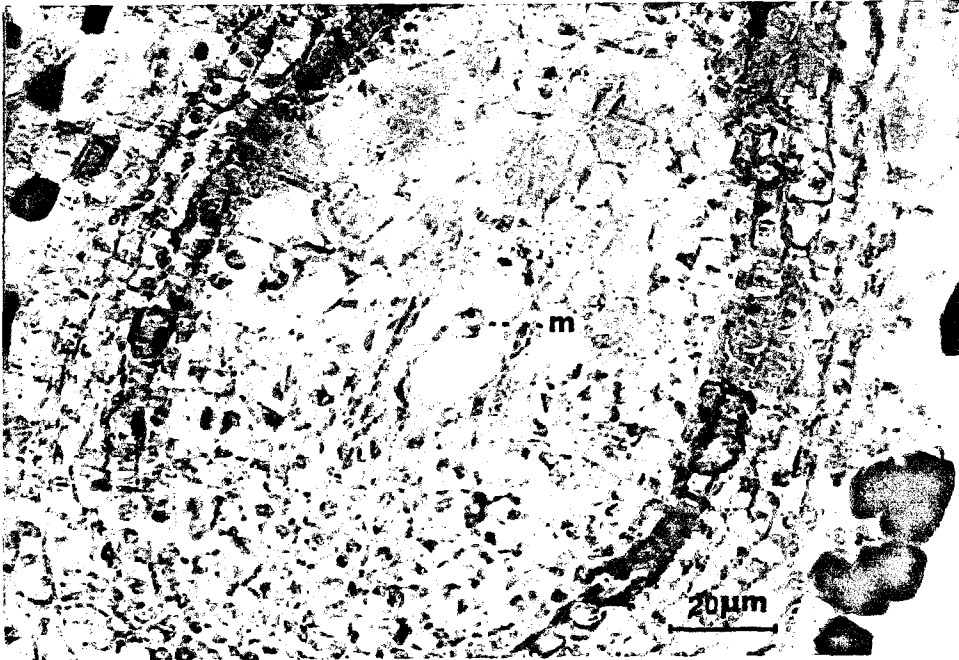
Bu gelişme döneminde megasporogeneze ait aşamaların başladığı ve tamamlandığı belirlenmiştir. Tohum taslaklarını kaplayan nusellus hücrelerinin orta kısmında diğer nusellus hücrelerinden daha büyük olması ile kolayca ayırt edilen megaspor ana hücresi belirginleşmiştir (Şekil 4.4). Bu safhada megaspor ana hücresinin mayoz bölünmesi ile oluşan dört megaspordan şalazaya yakın olanın geliştiği, mikropil tarafından yer alan diğer üçünün ise dejenere olduğu görülmüştür (Şekil 4.5).



Şekil 4.3. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde iyi gelişmiş integümentlere sahip tohum taslağı.



Şekil 4.4. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde tohum taslağında megaspor ana hücresi.
ma: megaspor ana hücresi; ii: iç integüment;
di: dış integüment



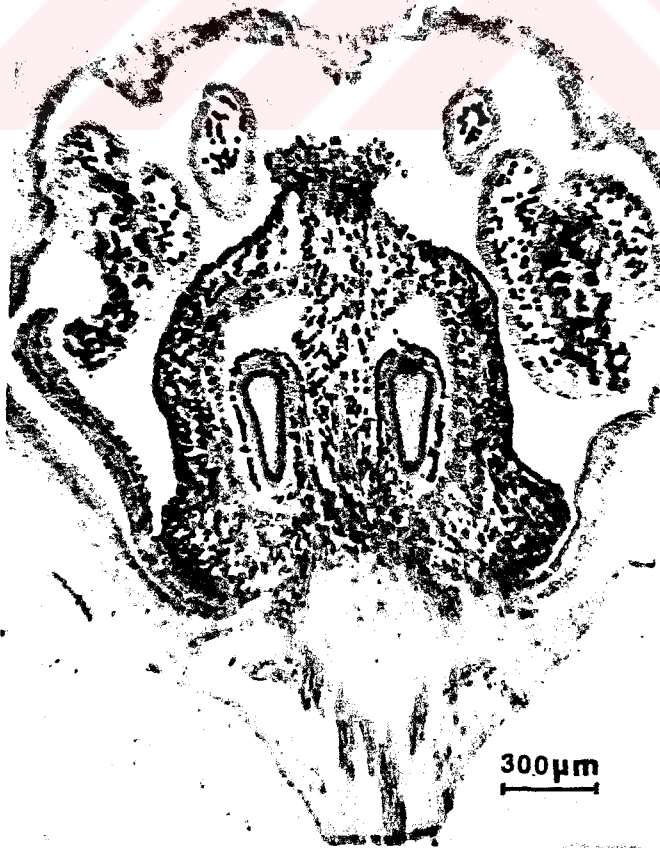
Şekil 4.5. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde tohum taslağında fonksiyonel megaspor.
m: megaspor

Açılmaya hazır kapalı çiçek dönemi

Bu gelişme dönemine ait ovaryum kesitlerinde şalazal megasporun ard arda üç mitoz bölünme geçirmesiyle meydana gelen sekiz çekirdekli embriyo kesesi belirlenmiştir.

Şekil 4.6'da Karasakız üzüm çeşidine ait kapalı bir çiçeğin boyuna kesiti, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de sekiz çekirdekli embriyo kesesini oluşturmak üzere dört çekirdekli embriyo kesesinde bölünmekte olan çekirdekler görülmektedir.

Karasakız üzüm çeşidinde embriyo kesesinin gelişimi, Maheshwari (1950) tarafından sınıflandırılmış olan embriyo kesesi gelişim tiplerinden "monosporik-poligonum" tipine girmektedir. Buna göre, olgun bir embriyo kesesini oluşturan yumurta hücresi, antipot ve sinerjit hücreleri ile polar çekirdeklerin kese içerisindeki gelişme ve dağılımlarının normal olduğu belirlenmiştir.

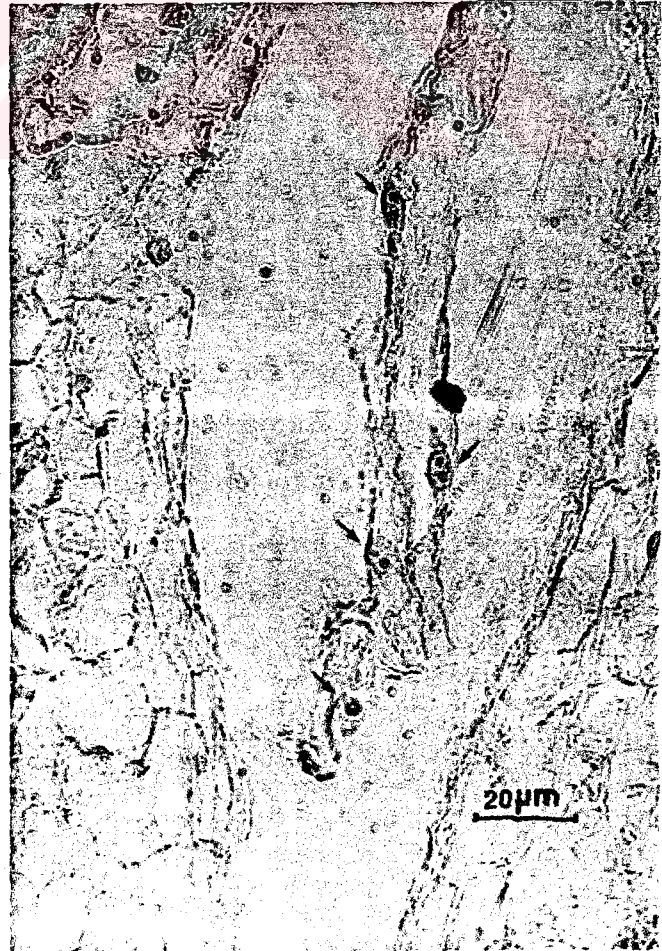


Şekil 4.6. Açılmaya hazır kapalı bir çiçeğin boyuna kesiti.



Şekil 4.7. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde megagametogenez sırasında bölünmekte olan dört çekirdekli embriyo kesesi.

Şekil 4.8. Aynı tohum taslağının büyütülmüş halinde sekiz çekirdeği oluşturmak üzere bölünmekte olan dört çekirdekli embriyo kesesi.



Çiçeklenmeden önceki bu dönemde polar çekirdekler birleşmek üzere embriyo kesesinin merkezine doğru göç etmişlerdir (Şekil 4.9). Ancak embriyo kesesinin şalaza kısmında yer alan üç antipod hücresi aynı kesit düzlemi üzerinde olmadığından şekil 4.10'daki fotoğrafta iki antipod hücresi görülmektedir. Benzer şekilde mikropil tarafında yer alan yumurta hücresi, sinerjitlerden biri ile aynı düzlem üzerinde görülürken, ikinci sinerjit hücresi ancak seri kesitlerin devamında görülebilmektedir. Şekil 4.11'de olgun bir embriyo kesesinde döllenmeye hazır yumurta hücresi ile bir sinerjit hücresi görülmektedir.



Şekil 4.9. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde embriyo kesesinin merkezinde birleşmekte olan iki polar çekirdek.
pç: polar çekirdek

Şekil 4.10. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde olgun embriyo kesesinin şalazal kutbunda antipot hücreleri.
an: antipot hücresi



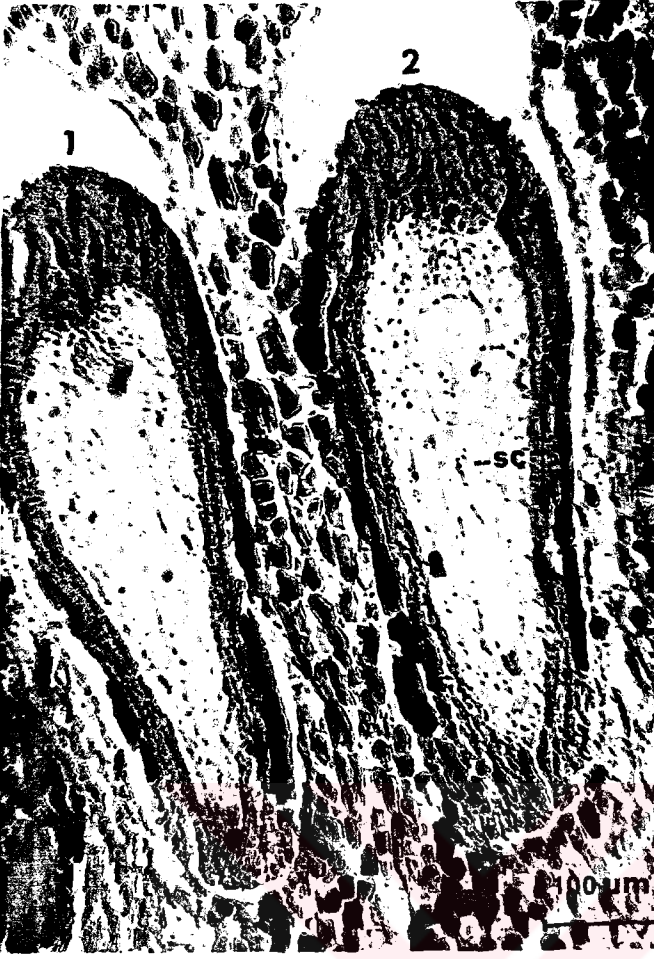
Şekil 4.11. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde olgun embriyo kesesinin mikropilar kutbunda yumurta hücresi ve bir sinerjit hücresi.
y: yumurta hücresi; sn: sinerjit hücresi



Tam çiçeklenme dönemi

Açılmış çiçeklerde polar çekirdeklerin embriyo kesesinin hemen hemen merkezinde birleşmesi ile oluşan diploid yapıdaki sekonder çekirdek, birleşmeden sonra tohum taslağının mikropilar kutbuna doğru göç etmiştir (Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). Bu safhada embriyo kesesinin döllenmeye hazır yumurta hücresi ile ovaryumun plasentasında mikropile doğru ilerlemekte olan polen tüplerinin varlığı belirlenmiştir (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17).

Karacakız üzüm çeşidinin dördüncü gelişme dönemine ait ovaryum kesitlerinde büzülerek aborsiyona uğramış embriyo keselerine de rastlanmıştır (Şekil 4.18). Görülme oranı son derece düşük olan bu dejenerasyon şeklinde embriyo kesesi ve nusellus hücreleri iç integüment hücreleri ile birlikte büzülmüş ve tohum taslağının dış integümentinden ayrılmışlardır. Bu döneme ait yalnız üç tohum taslağında embriyo kesesinin büzülerek aborsiyona uğradığı tespit edilmiştir.



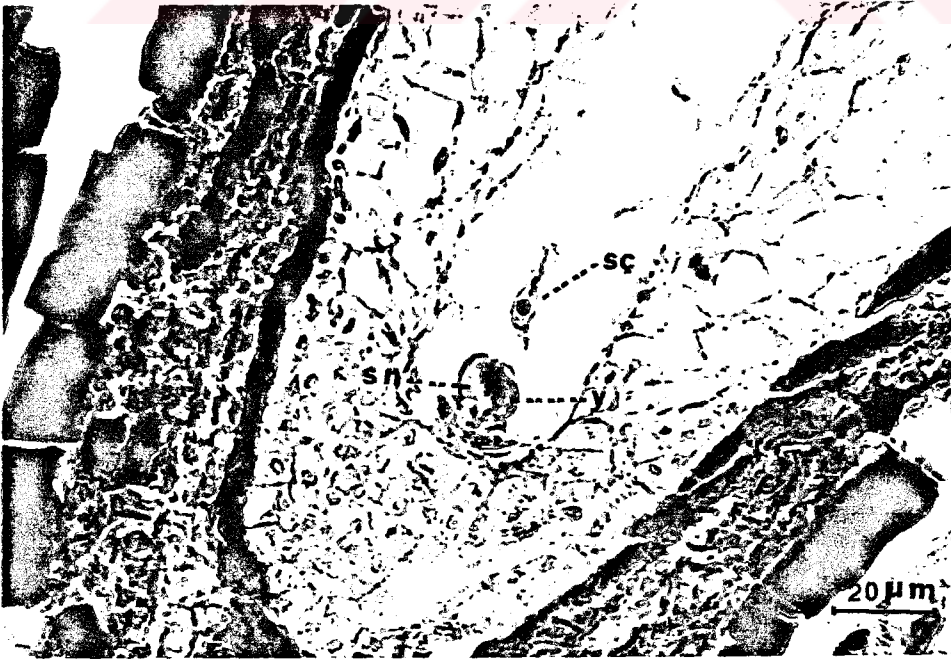
Şekil 4.12. Tam çiçeklenme döneminde iyi gelişmiş tohum taslakları ve 2 no'lu tohum taslağında embriyo kesesinin merkezinde birleşmiş polar çekirdekler (sekonder çekirdek).
sç: sekonder çekirdek

Şekil 4.13. Aynı ovaryumda 2 no'lu tohum taslağında sekonder çekirdeğin büyütülmüş görüntüsü.
sç: sekonder çekirdek.





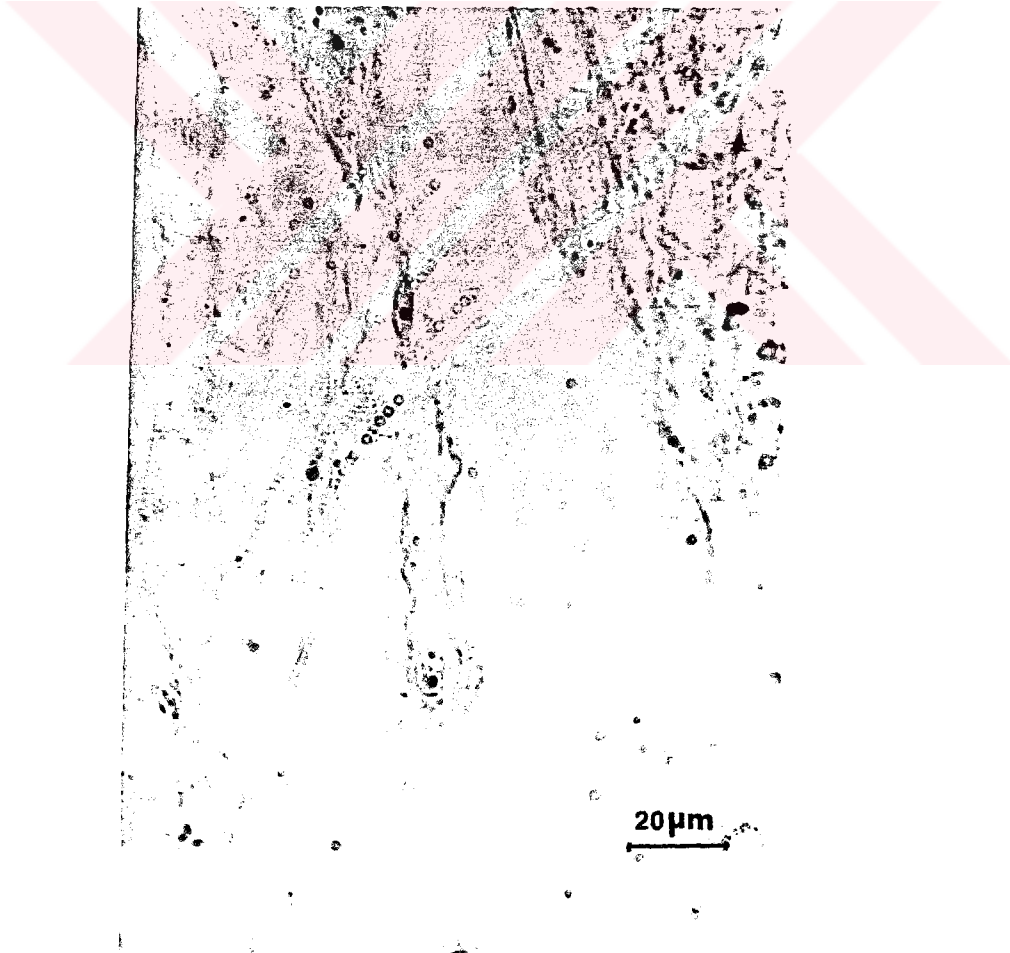
Şekil 4.14. Tam çiçeklenme döneminde döllenmeye hazır olgun embriyo kesesi.



Şekil 4.15. Tam çiçeklenme döneminde döllenmeye hazır embriyo kesesinde mikropilar kutupta yumurta hücresi ve sekonder çekirdek.
 sc: sekonder çekirdek; y: yumurta hücresi;
 sn: sinerjit hücresi.



Şekil 4.16. Tam çiçeklenme döneminde döllenmeye hazır yumurta hücresi.



Şekil 4.17. Tam çiçeklenme döneminde ovaryumun plasentasında ilerlemekte olan polen tüpü.



Şekil 4.18. Tam çiçeklenme döneminde iç integüment ile birlikte büzülmüş embriyo kesesi.

Döllenmiş çiçek dönemi

Bu gelişme dönemine ait çiçeklerden alınan kesitlerde tohum taslağında yumurta hücresinin döllenmesi ile meydana gelen zigot ve sekonder çekirdeğin döllenmesi ile meydana gelen endosperm primer çekirdeği (triploid çekirdek) belirlenmiştir (Şekil 4.19). Buna göre, Karasakız üzüm çeşidinde çift döllenme (Double fertilization) olayı normal olarak gerçekleşmiştir. Döllenme tamamlandıktan sonra endosperm primer çekirdeği yeniden tohum taslağının orta kısmına doğru göç etmiştir (Şekil 4.20).

Bu aşamada tohum taslağını çevreleyen integümentlerin normal olarak geliştiği; iç integümentin daha ince tabakalı bir yapı halinde kaldığı, buna karşılık dış integüment hücrelerinin çok tabakalı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.19. Dölllenmiş tohum taslağında zygot ve endosperm primer çekirdeği.
z: zygot;
epç: endosperm primer çekirdeği

Şekil 4.20. Dölllenmiş tohum taslağında döllenmeden sonra embriyo kesesinin merkezine göç etmiş endosperm primer çekirdeği.





Şekil 4.21. Dölleniş çiçek döneminde iyi gelişmiş bir tohum taslağı.

Küçük.saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi

Bu gelişme döneminde tohum taslaklarının büyük çoğunluğunun funikulustan ayrıldığı ve çekirdek formunun oluşmaya başladığı görülmüştür (Şekil 4.22).

Tohum taslağında embriyo gelişiminin ilk aşaması olan zigotun enine bölünmesi gerçekleşmiş ve böylece bazal ve apikal hücrelerden oluşan iki hücreli proembriyo oluşmuştur (Şekil 4.23). Buna göre Karasakız üzüm çeşidinde tam çiçeklenmeden zigotun ilk bölünmesine kadar geçen sürenin 19-21 gün olduğu belirlenmiştir.

Şekil 4.22. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde funikulustan ayrılmış tohum taslakları.



Şekil 4.23. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde iki hücreli proembriyo
ah: apikal hücre;
bh: bazal hücre



Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi

Bu gelişme dönemine ait çekirdeklerden alınan boyuna kesitlerde, embriyogenik gelişmenin en önemli aşamalarından biri olan "globular embriyo" safhasından "kalp şekilli embriyo"ya geçiş safhası tespit edilmiştir (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25).



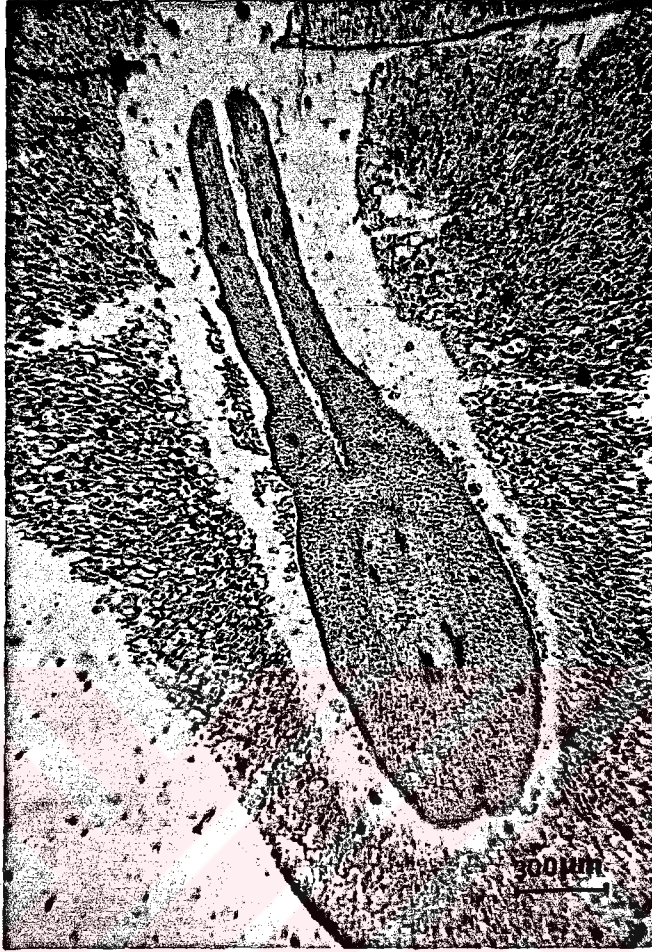
Şekil 4.24. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemini tanımlayan bir çekirdeğin boyuna kesiti.



Şekil 4.25. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde globular embriyo safhasından kalp şekilli embriyoya geçiş safhası.

Olgun tane dönemi

Olgun çekirdeklerden alınan kesitlerde iyi gelişmiş embriyo görülmüştür. Tohum içerisinde embriyonun, kök ucu mikropil tarafında olmak üzere, mikropil-şalaza ekseninde dik olarak yer aldığı ve çekirdeğin dorsal tarafına daha yakın olduğu belirlenmiştir. Gelişmesini tamamlamış olgun embriyonun boyu 2464.2 μm olarak ölçülmüştür (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Olgun bir çekirdekte iyi gelişmiş bir embriyonun boyuna kesiti.

4.1.2. Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun gelişimi

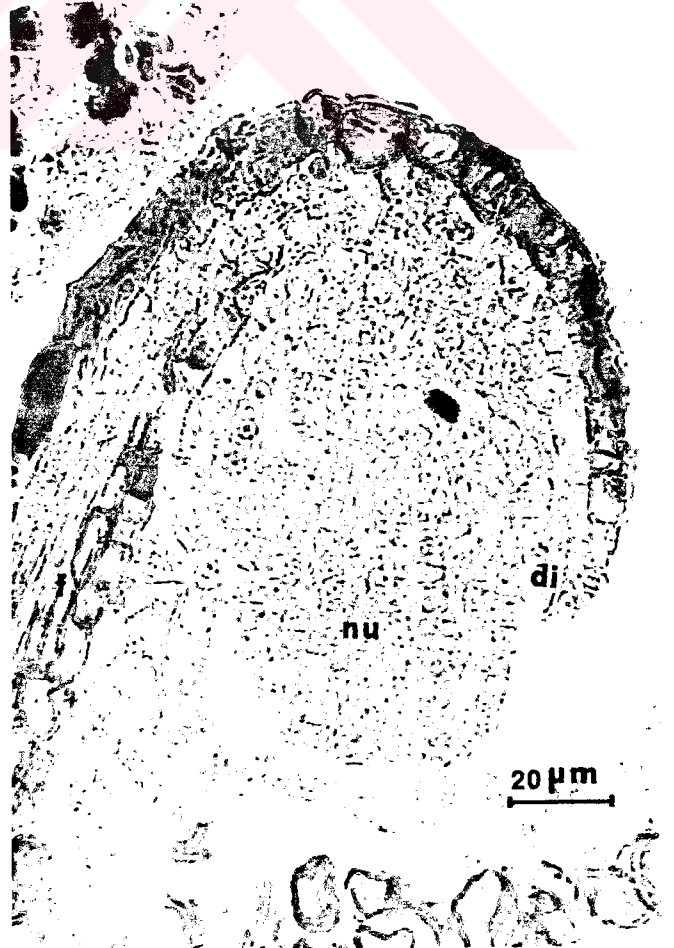
Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek dönemi

Bu gelişme dönemine ait çiçek kesitlerinde ovaryumun plasentasında "anatrop" tipte tohum taslaklarının farklılaşmaya başladığı gözlenmiştir. Tohum taslaklarının funikulus ile plasentaya bağlı olduğu ve ilk olarak iç integümentin farklılaşmaya başladığı belirlenmiştir (Şekil 4.27 ve Şekil 4.28).

Şekil 4.27. Braktelerden henüz ayrılmış kapalı bir çiçeğin boyuna kesiti.



Şekil 4.28. Braktelerden henüz ayrılmış kapalı çiçek döneminde farklılaşmakta olan tohum taslağı.
di: dış integüment;
nu: nusellus hücreleri; f: funikulus



Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek dönemi

Bu gelişme dönemine ait çiçek kesitlerinde normal gelişme gösteren tohum taslaklarının yanısıra, şekil olarak tamamıyla kusurlu tohum taslakları da belirlenmiştir.

Normal gelişme gösteren tohum taslaklarında iç ve dış integümentlerin gelişmesi kusursuz olmuştur. Bu tohum taslaklarında iç integüment daha uzun yapılı olup tohum taslağının mikropiline kadar ulaşırken, dış integüment, gelişmenin bu safhasında daha kısa yapılı olmasıyla ayırt edilmektedir (Şekil 4.29).

Bu dönem örneklerinde, tohum taslağını kaplayan nusellus hücrelerinin orta kısmında daha büyük yapılı ve bol sitoplazmalı olması ile ayırt edilen megaspor ana hücresi belirlenmiştir (Şekil 4.30). Megaspor ana hücresinin mayoz bölünmeye uğraması ile haploid yapıda dört megaspor meydana gelmiş ve bunlardan yalnız birinin canlı kaldığı, diğer üçünün ise dejenere olarak kaybolduğu belirlenmiştir (Şekil 4.31 ve Şekil 4.32). Böylece normal gelişen tohum taslaklarında megasporogenez tamamlanmıştır.

Bu örneklerde belirlenen kusurlu tohum taslaklarında ise, anatrop yapının bütünüyle bozulduğu görülmüştür. Yalnız dış integümentin belirlenebildiği bu tohum taslaklarında, nusellus hücrelerinin aşırı bir gelişme göstererek tohum taslağının dışına taşıdığı belirlenmiştir (Şekil 4.33 ve Şekil 4.34). İntegüment ve nusellus dejenerasyonu görülen bu tohum taslaklarında megasporogenezin gerçekleşmediği tespit edilmiştir.

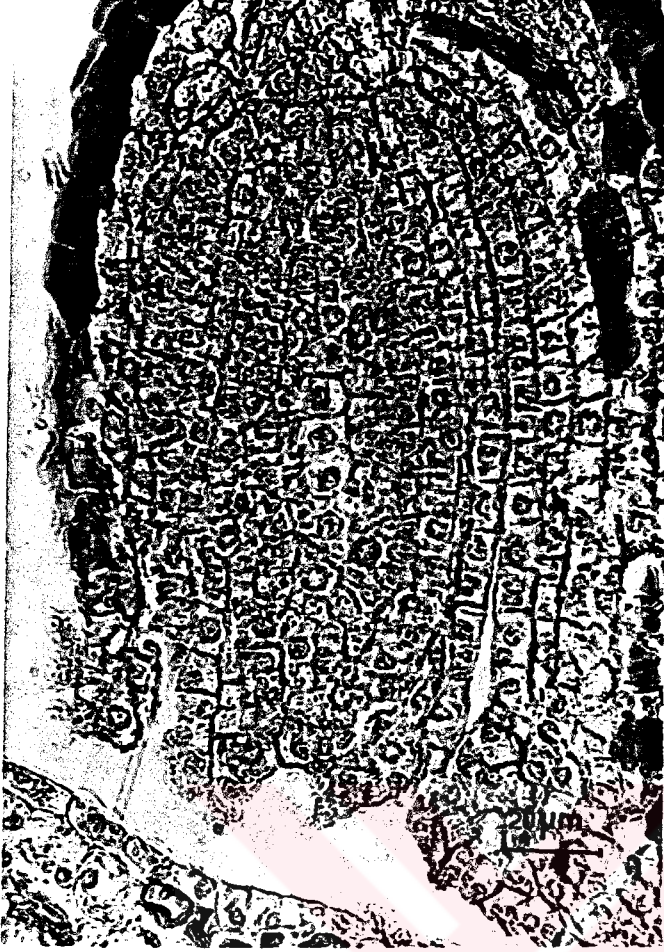
Şekil 4.29. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde normal gelişme gösteren tohum taslakları.



Şekil 4.30. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde tohum taslağında oluşan megaspor ana hücresi.

ma: megaspor ana hücresi;
 nu: nusellus; m: mikropil;
 di: dış integüment;
 ii: iç integüment

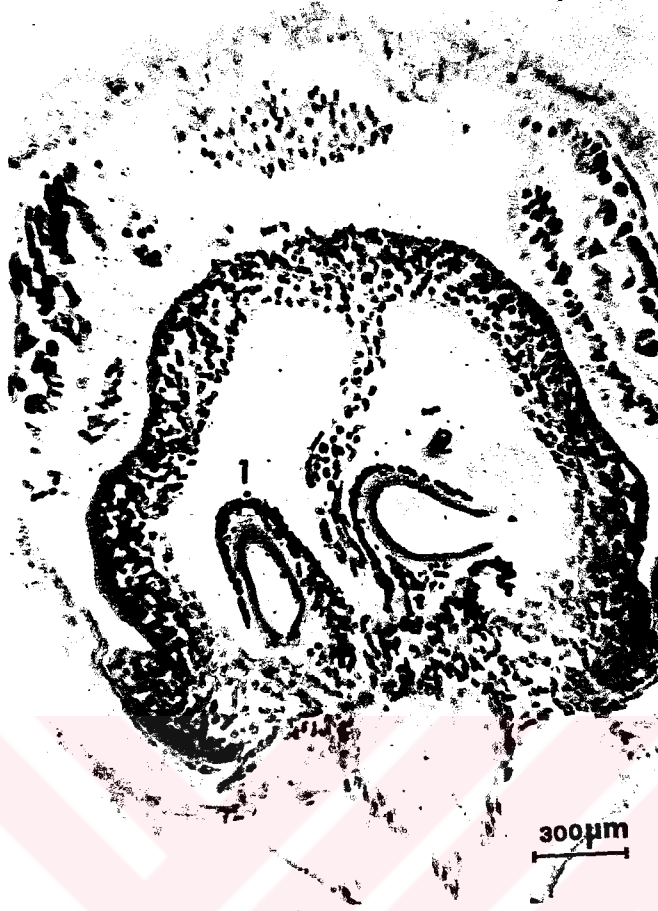




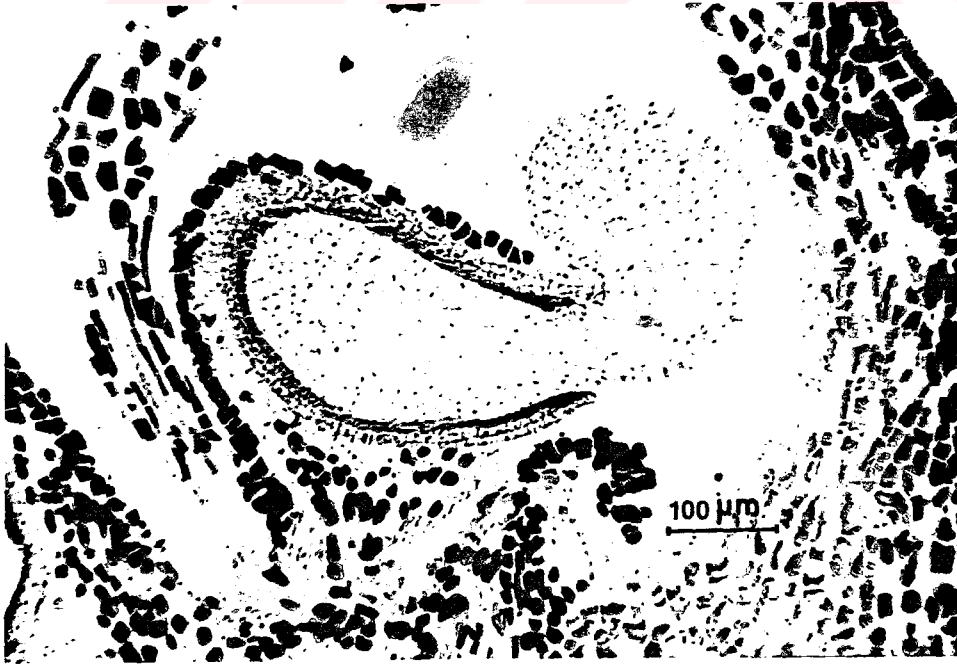
Şekil 4.31. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde megasporogenez sırasında dört hücreli evre (tetrat).
t: tetrat

Şekil 4.32. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek döneminde tohum taslağında fonksiyonel megaspor.
m: megaspor





Şekil 4.33. Taç yaprakları belirginleşmiş kapalı bir çiçekte kusurlu gelişme gösteren tohum taslağı (2 no'lu).

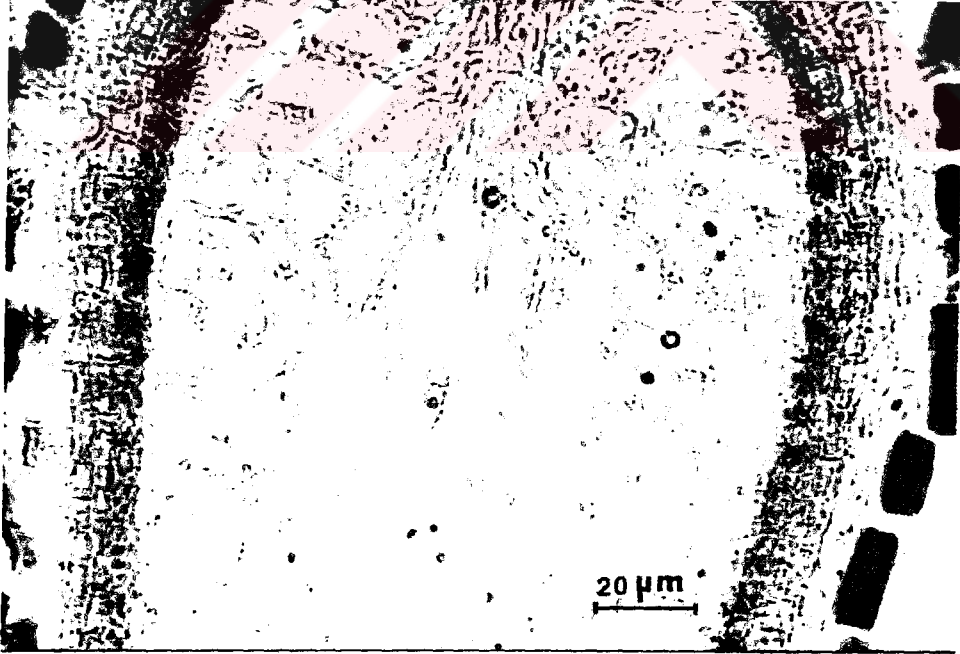


Şekil 4.34. Nusellus ve integüment dejenerasyonunun görüldüğü kusurlu tohum taslağının büyütülmüş görüntüsü.

Açılmaya hazır kapalı çiçek dönemi

Açılmaya hazır çiçek örneklerinden alınan kesitlerde normal gelişme gösteren tohum taslaklarında megagametogenez izlenmiştir. Buna göre, monosporik-poligonum tip embriyo kesesi gelişim aşamalarından iki çekirdekli embriyo kesesi gözlenmiş; sekiz çekirdekli olgun bir embriyo kesesinin elemanları olan antipod hücreleri, yumurta hücresi ve sinerjitler ile çekirdeklerin polarizasyonu sırasında mikropilar ve şalazal kutuptan gelen polar çekirdeklerin kaynaşması ve diploid yapıdaki sekonder çekirdeğin oluşumu belirlenmiştir (Şekil 4.35; Şekil 4.36; Şekil 4.37; Şekil 4.38 ve Şekil 4.39).

Bu döneme ait örneklerde normal yapıda oldukları halde nusellus hücrelerinde hiçbir farklılaşmanın meydana gelmediği tohum taslaklarına da rastlanmıştır (Şekil 4.40).



Şekil 4.35. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde iki çekirdekli embriyo kesesi.



Şekil 4.36. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde olgun embriyo kesesinde şalazal kutupta yer alan antipot hücreleri.
an: antipot hücresi



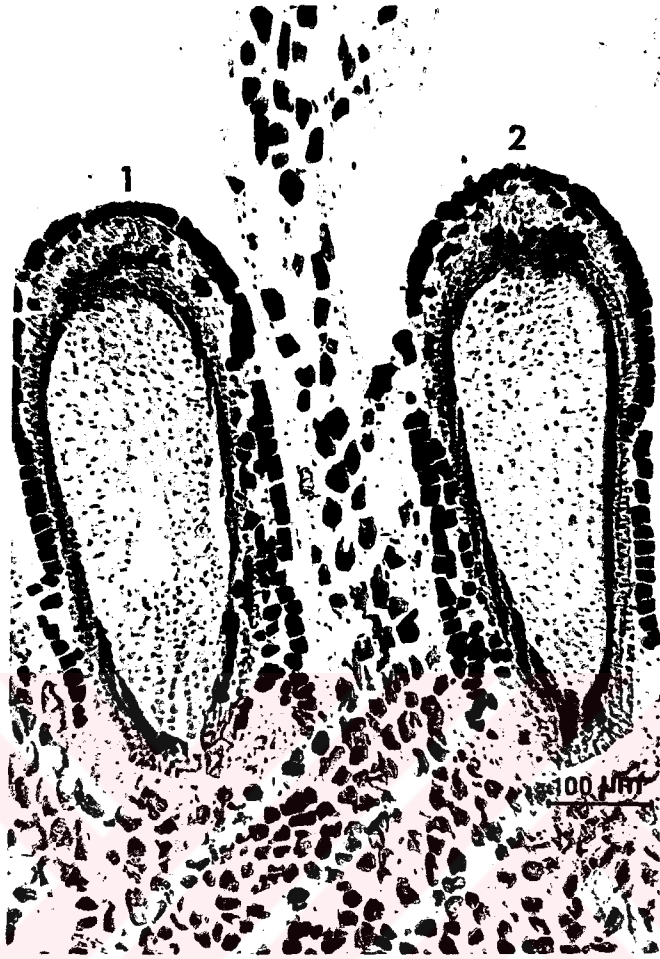
Şekil 4.37. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde olgun embriyo kesesinde mikropilar kutupta yer alan yumurta hücresi ve sinerjit hücreleri.
y: yumurta hücresi; sn: sinerjit hücresi



Şekil 4.38. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde olgun embriyo kesesinde merkezde birleşmekte olan polar çekirdekler.
pç: polar çekirdek

Şekil 4.39. Açılmaya hazır kapalı çiçek döneminde birleşmiş polar çekirdekler (sekonder çekirdek).
sç: sekonder çekirdek





Şekil 4.40. Açılmaya hazır kapalı bir çiçek kesitinde nusellus hücreleri ile kaplı ve dişi gametofitin gelişemediği tohum taslağı (2 no'lu).

Tam çiçeklenme dönemi

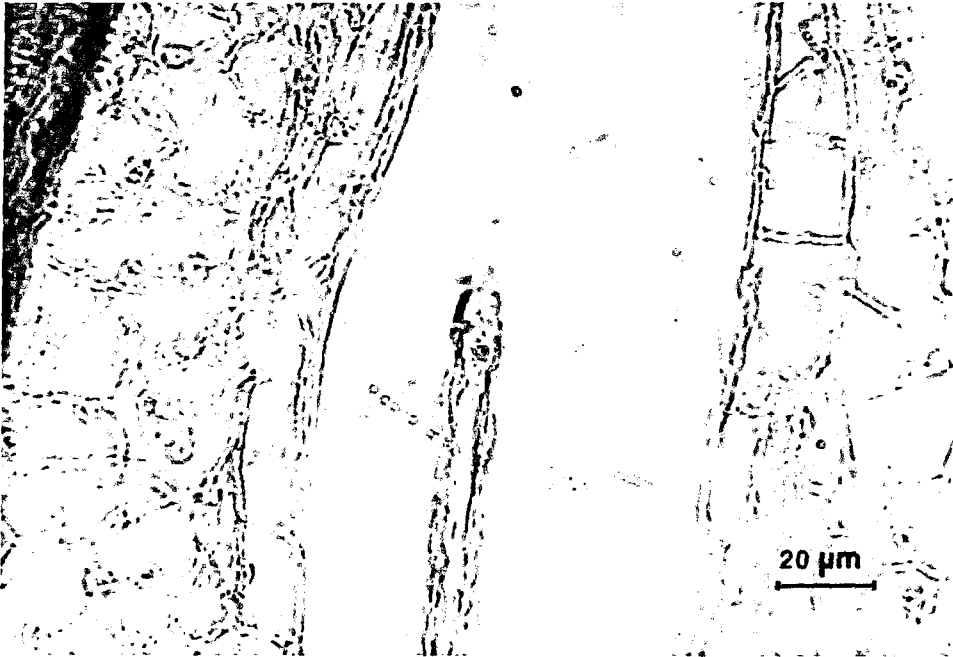
Tam çiçeklenme dönemine ait ovaryum kesitlerinde sekonder çekirdeğin yumurta hücresine doğru yaklaştığı, böylece yumurta hücresi ve sekonder çekirdeğin döllenmeye hazır olduğu belirlenmiştir. Bu aşamada sinerjitler yumurta hücresini kapatmış olarak görülmüşlerdir (Şekil 4.41).

Bu döneme ait bazı tohum taslaklarında polen tüplerine de rastlanmış olup bu tohum taslaklarında yumurta hücresi ve sekonder çekirdeğin döllenmiş olduğu kabul edilmiştir (Şekil 4.42 ve Şekil 4.43).

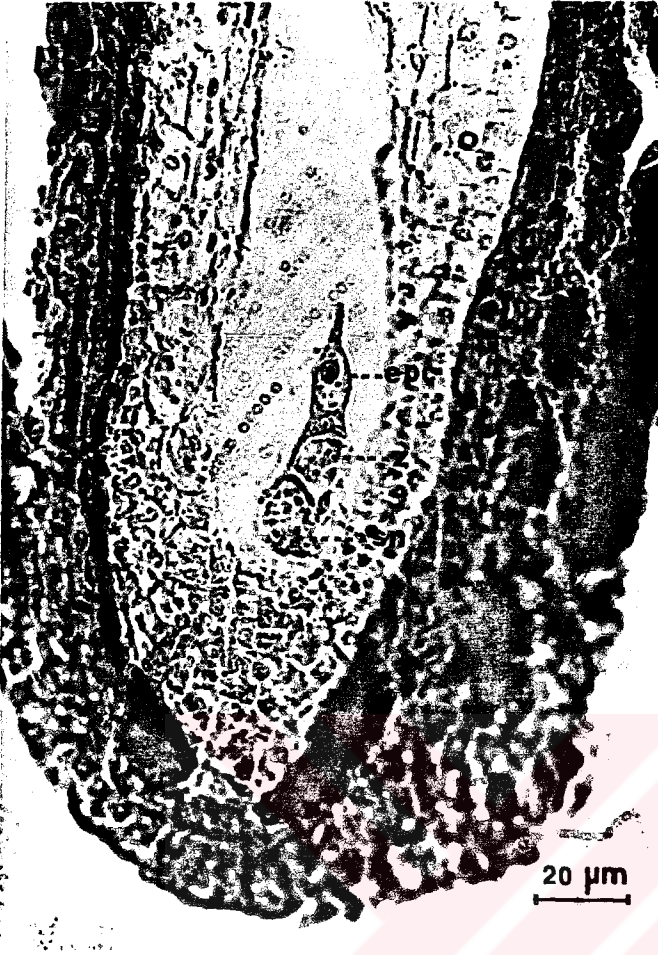
Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun dördüncü gelişme dönemine ait örneklerden alınan kesitlerde, embriyo kesesinin büzülerek aborsiyona uğradığı belirlenmiştir. Embriyo kesesi ve nusellus hücrelerinin iç integument ile birlikte büzülerek dış integumentten ayrıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.44).



Şekil 4.41. Tam çiçeklenme döneminde döllenmeye hazır olgun embriyo kesesi.
sç: sekonder çekirdek; y: yumurta hücresi;
sn: sinerjit hücresi

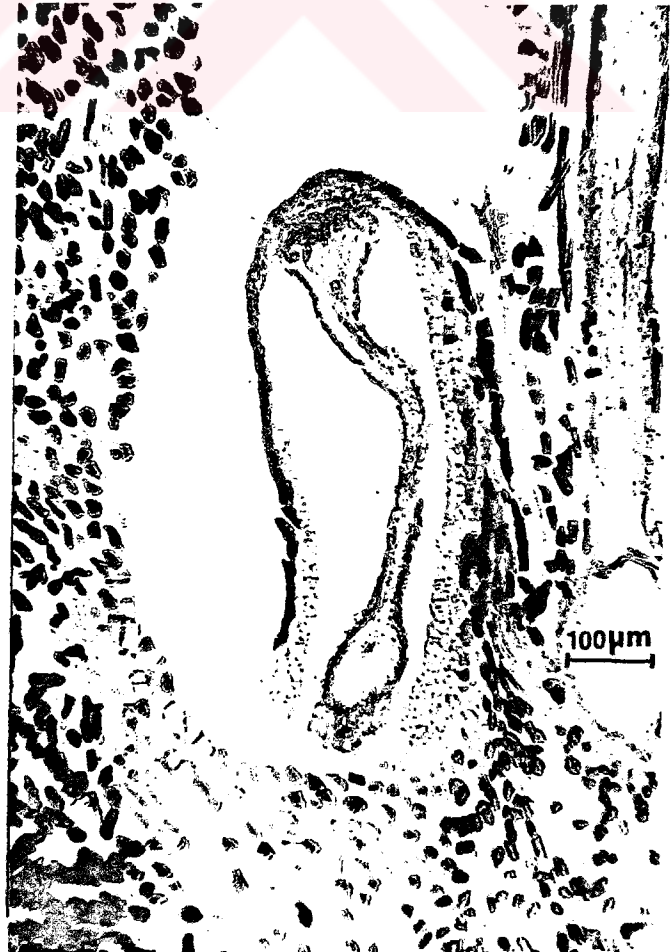


Şekil 4.42. Tam çiçeklenme dönemine ait bir tohum taslağında polen tüpü.



Şekil 4.43. Tam çiçeklenme döneminde döllenen tohum taslağı.
epç: endosperm primer çekirdeği;
z: zigot; sn: sinerjit hücresi

Şekil 4.44. Tam çiçeklenme döneminde iç integüment ile birlikte büzülmüş embriyo kesesi.



Döllenmiş çiçek dönemi

Bu gelişme dönemine ait örneklerden alınan kesitlerde, tohum taslağında zigot dinlenmeye girerken (Şekil 4.45), triploid çekirdek endospermi oluşturmak üzere embriyo kesesinin merkezine doğru göç etmiştir (Şekil 4.46).

Döllenmiş çiçek örneklerinde tohum taslaklarını çevreleyen integümentler incelendiğinde iç integümentin giderek ince bir yapı kazandığı, dış integümentin ise daha fazla gelişerek büyük yapılı, hücre duvarları kalın hücre sıralarına sahip olmaya başladığı görülmüştür.



Şekil 4.45. Döllenmiş tohum taslağında dinlenme halindeki zigot.
z: zigot;



Şekil 4.46. Dölllenmiş bir tohum taslağında embriyo kesesinin merkezine göç etmiş endosperm primer çekirdeği (triploid çekirdek).
epç: endosperm primer çekirdeği

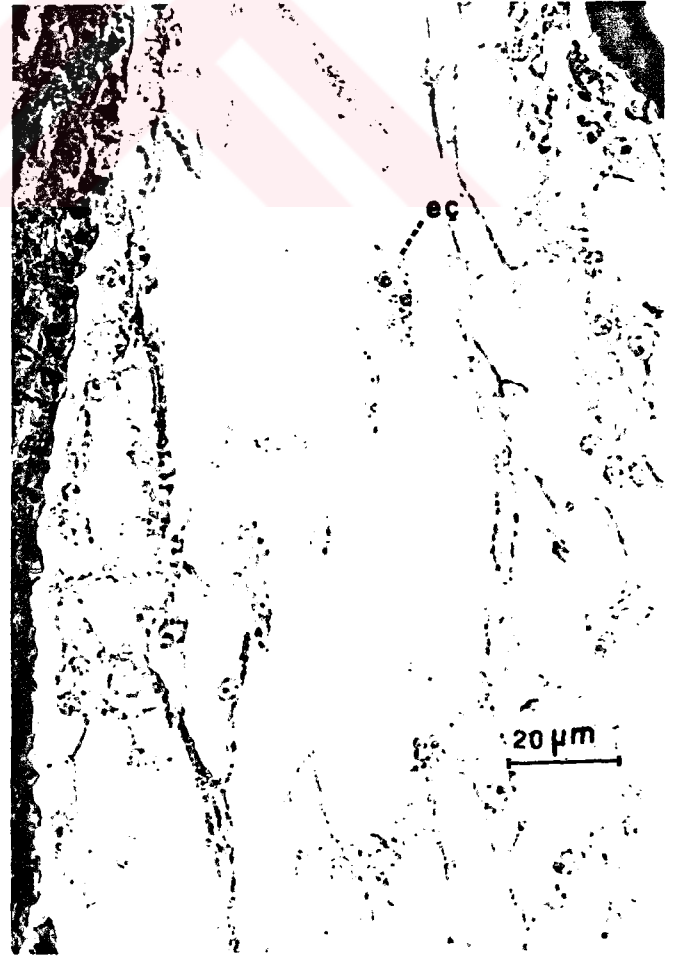
Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi

Tohum taslaklarında çekirdek formunun oluşmaya başladığı altıncı gelişme dönemine ait tohum taslağı kesitlerinde embriyogenik bir gelişme tespit edilememiştir. Bu aşamada tohum taslağının mikropil tarafında bulunan zigotta büyük bir vakuolün oluştuğu görülmüştür. Zigotun vakuolizasyonu dejenerasyonun başladığını göstermektedir (Şekil 4.47). Bununla birlikte aynı tohum taslaklarında serbest endosperm çekirdekleri belirlenmiştir (Şekil 4.48 ve Şekil 4.49).

Şekil 4.47. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde iyi gelişmiş tohum taslağında dejenere olan zigot.
z: zigot; v: vakuol



Şekil 4.48. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait bir çekirdek kesitinde bölünmekte olan serbest endosperm çekirdekleri.



Şekil 4.49. Aynı tohum taslağında embriyo kesesinin mikropil tarafında bölünmekte olan serbest endosperm çekirdekleri.

Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi

Bu gelişme dönemine ait çekirdeklerden alınan boyuna kesitlerde embriyogenik bir gelişmeye rastlanılmamış olup, bu safhada sadece serbest endosperm çekirdekleri görülebilmektedir (Şekil 4.50 ve Şekil 4.51).



Şekil 4.50. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait bir çekirdeğin boyuna kesiti.

Olgun tane dönemi

Olgun tane dönemine ait olgun çekirdeklerden alınan kesitlerde embriyoya rastlanılmamış, buna karşılık endosperm dokusunun geliştiği görülmüştür (Şekil 4.52).



Şekil 4.51. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde embriyogenik gelişmenin olmadığı bir çekirdek kesitinde serbest endosperm çekirdekleri.
ec: endosperm çekirdeği

Şekil 4.52. Olgun tane dönemine ait olgun bir çekirdek kesitinde endosperm dokusu .



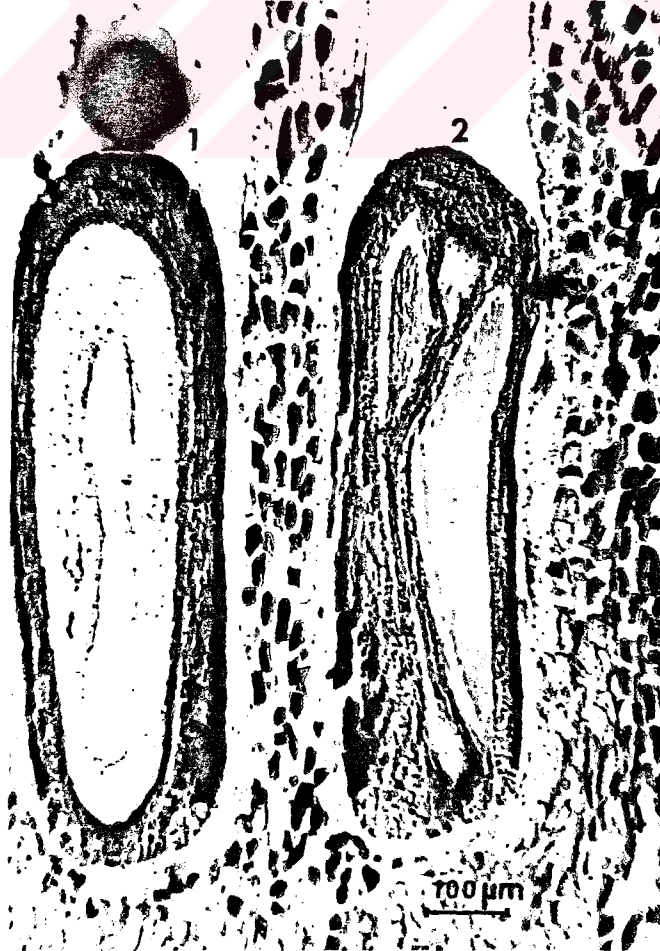
4.1.3. Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun gelişimi

Tam çiçeklenme dönemi

Tam çiçeklenme dönemi örneklerine ait kesitlerde döllenmeye hazır kusursuz tohum taslaklarının yanısıra, embriyo kesesinin büzüldüğü tohum taslaklarına da rastlanmıştır (Şekil 4.53).

İç ve dış integümentler ile embriyo kesesinin kusursuz olarak gelişmeye devam ettiği tohum taslaklarında, döllenmeden önce embriyo kesesinin mikropile daha yakın orta kısmında polar çekirdeklerin birleşmekte olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.54 ve Şekil 4.55). Birleşmeden sonra oluşan diploid yapıdaki sekonder çekirdek kısa bir süre birleşme yerinde kalmıştır (Şekil 4.56 ve Şekil 4.57). Döllenmeye hazır olgun embriyo keselerinde yumurta hücresi ve sinerjitlerin iyi gelişmiş yapıları ile mikropil tarafında yer aldıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.58 ve Şekil 4.59).

Döllenmiş yumurta hücresi (zigot) ve sekonder çekirdeğin (endosperm primer çekirdeği) ise temas halinde oldukları gözlenmiştir (Şekil 4.60).



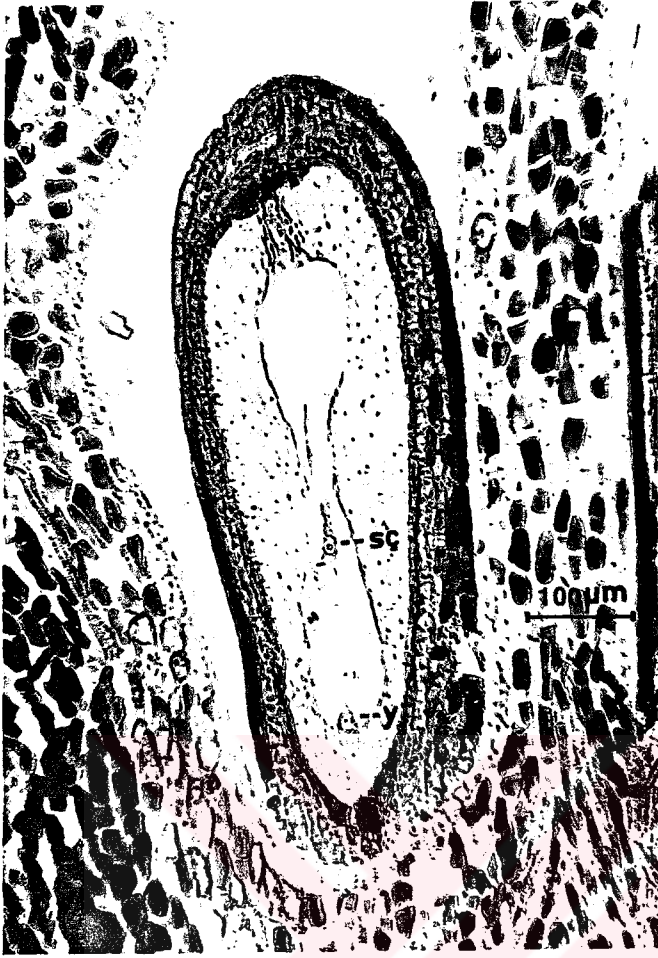
Şekil 4.53. Tam çiçeklenme döneminde aynı ovaryumda normal (1 no'lu) ve kusurlu (2 no'lu) gelişen tohum taslakları.



Şekil 4.54. Tam çiçeklenme döneminde embriyo kesesinin merkezinde birleşmekte olan polar çekirdekler.
pç: polar çekirdek

Şekil 4.55. Aynı tohum taslağında polar çekirdeklerin büyütülmüş görüntüsü.
pç: polar çekirdek



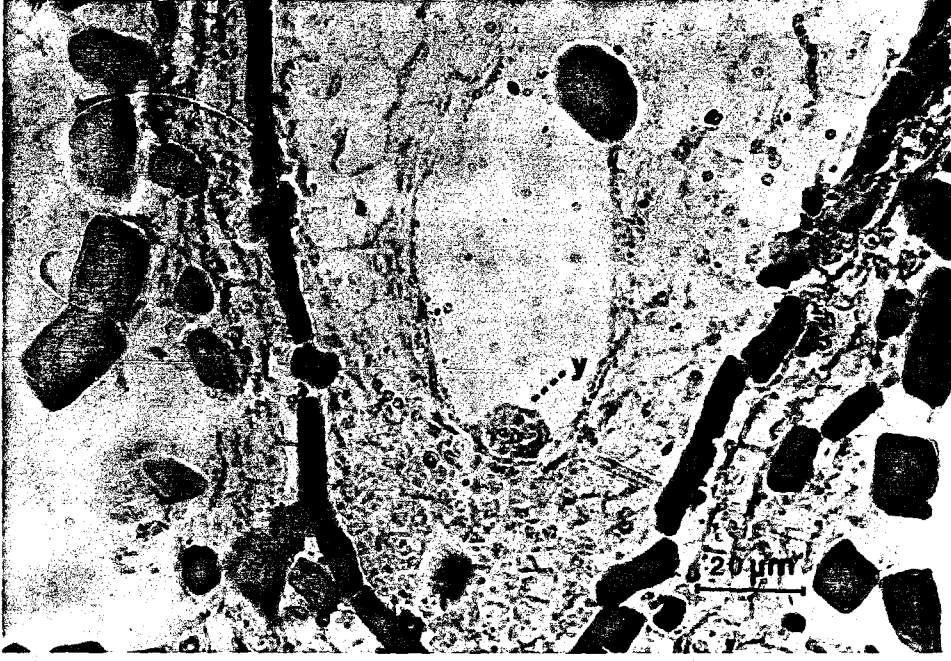


Şekil 4.56. Tam çiçeklenme döneminde embriyo kesesinin merkezinde bulunan sekonder çekirdek.

sç: sekonder çekirdek; y: yumurta hücresi

Şekil 4.57. Aynı tohum taslağında embriyo kesesinin yakın çekimle elde edilen görüntüsü.
sç:sekonder çekirdek;
y: yumurta hücresi





Şekil 4.58. Tam çiçeklenme döneminde döllenmeye hazır olgun yumurta hücresi.
y: yumurta hücresi



Şekil 4.59. Tam çiçeklenme döneminde olgun embriyo kesesinde sinerjit hücreleri.
sn: sinerjit hücresi.



Şekil 4.60. Tam çiçeklenme döneminde döllenmiş tohum taslağı.
epç: endosperm primer çekirdeği; z: zigot

Döllenmiş çiçek dönemi

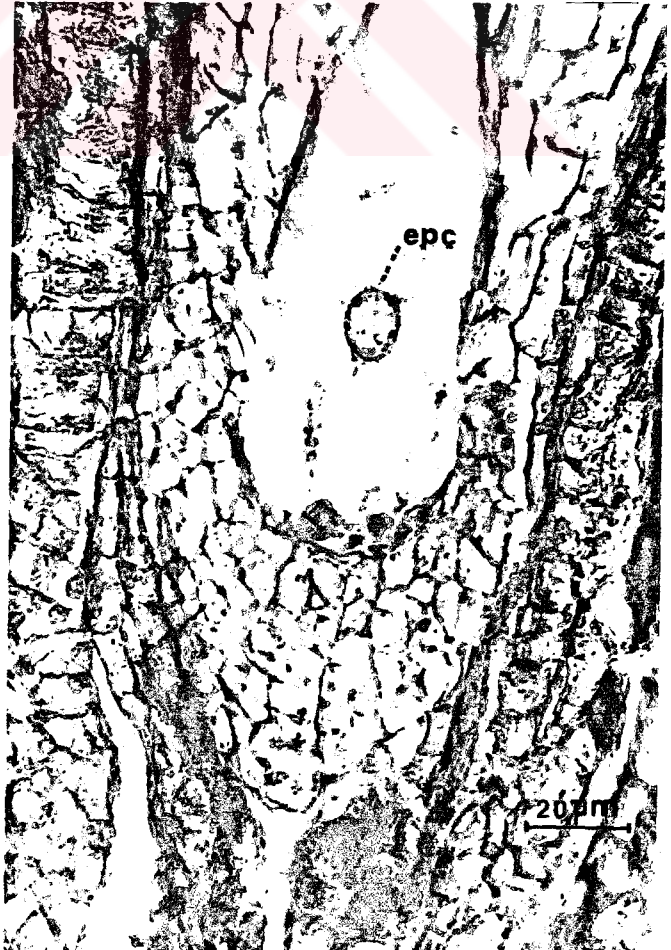
Bu döneme ait örneklerden alınan kesitlerde, döllenmiş tohum taslaklarında zigot, döllendikten sonra yeniden embriyo kesesinin merkezine doğru kaymaya başlamış olan endosperm primer çekirdeği (triploid çekirdek) ve sitoplazmik yapılarını kaybederek dejenere olan sinerjit hücreleri belirlenmiştir (Şekil 4.61, Şekil 4.62 ve Şekil 4.63).

Bu safhada, tam çiçeklenme aşamasında alınan kesitlerde olduğu gibi embriyo kesesi ve iç integümentlerin birlikte büzülerek dış integümentten ayrıldığı görülmüştür (Şekil 4.64).



Şekil 4.61. Döllenmiş tohum taslağında zigot.
z: zigot

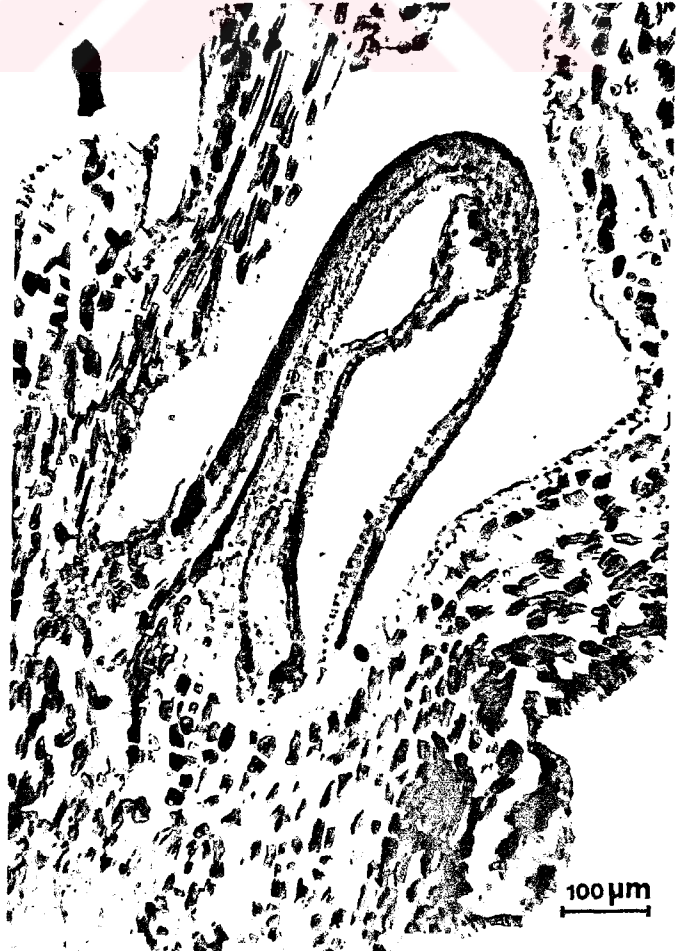
Şekil 4.62. Döllenmiş tohum taslağında endosperm primer çekirdeği (triploid çekirdek).
epç: endosperm primer çekirdeği





Şekil 4.63. Dölllenmiş bir tohum taslağında zigot ve kaybolmakta olan sinerjit hücreleri.
z: zigot; sn:sinerjit hücresi

Şekil 4.64. Dölllenmiş çiçek döneminde iç integument ile birlikte büzülmüş embriyo kesesi.

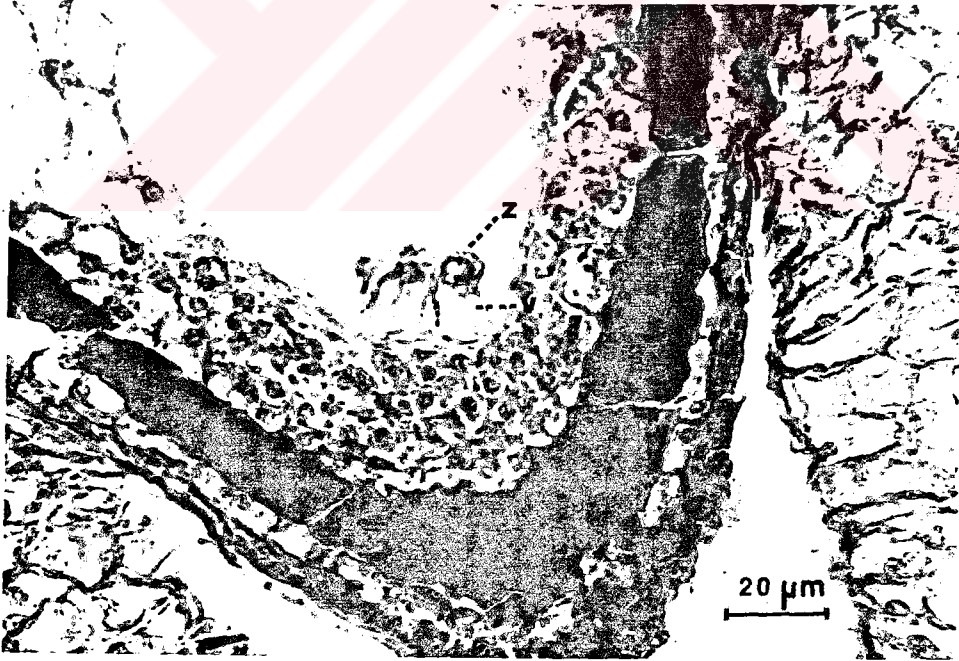


Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi

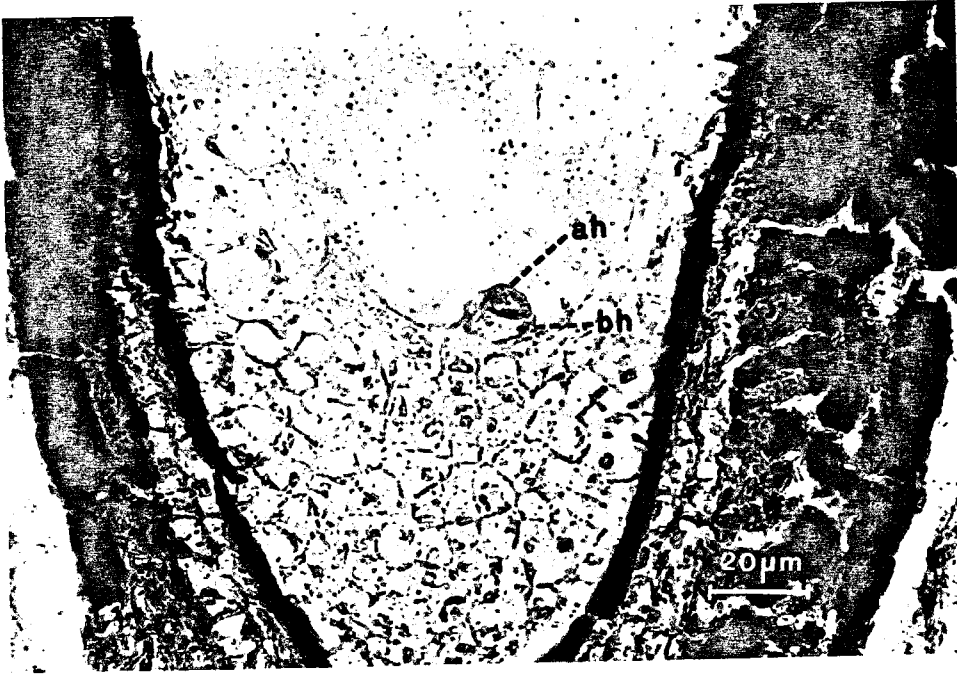
Çekirdek formunun oluşmaya başladığı bu dönemde alınan örneklerdeki tohum taslaklarının bir bölümünde zigot dejenerasyonu görülmüş, bazı tohum taslaklarında ise zigotun bölünmeye başladığı tespit edilmiştir. Normal bir gelişmede zigot hücresinde küçük bir yer tutan vakuolün dejenere olan zigotta hemen hemen bütün yapıyı kapladığı belirlenmiştir (Şekil 4.65).

Aynı gelişme dönemine ait bazı tohum taslaklarında ise zigotun enine bölünmesi ile oluşan iki hücreli proembriyo ile (Şekil 4.66), apikal ve bazal hücrelerde bölünmelerin gerçekleştiği proembriyo topluluğuna rastlanmıştır (Şekil 4.67).

Bozcaada Çavuşu X Karasakız örneklerinde tam çiçeklenmeden zigotun ilk bölünmesine kadar geçen sürenin 17-18 gün olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.65. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait bir tohum taslağında zigot dejenerasyonu.
z: zigot; v: vakuol



Şekil 4.66. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde iki hücreli proembriyo.
ah: apikal hücre; bh: bazal hücre



Şekil 4.67. Küçük saçma iriliğine ulaşmış tane döneminde proembriyo topluluğu.

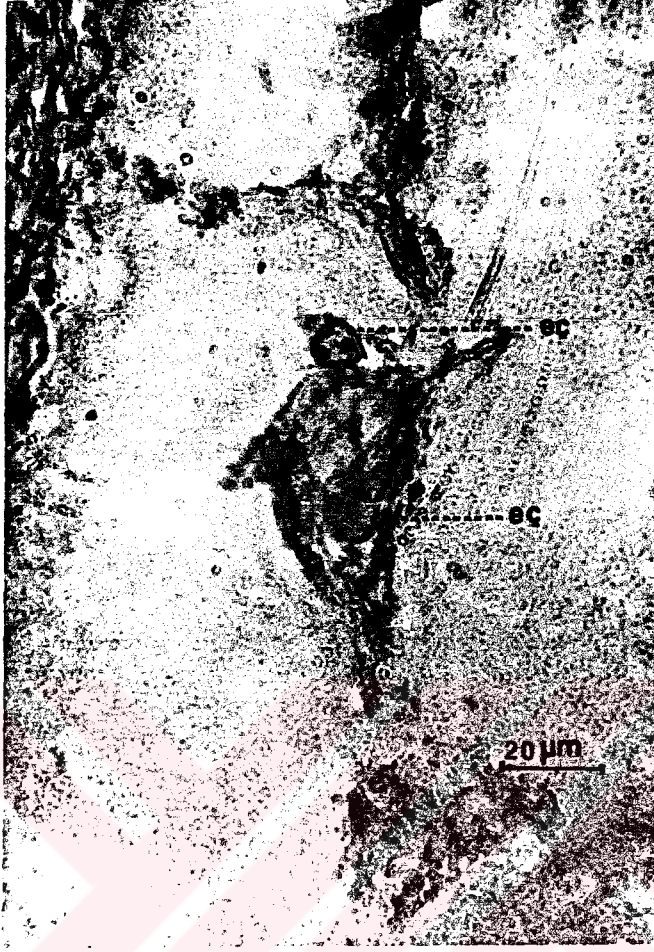
Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi

Bu safhada dış integüment dokusunda sklerenkima hücrelerinin gelişmesiyle meydana gelen tohum kabuğunun oldukça sert bir yapı kazandığı, iç integümentin ise daha ince bir yapı halinde endospermi çevrelediği gözlenmiştir (Şekil 4.68).

Bu döneme ait örneklerden kesit alınabilen tohum taslaklarında endosperm çekirdeklerine rastlandığı halde embriyogenik bir gelişme tespit edilememiştir (Şekil 4.69).



Şekil 4.68. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait bir çekirdeğin boyuna kesiti.



Şekil 4.69. Büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait bir çekirdek kesitinde serbest endosperm çekirdekleri.
ec: endosperm çekirdeği

Olgun tane dönemi

Olgun tanelerden çıkarılan çekirdeklerden alınan kesitlerde iki farklı embriyogenik gelişme tespit edilmiştir.

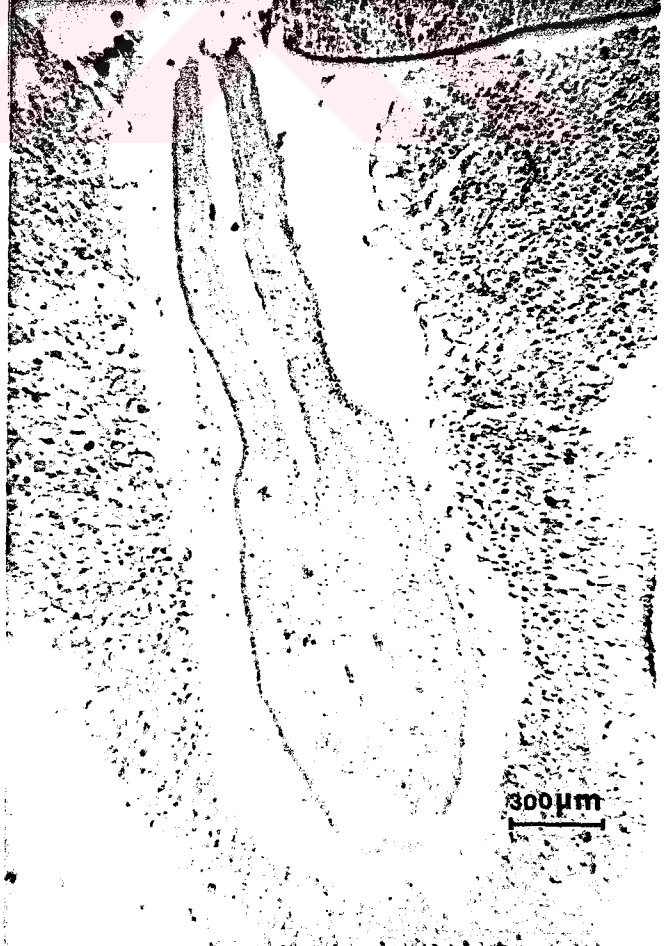
Kusurlu gelişme gösteren tohum taslaklarında, integümentlerin gelişmesi normal olduğu halde embriyo hücrelerinin düzensiz bir yığın oluşturduğu görülmüştür (Şekil 4.70).

Aynı gelişme dönemine ait bazı tohum taslaklarında ise iyi gelişmiş embriyoya rastlanmıştır (Şekil 4.71). Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu örneklerinde olgun embriyonun boyu 2389.5 μm olarak ölçülmüştür.

Şekil 4.70. Olgun tane döneminde düzensiz gelişerek dejenere olmuş embriyo hücreleri.



Şekil 4.71. Olgun tane dönemine ait olgun bir çekirdek kesitinde iyi gelişmiş embriyo.



4.2. Dışı Gametofitte Belirlenen Gelişme Bozuklukları ile Boş Çekirdeklilik Arasındaki İlişkiler

Bölüm 4.1'de gelişme dönemlerine göre anatomik yapıları incelenen tohum taslaklarında beş farklı dejenerasyon tipi belirlenmiş olup, bu dejenerasyon tiplerinin tanımlamaları ile incelenen tohum taslaklarında görülme oranları (Çizelge 4.1) aşağıda verilmiştir.

Birinci dejenerasyon tipinde (1), tohum taslaklarının şekil olarak tamamen kusurlu oldukları belirlenmiştir. Tohum taslağının ovaryum içerisindeki duruşu hemianotrop formuna benzetilmiş olup, yalnız dış integümentlerin gelişmiş olduğu gözlenmiştir. Nusellus hücreleri aşırı bir gelişme göstererek integümentler arasından taşmıştır. Megasporogenez veya megagametogeneze ait bir gelişme safhası tespit edilememiştir. Dejenerasyonun bu şekline serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun ikinci gelişme dönemine ait kapalı çiçek örneklerinde rastlanmıştır (Şekil 4.33 ve Şekil 4.34). Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda, incelenen 446 adet tohum taslağında, birinci dejenerasyon şeklinin görülme oranı %3.81 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.1).

İkinci dejenerasyon tipinde (2), tohum taslakları anatrop formdadır. Ancak tohum taslağının içini kaplayan nusellus hücrelerinde megasporogenez veya megagametogeneze ilişkin hiçbir farklılaşma tespit edilememiştir. Bu tip tohum taslaklarına serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun üçüncü gelişme dönemine ait açılmak üzere olan kapalı çiçek örneklerinde rastlanmıştır (Şekil 4.40). Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda ikinci dejenerasyon şeklinin görülme oranı ise %1.57 düzeyindedir (Çizelge 4.1).

Üçüncü dejenerasyon tipinde (3), tohum taslaklarında nusellus hücreleri ve embriyo kesesi, iç integüment ile birlikte büzülmüş ve dış integümentten ayrılmıştır. Bu tip kusurlu tohum taslaklarına kendilenmiş Karasakız ve serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun dördüncü (Şekil 4.18 ve Şekil 4.44), Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun ise birinci (Şekil 4.53) ve ikinci (Şekil 4.64) gelişme dönemine ait örneklerde rastlanmıştır. Üçüncü dejenerasyon tipinin görülme oranı Karasakız örneklerinde %0.85, serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda %5.38, Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu örneklerinde ise %3.75 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Dişi gametofitte belirlenen dejenerasyon tipleri ve görülme oranları

Genotipler	İncelenen Tohum Taslağı Sayısı (Adet)	Dejenerasyon Tipi											
		1		2		3		4		5		Toplam	
		Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Karacakız (Kendilenmiş)	354	-	-	-	-	3	0.85	-	-	-	-	3	0.85
Bozcaada Çavuşu (Serbest tozlanmış)	446	17	3.81	7	1.57	24	5.38	5	1.12	32	7.70	85	19.58
Bozcaada Çavuşu (Karacakız ile tozlanmış)	480	-	-	-	-	18	3.75	4	0.83	21	4.38	43	8.96

Tohum taslaklarının şekil ve yapı olarak kusursuz geliştiği halde zigotun bölünemeyerek vakuolizasyona uğraması dördüncü dejenerasyon tipi (4) olarak kabul edilmiş ve zigot dejenerasyonu olarak tanımlanmıştır. Zigot dejenerasyonu serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun altıncı (Şekil 4.47), Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun ise üçüncü (Şekil 4.65) gelişme dönemine ait örneklerde belirlenirken, Karasakız üzüm çeşidinde bu tip bir dejenerasyona rastlanmamıştır. Bozcaada Çavuşu'nda dördüncü dejenerasyon tipinin görülme oranı diğer dejenerasyon tiplerine göre daha düşük olup, serbest tozlanan örneklerde %1.12, Karasakız ile tozlanan örneklerde ise %0.83 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

İntegümentlerin normal olarak geliştiği, sert tohum kabuğu ile birlikte normal çekirdek formu olduğu halde embriyo hücrelerinin gelişmediği ya da düzensiz bir bölünme gösterdiği tohum taslakları beşinci dejenerasyon tipi (5) olarak kabul edilmiş ve bu durum embriyo dejenerasyonu olarak tanımlanmıştır. Embriyo dejenerasyonu serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun yedinci (Şekil 4.51) ve sekizinci (Şekil 4.52), Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun ise dördüncü (Şekil 4.68) ve beşinci (Şekil 4.70) gelişme dönemine ait örneklerde belirlenmiştir. Beşinci dejenerasyon şekli Bozcaada Çavuşu'nun serbest tozlanan örneklerinde %7.17, Karasakız ile tozlanan örneklerinde ise %4.38 oranında ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.1).

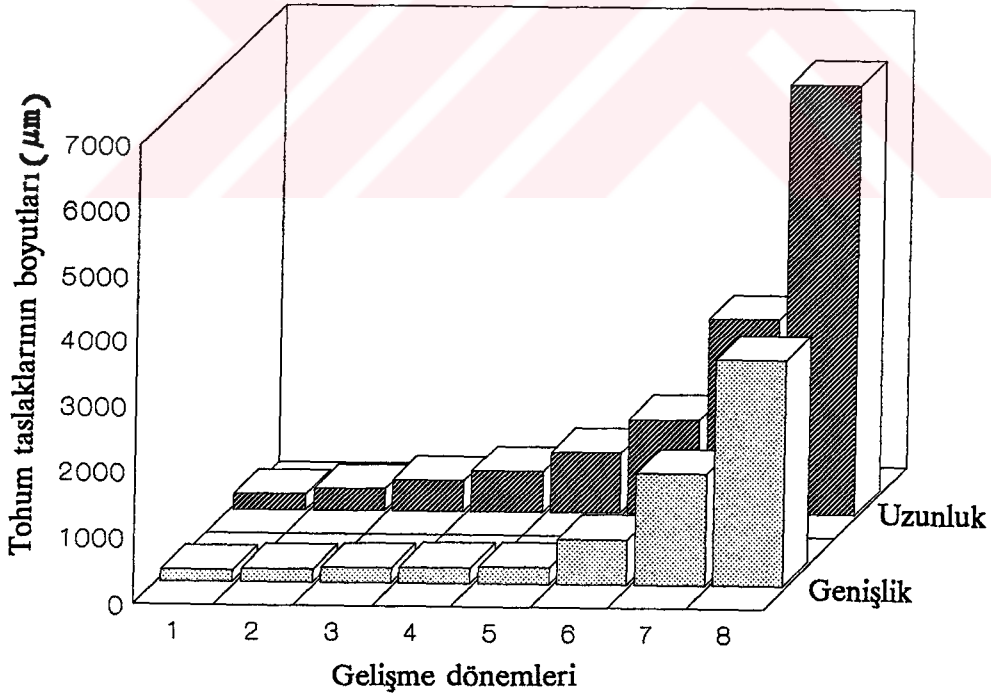
4.3. Gelişme Dönemleri İtibariyle Tohum Taslaklarının Boyutlarındaki Gelişmeler

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.72'deki diyagramlardan izlenebileceği gibi kendilenmiş Karasakız üzüm çeşidinde tohum taslaklarında integümentlerin farklılaşmaya başladığı birinci gelişme dönemine ait tohum taslaklarının uzunluğu $239.76 \pm 19.09 \mu\text{m}$, genişliği $173.16 \pm 6.66 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. İkinci ve üçüncü gelişme dönemlerinde birbirine yakın değerler ile devam eden gelişmeler tam çiçeklenme (dördüncü) döneminde $626.04 \pm 32.09 \mu\text{m}$ (uzunluk) ve $238.65 \pm 15.19 \mu\text{m}$ 'a (genişlik) ulaşmıştır. Dördüncü gelişme aşamasından sonra tohum taslaklarının boyutlardaki artış daha belirgin hale gelmiş ve olgunlaşma zamanında tohum taslaklarının uzunluğu $6565.76 \pm 74.01 \mu\text{m}$, genişliği ise $3425.11 \pm 42.10 \mu\text{m}$ 'a ulaşmıştır.

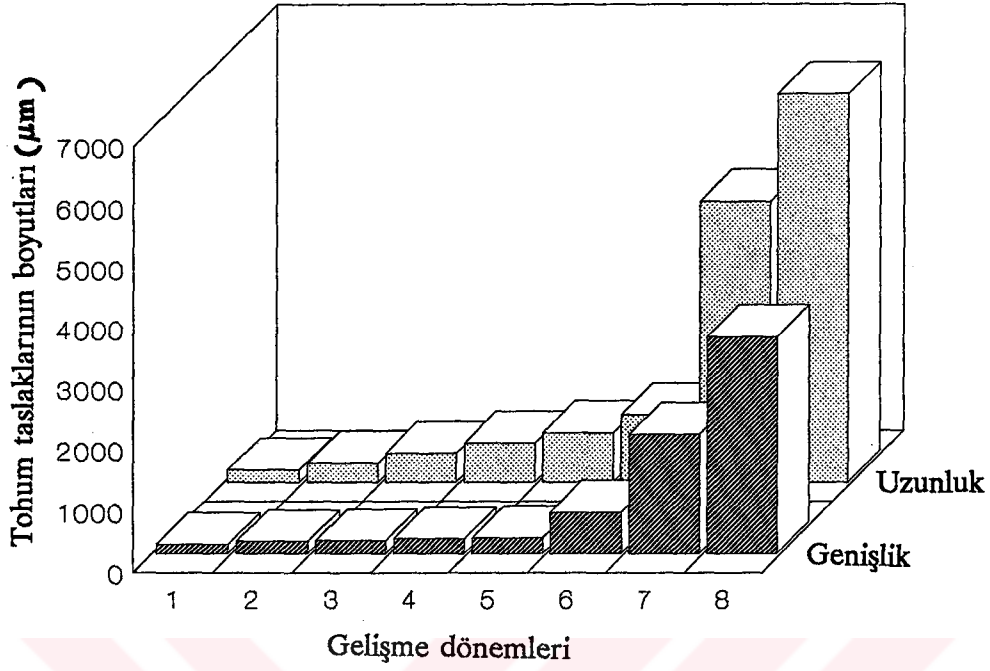
Benzer şekilde serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda birinci ve sekizinci gelişme dönemleri süresince tohum taslaklarının uzunluğu $202.93 \pm 10.18 \mu\text{m}$ - $6375.90 \pm 196.21 \mu\text{m}$; genişliği ise $148.63 \pm 3.55 \mu\text{m}$ - $3563.11 \pm 56.12 \mu\text{m}$ arasında değişmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.73).

Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu örneklerinde ise tam çiçeklenme (birinci gelişme) döneminde tohum taslaklarının uzunluğu $629.37 \pm 20.13 \mu\text{m}$, genişliği $238.65 \pm 13.37 \mu\text{m}$ olarak ölçülürken, olgun tane (beşinci gelişme) dönemine ait örneklerde uzunluk $6258.77 \pm 137.48 \mu\text{m}$ 'a, genişlik ise $3503.02 \pm 71.13 \mu\text{m}$ 'a ulaşmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.74).

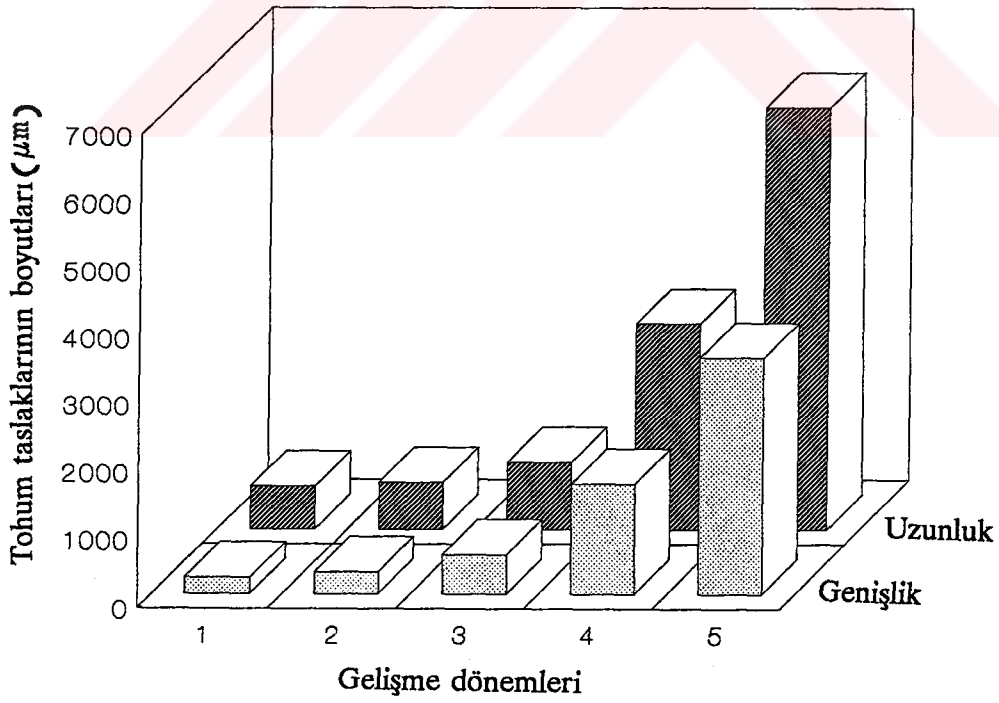
Bu sonuçlara göre Karasakız ve Bozcaada Çavuşu üzüm çeşitlerinde, integumentlerin normal olarak geliştiği tohum taslaklarının, uzunluğu ve genişliği gelişme dönemleri süresince artarak olgun çekirdek büyüklüğüne ulaşmıştır.



Şekil 4.72. Kendilenmiş Karasakız üzüm çeşidinde gelişme dönemleri süresince tohum taslaklarının boyutlarındaki gelişmeler.



Şekil 4.73. Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde gelişme dönemleri süresince tohum taslaklarının boyutlarındaki gelişmeler.



Şekil 4.74. Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidinde tam çiçeklenmeden itibaren tohum taslaklarının boyutlarındaki gelişmeler.

Çizelge 4.2. Karasakız ve Bozcaada Çavuşu genotiplerinde gelişme dönemleri süresince tohum taslaklarının boyutlarındaki gelişmeler

Genotipler	Gelişme Dönemi	Tohum Taslaklarının Boyutları (μm)	
		Uzunluk	Genişlik
KARASAKIZ (Kendilenmiş)	1	239.76 \pm 19.09	173.16 \pm 6.66
	2	329.67 \pm 26.94	197.95 \pm 8.96
	3	466.20 \pm 14.89	219.75 \pm 15.42
	4	626.04 \pm 32.09	238.65 \pm 15.19
	5	912.41 \pm 22.25	249.75 \pm 28.84
	6	1428.57 \pm 26.48	677.10 \pm 66.41
	7	2980.35 \pm 106.15	1687.20 \pm 124.20
	8	6565.76 \pm 74.01	3425.11 \pm 42.10
BOZCAADA ÇAVUŞU (Serbest tozlanmış)	1	202.93 \pm 10.18	148.63 \pm 3.55
	2	311.02 \pm 17.54	192.27 \pm 9.39
	3	472.85 \pm 17.75	203.23 \pm 10.90
	4	643.32 \pm 8.69	234.55 \pm 5.75
	5	808.38 \pm 79.40	249.54 \pm 6.85
	6	1102.09 \pm 47.68	671.62 \pm 22.16
	7	4619.53 \pm 171.83	1946.98 \pm 30.81
	8	6375.90 \pm 196.21	3563.11 \pm 56.12
BOZCAADA ÇAVUŞU (Karasakız ile tozlanmış)	1	629.37 \pm 20.13	238.65 \pm 13.37
	2	692.64 \pm 12.94	324.68 \pm 15.94
	3	989.30 \pm 29.81	584.12 \pm 96.37
	4	3054.09 \pm 179.57	1625.04 \pm 35.55
	5	6258.77 \pm 137.48	3503.02 \pm 71.13

4. 4. Tohumların Çimlenmesi İle Boş Çekirdeklilik Arasındaki İlişkiler

Çizelge 4.3'de toplu olarak verilen sonuçlara göre her iki yılda da yüzen çekirdeklerden hiç bir çimlenme elde edilememiştir. Batan çekirdeklerde ise, iki yıla ait sonuçların ortalamasına göre kendilenen Karasakız çekirdeklerinde çimlenme oranı %52.10 olarak bulunurken, gerek serbest tozlanan gerekse Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu çekirdeklerinde oldukça düşük çimlenme oranları elde edilmiştir.

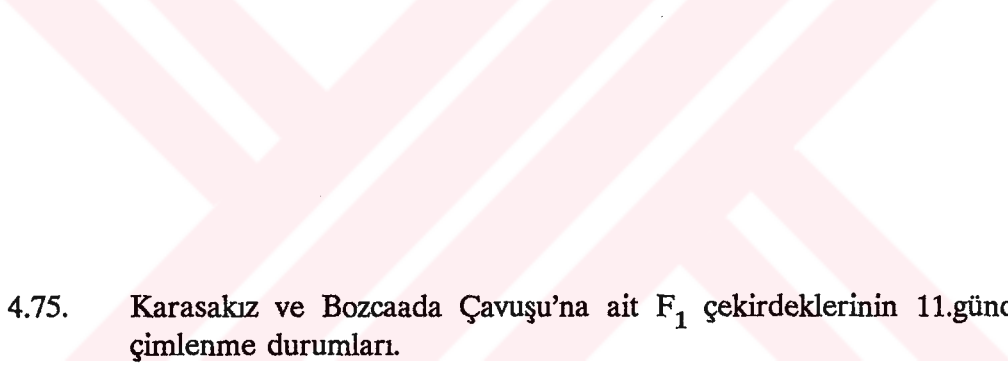
Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu çekirdeklerinde çimlenme oranı %2.39 olarak bulunurken Karasakız, Amasya Beyazı, Hafızali, Hamburg Misketi, Kozak Beyazı ve Yapıncak ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun F₁ generasyonunu oluşturan tohumlarında en yüksek çimlenme oranı Bozcaada Çavuşu x Karasakız (%7.93)'da elde edilmiş; bunu sırasıyla Bozcaada Çavuşu x Hafızali (%6.02), Bozcaada Çavuşu x Hamburg Misketi (%5.28), Bozcaada Çavuşu x Yapıncak (%2.12), Bozcaada Çavuşu x Amasya Beyazı (%1.26) izlemiştir. En düşük çimlenme oranı ise Bozcaada Çavuşu x Kozak Beyazı (%1.17) tohumlarında saptanmıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.69).

Genel olarak oldukça düşük olan çimlenme oranlarının yıllara göre değiştiği görülmüştür. Buna göre, 1988 yılında F₁ generasyonunu oluşturan tohumlar içerisinde, en yüksek çimlenme oranının elde edildiği Bozcaada Çavuşu x Hafızali tohumlarında 1989 yılında en düşük çimlenme oranlarından birisi elde edilmiştir (%11.0-%1.03). Aynı durum öncelikle Bozcaada Çavuşu x Karasakız (%10.29-%5.56), Bozcaada Çavuşu x Hamburg Misketi (%7.33-%3.03), Bozcaada Çavuşu x Kozak Beyazı (%2.34-%0.0) olmak üzere, Bozcaada Çavuşu x Yapıncak (%1.96-%2.27) ve Bozcaada Çavuşu x Amasya Beyazı (%1.60-%0.91) için de geçerlidir (Çizelge 4.3).

Bu sonuçlara göre, tozlayıcı çeşitlerin tohumların çimlenme yeteneği üzerinde belirgin bir etki yaratmadığı söylenebilir.

Çizelge 4.3. Kendilenen Karasakız üzüm çeşidi ile yedi farklı tozlama uygulamasının gerçekleştirildiği Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidine ait çekirdeklerin çimlenme oranları

Genotipler	1988				1989				Ort.	
	Yüzen		Batan		Yüzen		Batan		Yüzen	Batan
	Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	Çimlenme Oranı (%)	Çimlenme Oranı (%)
K	2	0.0	150	47.33	7	0.0	153	56.86	0.0	52.10
Çs	37	0.0	247	2.02	15	0.0	145	2.76	0.0	2.39
Ç X K	2	0.0	136	10.29	11	0.0	144	5.56	0.0	7.93
Ç X AB	12	0.0	125	1.60	15	0.0	110	0.91	0.0	1.26
Ç X H	5	0.0	109	11.00	9	0.0	97	1.03	0.0	6.02
Ç X HM	18	0.0	146	7.53	7	0.0	132	3.03	0.0	5.28
Ç X KB	11	0.0	128	2.34	7	0.0	85	0.0	0.0	1.17
Ç X Y	7	0.0	102	1.96	15	0.0	88	2.27	0.0	2.12



Şekil 4.75. Karasakız ve Bozcaada Çavuşu'na ait F_1 çekirdeklerinin 11.gündeki çimlenme durumları.

5. TARTIŞMA

Fonksiyonel dişi çiçek yapısından dolayı, meyve tutumu için mutlak olarak tozlayıcıya gerek duyduğu halde, üstün sofralık özellikleri sebebiyle bazı Akdeniz ve Doğu Avrupa ülkelerinde de yaygın olarak yetiştirilen ve ülkemizin en önemli beyaz sofralık çeşitlerinden birisi olan Çavuş'da yabancı tozlanma, dölllenme ve meyve tutumu normal olarak gerçekleştiği halde çimlenme oranı son derece düşük, ancak normal görünüşü nedeniyle integümentlerde herhangi bir kusurlu durumun olmadığını düşündüren boş çekirdekler meydana gelmektedir. Meyve kalitesi üzerine olumsuz bir etki yaratmayan bu durum, Çavuş'un çiçek yapısından dolayı ancak ana olarak kullanılabilirdiği ıslah çalışmalarında son derece sınırlı bir F_1 melez popülasyonunun elde edilmesine neden olarak başarı şansını aynı ölçüde sınırlamaktadır.

Bu çalışmada Olmo (1934) tarafından %99.5 oranında boş çekirdeklilik gösteren bir çeşit olarak tanımlanan Çavuş üzüm çeşidinde tohum taslakları ve embriyonun anatomik yapısı ve gelişimi incelenerek boş çekirdekliliğin nedenleri mikroteknik olarak araştırılmıştır. Bu amaçla, tohum taslaklarının gelişmesi serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda sekiz, Bozcaada Çavuşu x Karasakız örneklerinde beş ve normal gelişmiş tohum taslakları ile karşılaştırma yapmak üzere kendilenmiş Karasakız örneklerinde ise yine sekiz gelişme dönemi halinde incelenmiştir.

Araştırmada Bozcaada Çavuşu ve Karasakız üzüm çeşitlerinde kusursuz gelişme gösteren tohum taslaklarının anatrop formda olduğu ve dişi gametofitin gelişmesinin Maheshwari (1950) ve Battaglia (1951) tarafından tanımlanan monosporik-poligonum tipte olduğu görülmüştür. Dişi gametofitin farklılaşması ve gelişmesi ile ilgili olarak belirlenen bu sonuç, *Vitis* cinsine giren türler ile *Vitis vinifera* L'nin çekirdekli varyetelerinde çiçek organlarının floral anatomisi üzerinde çalışan Kashyap (1958), Nair ve Mani (1960), Pratt ve Einset (1961), Negi ve Randhawa (1971), Kassemeyer ve Staudt (1981, 1983), Vallania ve ark. (1987)'nin yaptıkları mikroteknik çalışmaların bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Üzerinde çalışılan her iki üzüm çeşidinde de normal megasporogenez ve megagametogenez taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek ve açılmaya hazır kapalı çiçek dönemleri süresince devam etmiştir. Tam çiçeklenme Karasakız üzüm çeşidinde

14-18.6.1988 ve 12-15.6.1989; Bozcaada Çavuşu'nda ise 14-18.6.1988 ve 14-17.6.1989 tarihlerinde gerçekleşmiş olup, Karasakız'da çiçeklenmeden 8-11 gün, Bozcaada Çavuşu'nda ise 10-11 gün önce alınan ikinci gelişme dönemine ait taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçek örneklerinde tohum taslaklarında fonksiyonel megaspor ana hücrelerinin farklılaştığı belirlenmiştir. Aynı gelişme dönemleri içerisinde megasporun oluşumu gözlenmiştir. **Kassemeyer ve Staudt (1981)** ise Gewürtztraminer ve Weisser Burgunder çeşitleri ile Müller-Thurgau x *Vitis armata* hibritlerinde fonksiyonel megaspor ana hücrelerinin çiçeklenmeden 14 gün önce görüldüğünü ve bundan sonra yedi gün içerisinde mayoz bölünmenin gerçekleşerek megasporun meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Diğer taraftan Karasakız ve serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda embriyo kesesinin çiçeklenmeden önce döllenme olgunluğuna ulaşmış olması, bu safhada polar çekirdeklerin merkezde birleşerek sekonder çekirdeği oluşturduktan sonra mikropilar kutba doğru göç etmesi ve zigotun ilk bölünmesine kadar geçen olaylar dizisi, diğer çekirdekli üzümlerde tanımlandığı gibi gerçekleşmiştir (**Nitsch ve ark. 1960, Barritt 1970, Negi ve Randhawa 1971, Kassemeyer ve Staudt 1981, 1983, Vallania ve ark. 1987**).

Döllenmiş yumurta hücresi olan diploid kromozomlu zigot oluştuktan sonra, süresi genellikle bitki tür ve çeşitlerine bağlı olarak değişen kısa bir dinlenme dönemine girmektedir. Asmalarda bu sürenin çeşitlere bağlı olarak 2-4 hafta kadar devam ettiği kabul edilmektedir (**Winkler ve ark. 1974**). Ayrıca dinlenme dönemine başlangıcında zigot hücresinde büyük bir yer kaplayan vakuolün giderek kaybolduğu, dinlenme dönemi sonunda ise sitoplazmanın homojen bir yapı kazandığı ve zigotta ilk bölünmenin meydana geldiği belirtilmektedir (**Pearson 1932, Kassemeyer ve Staudt 1981, 1982a**). Bu araştırmada; Karasakız üzüm çeşidinde zigottaki ilk bölünmenin çiçeklenmeden yaklaşık 19-21 gün sonra, Bozcaada Çavuşu x Karasakız örneklerinde ise 17-18 gün sonra meydana geldiği ve bu ilk bölünmenin **Nair ve Parasuraman (1962)** ile **Vallade ve ark. (1987)** tarafından da belirtildiği gibi enine gerçekleştiği gözlenmiştir. Serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu örneklerinde ise zigot belirlendiği halde, ilk bölünmenin gerçekleştiği safha tespit edilememiştir.

Tohum taslaklarının ilerleyen gelişmeleri sırasında, integümentelerde sklerenkima hücrelerinin meydana gelmesi ve böylece son derece sert ve geçirimsiz bir tohum kabuğunun oluşması nedeniyle embriyogenezin başladığı Karasakız ve serbest

tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun yedinci ve sekizinci; Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun ise dördüncü ve beşinci gelişme dönemleri olarak tanımlanan, büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi ile olgun tane dönemine ait örneklerde, sert tohum kabuğunun kısmen uzaklaştırılmasından sonra parafine doyurmak ve kesit almak mümkün olmuş ancak kalıntı dokuların kalması nedeniyle kesit alma sırasında parçalanmalar meydana gelmiştir. Bu nedenle embriyogenik gelişmenin izlenmesinde iyi bir boyama ve detayın elde edilebildiği preparatlardan Karasakız ve Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun küçük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait kesitlerinde iki hücreli proembriyo; Karasakız ın büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemine ait kesitlerinde globular embriyo safhasından kalp şekilli embriyoya geçiş; Karasakız ve Karasakız ile tozlanan Bocaada Çavuşu nun olgun tane dönemine ait iyi gelişmiş çekirdeklerinden alınan kesitlerde ise olgun embriyo olmak üzere, üç farklı embriyogenik gelişme dönemi tespit edilmiştir.

Üzüm çeşitlerinde megasporogenez ve megagametogenez üzerinde ayrıntılı çalışmalar bulunmakla birlikte, embriyogenez üzerindeki çalışmalar çok sınırlıdır. Bu araştırmalardan birini gerçekleştiren Nitsh ve ark.(1960) çekirdekli çeşitlerde sert tohum kabuğunu yumuşatmak üzere derişik H_2SO_4 ve HF uygulamalarının başarısız kaldığını belirtmişlerdir.

Araştırmamızda embriyogenik safhalara ait kesitlerden embriyogenezin tipi hakkında kesin bilgiler edinmek mümkün olmamıştır. Ancak Nair ve Parasuraman (1962) asmalarda embriyo gelişmesinin "asteread" tipinde, Vallade ve ark (1987) ise "onograd" veya "asteread" tiplerine benzer şekilde gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir.

Asmalarda döllendiği zaman normal çekirdekleri oluşturan tohum taslaklarına sahip olan dolayısıyla normal çekirdekli meyve tutumunun gerçekleştiği mekanizmanın dışında, genetik yapıdan kaynaklanan kusurlu gelişmelere oldukça sık rastlanmaktadır. Çeşide özgü bir karakter olan ve tohum taslakları veya embriyonun belirli gelişme aşamalarında dejenere olması ile tanımlanan kusurlu gelişmeler, üzüm çeşitlerimnde farklı düzeylerde ortaya çıkan çekirdeksizliğe veya boş çekirdekliliğe neden olmaktadır. Çekirdeklerin gelişmesine bağlı olarak meyve tutum mekanizmaları ise partenokarpi, stenospermokarpi veya boş çekirdekli meyve tutumu olarak adlandırılmaktadır (Winkler ve ark. 1974).

Çalışmalarımız sırasında tohum taslaklarında beş farklı dejenerasyon tipi

belirlenmiştir. Karasakız üzüm çeşidine ait tohum taslaklarında yalnız bir dejenerasyon şekli gözlenirken, Bozcaada Çavuşu x Karasakız genotiplerinde üç, serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu üzüm çeşidine ait tohum taslaklarında ise beş dejenerasyon tipinin tümü tespit edilmiştir.

Tohum taslaklarının ovaryum içerisindeki şeklinin tümüyle bozuk olduğu birinci dejenerasyon tipine yalnız serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun taç yaprakları belirginleşmiş kapalı çiçeklerinden alınan kesitlerde rastlanmıştır. Dejenerasyonun bu şekli **Pearson (1932)** ve **Stout (1936)** tarafından Beyaz ve Kırmızı Korint üzümünde, **Pratt ve Einset (1961)** tarafından ise küçük salkımlı Concord üzüm çeşidinde tanımlanan ve partenokarpik tane tutumuna neden olan tohum taslağı gelişmesiyle tam bir benzerlik göstermiştir.

Anatrop formda olan ancak megasporogeneze ait hiç bir aşamanın belirlenemediği farklılaşmamış nusellus hücrelerine sahip kusurlu tohum taslakları, serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun taç yaprakları sararmış açılmaya hazır kapalı çiçeklerinde görülmüştür. Tohum taslaklarının normal geliştiği durumda bu safhada döllenmeye hazır embriyo kesesinin bulunmasına karşılık, aynı gelişme dönemine ait örneklerde belirlenen söz konusu kusurlu yapı, ikinci dejenerasyon tipi olarak kabul edilmiştir. Benzer bir kusurlu yapı **Kassemeyer ve Staudt (1982b)** tarafından Gewürtztraminer ve Weisser Burgunder üzüm çeşitlerinde belirlenmiş olup araştırmacılar bu yapıyı embriyo kesesine sahip olmayan tohum taslakları olarak tanımlamışlar ve Gewürtztraminer'de %30, Weisser Burgunder'de ise %8 oranında görüldüğünü belirtmişlerdir. Araştırmamızda ise embriyo kesesine sahip olmayan tohum taslaklarının serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda görülme sıklığı %1.57 olarak saptanmıştır.

Üçüncü dejenerasyon tipi olarak tanımlanan, embriyo kesesi ve nusellus hücreleri ile birlikte iç integümentin büzülerek dış integümentten ayrıldığı kusurlu tohum taslaklarına her üç örnekte de rastlanmıştır. Dejenerasyonun görüldüğü gelişme dönemlerinin kendilenen Karasakız ve serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda tam çiçeklenme; Bozcaada Çavuşu x Karasakız örneklerinde ise tam çiçeklenme ile döllenmiş çiçek dönemi olduğu tespit edilmiştir. Aborsiyona uğramış tohum taslaklarına tam çiçeklenme veya çiçeklenmeden hemen sonra alınan örneklerde rastlanması, dejenerasyonun bu şeklinin yetersiz tozlanma ve döllenme ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca iyi gelişmiş tohum taslaklarına sahip Karasakız üzüm çeşidinde

tek dejenerasyon tipine rastlanması ve çok düşük bir oranda (%0.85) görülmesi yukarıdaki görüşümüzü destekler nitelikte bir bulgudur.

Tohum taslakları şekil ve yapı olarak kusursuz geliştiği halde zigotun bölünemeyerek vakuolizasyona uğraması dördüncü dejenerasyon tipi olarak kabul edilmiştir. Benzer şekilde **Algan ve Bakar (1980)** zigot vakuolizasyonunu dejenerasyon şekli olarak tanımlamışlardır. Zigot dejenerasyonu gerek serbest tozlanan gerekse de Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nda küçük saçma iriliğine ulaşmış tanelerden elde edilen çekirdeklerden alınan kesitlerde görülmüştür.

Sert tohum kabuğu oluştuğu halde embriyogenik gelişmenin belirlenemediği yada embriyo hücrelerinin düzensiz bir yığın halinde kaldığı tohum taslakları beşinci dejenerasyon tipi olarak kabul edilmiştir. **Ayfer (1967)**, embriyo hücrelerinin, gelişmenin herhangi bir safhasında ovülün şalazal ucundaki nusellus hücreleri ile birlikte turgorlarını kaybederek büzülmelerini, **Detjen ve Gray (1928)** ile **Tukey (1933, 1934)**'in bulguları ile destekleyerek, embriyo aborsiyonu olarak tanımlamaktadır. Araştırmamızda embriyo dejenerasyonları zigot dejenerasyonları gibi serbest veya Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'nun büyük saçma iriliğine ulaşmış tane dönemi ile olgun tane döneminde belirlenmiştir.

Olmo (1934), Çavuş üzüm çeşidinde boş çekirdekliliğin anaya bağlı genetik bir özellik olduğunu ve bu olaya döllenmeden sonra gelişmenin erken dönemlerinde embriyo ve endosperm hücrelerinin dejenerasyonunun neden olduğunu belirtmektedir. Buna göre, serbest tozlanan Bozcaada Çavuşu ve Bozcaada Çavuşu X Karasakız örneklerinde dördüncü ve beşinci dejenerasyon tiplerinin boş çekirdeklilik ile ilişkili olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada, zigot ve embriyo dejenerasyonun belirlendiği tohum taslaklarında integümentlerin normal gelişmelerine devam ettikleri ve sonuçta olgun çekirdek büyüklüğüne ulaşıldığı belirlenmiştir.

Diğer taraftan morfolojik olarak normal görümlü Bozcaada Çavuşu çekirdeklerinde çimlenme oranının son derece düşük olduğu bulunmuştur. Suda yüzen tohumlarda hiç bir çimlenme elde edilemezken, serbest tozlanma sunucu oluşan çekirdeklerin suda batanlarında %2.39, Karasakız ile tozlananlarda ise %7.93 oranında bir çimlenme elde edilmiştir. Karasakız dışında denenen diğer beş tozlayıcı çeşidinde tohumların çimlenmesi üzerinde belirgin bir farklılık meydana getirmediği saptanmıştır.

Bu bulgular, fonksiyonel dişi çiçekli Çavuş üzüm çeşidinde tozlayıcı çeşitlerin meyve ve çekirdek özellikleri üzerinde farklı etkiler yaratmadığının belirlendiği araştırma sonuçları ile (Özbek 1951, Dağlı 1962, Fidan ve Çelik 1980) uyum içerisinde bulunmuştur.

Bu araştırmadan elde edilen bulgular Çavuş üzüm çeşidinde tohum taslaklarında farklı dejenerasyon tiplerinin bulunduğunu, bunlardan boş çekirdekliliğe neden olan mekanizmanın gelişmenin erken dönemlerinde zigot veya embriyo hücrelerinin dejenerasyonu ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Ayrıca araştırmada kullanılan tozlayıcı çeşitlerin çekirdeklerin çimlenmesi üzerinde belirgin etkiler meydana getirmemesi ve çimlenme oranının daima düşük olması boş çekirdekliliğin ana olarak kullanılan Çavuş üzüm çeşidinden kaynaklanan genetik bir özellik olduğunu kanıtlamaktadır. Diğer taraftan özellikle Karasakız ile tozlanan Bozcaada Çavuşu'na ait tohum taslaklarında az sayıda olmakla birlikte iyi gelişmiş embriyoların belirlenmesi genetik boş çekirdekliliğin görülme sıklığı üzerinde etkili faktörler (içsel büyümeyi düzenleyiciler, beslenme koşulları gibi) olabileceğini düşündürdüğünden, gelecekteki çalışmalarda bu etkenlerin araştırılması gerektiği inancını taşımaktayız.

Ayrıca çalışmalar sonucunda diploid yapıdaki zigot ile embriyo hücrelerinin belirlenmiş olması, Çavuş üzüm çeşidinin ıslah programlarında daha etkili bir şekilde kullanılmasını sağlayacak ovül veya embriyo kültürü tekniklerinin araştırılmasına yönelik çalışmalara temel hazırlamıştır.

KAYNAKLAR

- AĞAOĞLU, Y.S., 1969. Şaraplık Üzüm Çeşitlerinden Hasandede, Kalecik Karası, Papaz Karası, Öküzgözü ve Furmint'in Tomurcuk Yapıları, Floral Gelişme Devrelerinin Tetkiki ve Bu çeşitlere Uygun Budama Metodlarının Tespiti Üzerinde Mukayeseli Araştırmalar. Doktora Tezi (Basılmamış), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 297s.
- AĞAOĞLU, Y.S., 1971. A study on the differentiation and the development of floral parts in grapes (*Vitis vinifera* L. var.). *Vitis* 10: 20-26.
- AĞAOĞLU, Y.S., ÇELİK, H., and GÖKÇAY, E., 1990. Brief ampelographic characters of indigenous grapevine cultivars subjected to clonal selection in Turkey. Proceedings of the 5th International Symposium on Grape Breeding, 12-16 September 1989, St.Martin-Pfalz, FGR, p:532-537.
- ALGAN, G., 1981. Bitkisel Dokular İçin Mikroteknik. Fırat Üniv. Fen Fak. Yayınları. Bot. No: 1. Matbaa Teknisyenleri Basımevi, İstanbul, 94s.
- ALGAN, G. ve BAKAR, N., 1980. Doğal tetraploid çayırüçgülü (*Trifolium pratense* L.)'nde embriyo kesesi gelişmesi ve yumurta teşekkülünün incelenmesi. TÜBİTAK Doğa- Tr. J. of Botany 15: 57-70.
- ANAMERİÇ, M., 1964. Çanakkale ve Üzümleri. Tarım Bakanlığı Ziraat İşleri Genel Müdürlüğü Yayınları C-101. Dizerkonca Matbaası, İstanbul, 239 s.
- ANONİM, 1990a. Bağcılık Araştırma Projesi Çalışmalarının 1990 Yılı Gelişme Raporları. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Tekirdağ Bağcılık Araşt. Enst. Mdl., Tekirdağ.
- ANONİM, 1990b. Standart Üzüm Çeşitleri Kataloğu. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Proje Uygulama Gen. Mdl., Tekirdağ Bağcılık Araşt. Enst. Md. Seri: 15, Ankara, 91s.
- AYFER, M., 1967. Antep Fıstığında Megasporogenesis, Megagametogenesis, Embriyogenesis ve Bunlarla Meyve Dökümleri Arasındaki Münasebetler. Tarım Bakanlığı, Teknik Kitap, D-414. Dizerkonca Matbaası, İstanbul, 54s.
- BALTHAZARD, J., 1969. Temperatures alternées, longueur des embryons et pouvoir germinatif des graines de Vigne. Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci. 269: 2355-2358.
- BARRITT, B.H., 1970. Ovule development in seeded and seedless grapes. *Vitis* 9: 7-14.

- BATTAGLIA, E., 1951.** The male and female gametophytes of Angiosperms- An interpretation. *Phytomorphology* 1: 87-116.
- BOUARD, J., 1978.** Possibilites de développement des ovules et qualite des pépins de raisin en fonction du rang des grappes sur les sarments. *Grapevine Genetics and Breeding II^e Symposium International Sur l'Amélioration de la Vigne, Bordeaux, 14-18 Juin 1977*, p: 59.
- BOUQUET, A., 1980.** Effect of some genetic and environmental factors on spontaneous polyembryony in grape (*Vitis vinifera* L.). *Vitis* 19: 134-150.
- CAIN, D.W., EMERSHAD, R.L. and TARAIOLO, R.E., 1983.** In-Ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.) *Vitis* 22: 9-14.
- CASTELLI, S. and PISANI, P.L., 1985.** Studies on the flowering of grapevines. *Vignevini* 12 (4): 23-25 (1985) [*Hort. Abstr.* 56 (1): 21 (1986)]
- CASTELLI, S., GEMMITI, A., PISANI, P.L. and BARNATO, F., 1986.** Some observations on cleistogamy in the grapevine (*Vitis vinifera* L.) *Vignevini, Bologna* 13 (12): 39-41 (1986) [*Vitis-Viticulture and Enology Abstr.* 26 (3): 62 (1987)]
- CURRLE, O., BAUER, O., HOFÄCKER, W., SCHUMAN, F. und FRISCH, W., 1983.** *Biologie der Rebe.* d. Meininger Verlag und Druckerei GmbH. Nachdruck und andere Vervielfältigungen, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung des Verlages, 301s.
- DAĞLI, S., 1962.** İzmir Zirai Araştırma Enstitüsü Deneme Bağında Yetiştirilen Çavuş Üzümünün Başlıca Toz Verici Çeşitlerle Döllenmeleri Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları*: 60, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir, 68s.
- DETJEN, L.R. and GRAY, G.F., 1928.** Physiological dropping of fruits. II. In regard to genetic relationships of plants. *Dela. Agr. Exp. Sta. Bul.* 157.
- ELÇİ, Ş., 1982.** Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. *Fırat Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Yayınları, Biyoloji.3, Elazığ*, 165s.
- ELLIS, R.H., HUNG, T.D. and ROBERTS, E.H., 1983.** A note on the development of a practical procedure for promoting the germination of dormant seed of grape (*Vitis* spp.). *Vitis* 22: 211-219.
- EMERSHAD, R.L., RAMMING, D.W. and SERPE, M.D., 1989.** In ovulo embryo development and plant formation from Stenospermic genotypes of *Vitis vinifera*. *Amer. J. Bot.* 76 (3): 397-402.

- FAHN, A., 1974.** Plant Anatomy. Second edition, Page Bros (Norwich) Ltd., Norwich, Great Britain, 611p.
- FINKELSTEIN, R.R. and CROUCH, L.M., 1984.** Precociously germinating rapeseed embryos retain characteristics of embryogeny. *Planta* 162: 125-131.
- FİDAN, Y., 1966.** Sofralık Üzüm Çeşitlerinden Hafızali, Hamburg Misketi, Çavuş, Balbal ve Razaki'nin Tomurcuk Yapıları ile Mahsuldarlık Durumları Üzerinde Araştırmalar. Tarım Bakanlığı Ziraat İşl. Genel Mdl. Yayınları D. 112, Güneş Matbaacılık T.A.Ş., Ankara, 89s.
- FİDAN, Y., 1969.** Marmara Bölgesinde Yeşitşirilen Standart Sofralık Üzüm Çeşitlerinden Çavuş, Balbal ve Hamburg Misketi'ne Gibberellin Uygulamasıyla Meydana Gelen Çekirdeksizlik ve Erkencilik Üzerinde Araştırmalar. Tarım Bakanlığı Ziraat İşl. Genel Mdl. Yayınları C-11, Sümer Matbaası, İstanbul, 84 s.
- FİDAN, Y., 1975.** Karagevrek Üzüm Çeşidi İçin Uygun Dölleyicinin (Babalık) Saptanması Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 575, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 48s.
- FİDAN, Y. ve ÇELİK, H., 1980.** İç Anadolu koşullarında Çavuş üzüm çeşidi için uygun dölleyicinin saptanması üzerinde bir araştırma. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yıllığı 29 (1): 40-56.
- FİDAN, Y. ve ERİŞ, A., 1975.** Üzüm çekirdeklerinin dış ve iç yapılarının bazı özellikleri üzerinde bir araştırma. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yıllığı 24 (1-2): 21-37.
- GERRATH, J.M. and POSLUSZNY, U., 1988.** Morphological and anatomical development in the *Vitaceae*. II. Floral development in *Vitis riparia*. *Canadian Journal of Botany* 66: 1334-1351.
- GÖKÇAY, E., 1975.** Bazı Önemli Sofralık Üzüm Çeşitlerinde Çiçeklenmeden önce Gibberellin Uygulamasıyla Olan Çekirdeksizliğin Nedenleri Üzerinde Karşılaştırmalı Bir Araştırma. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Basılmamış Doktora Tezi, 112s.
- İLTER, E., 1968.** Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der Infloreszenzbildung und dem vegetativen Wachstum bei Reben. Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung der Justus Liebig- Universität Giessen, 89s.
- İŞTAR, A., 1969a.** Emperor Üzümü ile Onun Somatik Bir Mutantı Olan Emperor'da Çekirdeksizliğin Sebepleri Üzerinde Mukayeseli Bir Araştırma. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ziraat Araşt. Enst. Araştırma Bülteni No: 40. Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum, 48s.

- İŞTAR, A., 1969b.** Çekirdekli ve Çekirdeksiz Emperor Üzüm Çeşitlerinde Dölllenme Biyolojileri Üzerinde Araştırmalar. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Zirai Araşt. Enst. Araştırma Bülteni No: 41. Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum, 18s.
- JOHANSEN, D.A., 1940.** Plant Microtechnique. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. New York, 523p.
- JOHANSEN, D.A., 1950.** Plant Embryology. Embryogeny of the Spermatophyta. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass., USA, 305p.
- JOHRİ, B.M., 1984.** Embryology of Angiosperms. Springer-Verlag, Berlin, 830p.
- KACHRU, R.B., SING, R.N. and YADAV, I.S., 1972.** Physiological studies on dormancy in grape seeds (*Vitis vinifera* var. Black muscat). *Vitis* 11: 289-295.
- KASHYAP, G., 1958.** Studies in the family *Vitaceae*. III. Floral morphology of *V. latifolia* Roxb., *V. himalayana* Brandis and *V. trifolia* Linn. *J. Ind. Bot. Soc.* 37: 240-248
- KASSEMAYER, H.H. und STAUDT, G., 1981.** Über die Entwicklung des Embryosacks und die Befruchtung der Reben. *Vitis* 20: 202-210.
- KASSEMAYER, H.H. und STAUDT, G., 1982a.** The mitotic cycle of the zygotes nuclei in *Vitis vinifera*. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 95: 449-455 (1982) [*Vitis-viticulture and Enology Abstr.* 23 (3): 2 (1984)]
- KASSEMAYER, H.H. und STAUDT, G., 1982b.** Cytologische Untersuchungen Über die Ursachen des Verrieselnz bei *Vitis*. *Vitis* 21: 121-135.
- KASSEMAYER, H.H. und STAUDT, G., 1983.** Über das Wachstum von Endosperm, Embryo und Samenanlagen von *Vitis vinifera*. *Vitis* 22: 109-119.
- KIYOTOSHI, T., MASAJI, K., RICHARD, P.P., RAJASEKARAN, K and MULLINS, M.G., 1983.** Endogenous Gibberellin-like substances in somatic embryos of grape (*Vitis vinifera* x *Vitis rupestris*) in relation to embryogenesis and the chilling requirement for subsequent development of mature embryos. *Plant Physiology* 73: 803-808.
- LAWRENCE, G.H., 1951.** Taxonomy of Vascular Plants. London, 211p.
- LOMBARDO, G., CARRARO, L., CARGNELLO, G. and BASSI, M., 1976.** Ultrastructure of pollen of *Vitis vinifera* L. cv. "Picolit giallo" and its behaviour in experiments of self and cross-pollination. *Vitis* 15: 73-81.
- LOMBARDO, G., CARGNELLO, G., BASSI, M., GEROLA, F.M. and CARRARO, L., 1978.** Polen ultrastructure in different vine cultivars with low productivity. *Vitis* 17: 221-228.

- LOMBARDO, G., CARRARO, L., CARGNELLO, G. and GEROLA, F.M., 1983. Observations on the natural fall of the calyptra in clones of picolit giallo with high and low productivity. *Vitis* 22: 129-136.
- MAHESHWARI, P., 1950. An Introduction to the Embryology of Angiosperms. Mc Graw-Hill Book Company, Inc. (First edition), 453p.
- MANIEVEL, L. and WEAVER, R.J., 1974. Effect of growth regulators and heat on germination of Tokay grape seeds. *Vitis* 12: 286-290.
- NAIR, N.C. and MANI, K.V., 1960. Organography and floral anatomy of some species of *Vitaceae*. *Phytomorphology* 10: 138-144.
- NAIR, N.C. and PARASURAMAN, V., 1962. Embryological studies of *V. pallida* W & A. *Phyton* 18: 157-164.
- NARASIMHAN, B. and MUKHERJEE, S.K., 1969. Early maturity and seed abortion in tetraploid grapes. *Vitis* 8: 89-93.
- NEGI, S.S. and RANDHAWA, G.S., 1971. A contribution to the embryology of *Vitis vinifera* L. *Ind. J. of Hort.* 22: 176-182.
- NITSCH, J.P., PRATT, C., NITSCH, C. and SHAULIS, N.J., 1960. Natural growth substances in Concord and Concord Seedless grapes in relation to berry development. *Amer. J. of Bot.* 47: 566-576.
- OKAMOTO, G., YAMAMOTO, K. and SHIMAMURA, K., 1984. A study on the difference in the occurrence of seedless berries among the tetraploid grapes related to "Kyoho" variety. *J. of the Jap. Soc. for Hort. Sci.* 53: 251-258 (1984) [*Vitis- Viticulture and Enology Abstr.* 24 (2): 33(1985)]
- OLMO, H.P., 1934. Empty-seededness in varieties of *Vitis vinifera*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 32: 376-385.
- ORAMAN, M.N., 1941. Çavuş Üzümünün Vatanı, Ampelografisi ve Biyolojisi Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek Ziraat Enst. Çalışmalarından Sayı: 114, Ankara, 11s.
- OTTENWAEELTER, M. M., BOUSSION, C., DOAZAN, J. P. and RIVES, M., 1974. A technique for improving the germinability of grape seeds for breeding purposes. *Vitis* 13: 1-3.
- ÖZBEK, S., 1951. Baba çeşitlerin çavuş üzümünün meyve vasıfları üzerine doğrudan doğruya tesiri (Metaxenie). *Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yılığ* 1951: 142-165.
- PEARSON, H., 1932. Parthenocarp and seed abortion in *Vitis vinifera*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 29: 169-175.

- PRATT, C. and EINSET, J., 1961. Sterility due to pre-meiotic ovule abortion in small-clustered and normal Concord grapes. Amer. Soc. for. Hort. Sci. 78: 230-238.
- RAMMING, D.W., EMERSHAD, R.L., SPIEGEL-ROY, P., SAHAR, N. and BARON, I., 1990. Embryo culture of early ripening seeded grape (*Vitis vinifera*) genotypes. Hort Science 25 (3): 339-342.
- SELIM, H.H., IBRAHIM, F.A., FAYEK, M.A., SARI EL-DIENS, S.A. and GAMAI, N.M., 1981. Effect of different treatments on germination of Romi red grape seeds. *Vitis* 20: 115-121.
- SPIEGEL-ROY, P., SAHAR, N., BARON, J. and LAVI, V., 1985. *In vitro* culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds. J. of Amer. Soc. Hort. Sci. 110 (1): 113-117.
- SPIEGEL-ROY, P., SAHAR, N., BARON, J. and LAVI, U., 1986. Ovule and seed culture from early ripening seedless and seeded grape cultivars. VIGNEVINI anno XIII supplemento al n. 12-1986. Atti del IV. Simposio Internazionale di Genetica della Vite-Verona, Italia.
- STAUDT, G., 1986. Flowering, pollination and fertilization in *Vitis*. VIGNEVINI anno XIII supplemento al n. 12-1986. Atti del-IV. Simposio Internazionale di Genetica della Vite-Verona, Italia.
- STOUT, A.B., 1936. Seedlessness in grapes. New York State Agric. Exp. Sta. Tech. Bul. 238.
- SWANEPOEL, J.J. and ARCHER, E., 1988. The ontogeny and development of *Vitis vinifera* L. cv. Chenin-blanc inflorescence in relation to phenological stages. *Vitis* 27: 133-141.
- TSOLOVA, V., 1990. Microsporogenesis of seedless grapevine cultivars. *Genetica i selektsiya Sofiya* 23 (1): 3-8 (1990) [*Vitis-Viticulture and Enology Abstr.* 29 (4): 101 (1990)]
- TUKEY, H.B., 1933. Embryo abortion in early-ripening varieties of *Prunus avium*. Bot. Gaz. 94: 433-468.
- TUKEY, H.B., 1934. Growth of the peach embryo in relation to growth of fruit and season of ripening. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 30: 209-218.
- VALLADE, J., ALABOUVETTE, J. and CHABBERT, A.-M., 1987. Le développement de l'embryon zygotique chez *Vitis vinifera* L. *Vitis* 26: 215-224.
- VALLANIA, R., BOTTA, R., and ME, G., 1987. Investigations on anomalies of ovule development and on pollination in mutated grapevines, cv. Barbera. *Vitis* 26: 1-8.

- VARDAR, Y., 1962.** Botanikte Preparasyon Tekniği. Ege Üniv. Fen Fak. Kitaplar serisi No: 1. Ege Üniv. Matbaası, İzmir, 66s.
- WEIWER, T.E., STOCKING, C.R. and BARBOUR, M.G., 1974.** Botany-An Introduction to Plant Biology. Fifth edition. John Wiley and Sons, Inc. USA, 693p.
- WINKLER, A.J., COOK, J.A., KLIEWER, W.M. and LIDER, L.A., 1974.** General Viticulture. University of California Press. Berkeley, California, 710p.
- YENTÜR, S., 1974.** Bitki Anatomisi. İstanbul Üniv. Fen Fak. Yayınları Dekanlık No: 191. İstanbul Üniv. Fen Fak. Basımevi, İstanbul, 563s.
- ZULUAGA, P.A., ZULUAGA, E.M. and DE LA IGLESIA, F.J., 1968.** Induction of stimulative parthenocarpy in *Vitis vinifera* L. *Vitis* 7: 97-105.

