

SİTOGENETİK

Materyale Uygulanan İlk İşlem

Mitoz kromozomların gözleminde ilk işlem için kullanılan çok çeşitli çözeltiler vardır. Bu çözeltiler, kromozomların yapılarını açıklıkla belirlemeyi amaçlayan araştırmalarda kullanıldığı gibi, kromozom sayımı veya diğer gözlemler için yapılan çalışmalar için de kullanılmaktadır.

Birçok araştırmacı tarafından çok çeşitli araştırma materyalinin ilk işleminde kullanılan yöntem ve çözeltileri burada bildirmek mümkün değildir. Ancak, somatik kromozomların incelenmesinde faydalanılan bu çözeltilerden sadece birkaç tanesinin verilmesi ile yetinilecektir. İlk işlem için yararlanılan çözeltiler:

a-monobromonaftalin (a-monobromonaphthalene), iğ ipliklerinin oluşumunu durdurmakta, kromozomların kısılmasına ve düzelmesine etki etmektedir. Ayrıca, bu şekilde kromozomlar güvenilir bir şekilde sayılabilmekte ve büyüklükleri karşılaştırılmaktadır. Kesilen kök uçları a-monobromonaftalin'in sudaki doymuş çözeltisinde bekletilir (250 cm³ damıtık su içine 4-5 damla a-monobromonaftalin damlatılarak çalkalanır, çözelti beklemeden kullanılabilir,). Buna karşılık, bir kısım araştırmacılar çözeltiyi bir gün böylece bekleterek, ertesi gün kullanmaktadır. Bazı araştırmacılar kök uçlarını 16 saat 4°C'da bekletmeyi önerirken, bazıları da oda sıcaklığında kökleri bu doymuş çözeltide 1 saat bekletmiş, ve yine bazı çalışmalarda kök uçları 18°-20°C da 1-2 saat bekletilmiştir. Kök uçlarının 16 saat, 4°C da bekletilmesi yöntemiyle baklagil yem bitkilerinde iyi sonuç alınmıştır.

Kolkisin (Colchicine) ile Önişlem

Kök uçlarında somatik kromozomların sayımı, büyüklüklerinin ve morfolojilerinin karşılaştırılmasında kolkisinin sudaki çözeltilerini birçok **araştırmacı ilk işlemden başarı ile** kullanmıştır. Kromozomların boyanması sırasında pek çok araştırmada kolkisinin sudaki çözeltisinin çeşitli konsantrasyonları ile kök uçlarına ilk işlem uygulanmıştır. Yaprak hücrelerindeki bölünmelerde kromozomların sayılması için de kolkisin ile materyalin ilk işlemi yapılabilir. Meyer (1943), kesilen yaprak uçlarının % 0.2 kolkisin çözeltisinde, 1-2 saat bekletilmesini önermektedir. Araştırmacı, böylece kolkisinin iğ ipliklerinin oluşmasını önlediğini, kromozomların hücre içinde uygun bir şekilde dağılmasına yardım ettiğini belirtiyor; aynı zamanda, kromatidleri doğrulttuğunu ve konstriksiyonların çok kolay görülebilir duruma geldiğini açıklıyor. Kolkisinin anafazın oluşumunu önleyerek metafaz kromozomlarının bulunduğu hücrelerin sayısını artırdığı da bildirilmektedir.

Erimekte olan buz ile önişlem

Tespit çözültisinden önce soğuk derecelerde bekletilen kök uçlarında kromozomlar büzülür (Contracte) ve yapıları daha iyi bir şekilde görülebilir. Bu amaçla çeşitli yöntemler kullanılabilir.

a) Küçük saksılarda yetiştirilen bitkiler buzdolabında veya soğukluğu ayarlanabilen depolarda iklim dolaplarında 2°C 24-72 bekletilebilir.

b) Çimlendirilmiş tohumlar petri kutusunun içerisindeki suya konularak buzdolabında bir gece ya da daha uzun bekletilerek ilk işlem yapılabilir.

c) Kesilmiş kök uçları yukarıda olduğu gibi, petri kutusu içinde suya konular, buzdolabında belli bir süre bekletilerek ilk işlem uygulanabilir.

Erimekte olan buz ile önişlem

d)Buğdaygiller familyası bitkilerinde olduğu gibi, bitki klonları (çelikleri) bir beherglas içinde köklendirilerek, genç kökleri buzdolabında veya iklim dolabında soğuk ortamlarda bekletmek yöntemi ile ilk işlem yapılabilir.

Hill ve Myers (1945), buğdaygillerde örneğin, domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) köklerinde kromozom sayımında ilk işlem olarak materyali 2°C'da 24 saat bekletmişler; böylece, somatik kromozomlarda büzülme olduğu için kromozom sayısının belirtilmesinde kolaylık sağlandığını, metafaz plaklarında çok kesin olarak kromozomların sayıldığını açıklamışlardır. Warmke (1946), kesilmiş kök uçlarının damıtık su ile doldurulmuş küçük cam kaplarda 0°C'da buzdolabında 1.5 saat bekletilerek ilk işlemin yapılmasından son derece iyi sonuçlar aldığını bildirmektedir.

8-Hidroksikinolin ile Önişlem: 0.002 Molar 8-hidroksikinolin 3-5 saat boyunca 4°C sıcaklıkta uygulanmaktadır. Daha yüksek sıcaklık kromozomların birbirine yapışmasına neden olmaktadır. Bu önişlem türü, kromozomlarda NOR bölgesinin net görülmesini sağlar.

Para Di KloRauppenzen ile Önişlem: Alfa Bromo Naftaline benzer etki gösterir..

Bu çalışmada Alfa Bromo Naftalin yöntemi ile en iyi sonuçlar (2-4 saat) alınmıştır.
