

Türkiye *Betula* (huş ağacı) ve *Corylus* (fındık) polenlerinde yer alan nişasta taneleri

Starch grains in Turkish *Betula* (birch) and *Corylus* (hazel) pollens

Şenol ALAN¹, Özlem YILDIRIM², N. Münevver PINAR²

¹ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zonguldak, Türkiye
Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Zonguldak Karaelmas University, Zonguldak, Turkey

² Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye
Department of Biology, Faculty of Science, Ankara University, Ankara, Turkey

ÖZET

Giriş: Polenler mevsimsel allerjik rinite neden olan en önemli faktörlerden biridir. Polen allerjenleri, polen tanesinin farklı bölgelerinde bulunabilmektedir. Özellikle polen sitoplazmasında yer alan nişastalar üzerinde bulunan allerjenler, meteorolojik faktörlere bağlı olarak, özellikle yağmurlu havalarda polen dışına çıkabilmektedir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada önemli allerjik reaksiyonlara neden olan Türkiye'de yetişen *Betula* ve *Corylus* polenlerinin sitoplazmasındaki nişasta taneleri ışık ve transmisyon elektron mikroskoplarında incelenmiştir.

Bulgular ve Sonuç: *Betula* ve *Corylus* poleninde Bet v 1 allerjenlerini taşıyan nişasta taneleri saptanmıştır. Aynı zamanda transmisyon elektron mikroskopunda çekilmiş mikrofotografılarda nişasta tanelerinin yanı sıra, ekzin ve intin tabakaları da gözlemlenmiştir.

(*Asthma Allergy Immunol* 2010;8:108-111)

Anahtar kelimeler: *Betula*, *Corylus*, polen, nişasta taneleri, allerjen, transmisyon elektron mikroskopu (TEM), ışık mikroskopu (LM)

ABSTRACT

Objective: Pollens are one of the most effective factor that cause seasonal allergic rhinitis. Pollen allergens may localize different parts of pollen. Allergens are especially bind with starch, which localized at cytoplasm can come out of pollen depending on meteorological factors mainly in rainy weather.

Materials and Methods: In this study, *Betula* and *Corylus* pollens that cause allergic reactions were collected from Turkey, have been studied at light and transmission electron microscopy.

Results and Conclusion: Starch grains that carrying Bet v 1 allergens were detected in *Betula* and *Corylus* pollen. Shape of grains was prolate-ellipsoidal and 0.5-2 µm in size. Also exine and intine layer of pollen and starch granules were observed in transmission electron microscopy.

(*Asthma Allergy Immunol* 2010;8:108-111)

Key words: *Betula*, *Corylus*, pollen, starch granules, allergen, transmission electron microscopy (TEM), light microscopy (LM)

Geliş Tarihi: 25/01/2010 • Kabul Ediliş Tarihi: 22/04/2010

Received: 25/01/2010 • Accepted: 22/04/2010

GİRİŞ

Polen ya da çiçek tozu, tohumlu bitkiler tarafından üretilen ve içerisinde erkek gameti barındıran yapıdır. Anterlerde olgunlaşan polenler bitki türüne bağlı olarak hava, böcek ya da su gibi bir taşıyıcı ile diğer bir bitkinin dişi organının tepesiğine kadar taşınır. Bu olaya polinizasyon adı verilmektedir. Polinizasyonda kullanılmak üzere bütün polenler nişasta veya lipid depolar. Hatta polenler nişastalılar veya nişastasızlar olmak üzere ikiye ayrılır^[1]. Genel olarak rüzgarla tozlaşan bitkiler nişastalılar polenlere, böceklerle tozlaşanlar ise nişastasız polenlere sahiptir^[1,2]. Özellikle rüzgarla tozlaşan yani nişastalı polenler allerjik reaksiyonlara neden olmaktadır^[3,4]. Nişasta taneleri, nemli ve yağışlı havalarda da atmosferde asılı bulunan polenlerin dışına çıkmaktadır. Yaklaşık olarak 1-2 µ büyüklüğünde olan bu taneler, polen tanelerinin aksine solunum yollarının iç kısımlarına kadar giderek allerjik reaksiyonlara neden olmaktadır^[5,6]. El-Ghazaly ve arkadaşları (1996), *Betula pendula*'da allerjenlerin büyük çoğunluğunun nişasta tanelerinde, bir kısmının da ekzin ve intinde yer aldığını saptamışlardır^[7].

Genel olarak yağış ile atmosferdeki polen ve mantar sporlarının miktarı azaldığından dış ortam allerjenlerine bağlı allerjik semptomlarda azalma beklenmektedir^[8,9]. Buna karşın yapılan çalışmalarda, özellikle atmosferdeki nemin ani yükseldiği bahar aylarında allerjik reaksiyonların arttığı gösterilmiştir^[10]. Bunun nedeni; yağmurlu havalarda polenlerden çıkan nişastaların taşıdığı allerjenlerdir. Atmosferdeki nişasta tanelerini belirlemeye ve sayımına yönelik çok fazla cihaz ve çalışma yoktur. Ayrıca, nişasta tanelerinin elektron ve ışık mikroskoplarında gösteriminde de bazı zorluklar bulunmaktadır^[11]. Bu zorluklar, yukarıda belirtildiği gibi nişasta tanelerinin sulu ortamlarda polen dışına hareket etme eğilimlerinden kaynaklanmaktadır. Benzer bir durum polende yer alan diğer allerjen proteinlerin belirlenmesinde de ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle polenlerin mikroskobik incelemeleri için sulu çözeltilerden uzak durulması ya da nişasta tanelerinin hareket etmesini engellemek

için tespit çözeltileri kullanılmaktadır^[11]. Bütün bu verilerin ışığında yapmış olduğumuz çalışmamızda amacımız, farklı ortamlarda hazırlanan rüzgarla tozlaşan Türkiye *Corylus* ve *Betula* polen örneklerindeki astımı tetiklediği ifade edilen nişasta tanelerinin görülmesini kolaylaştıracak en uygun ortamın ışık ve transmisyon elektron mikroskoplarında belirlenmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada kullanılan *Betula* ve *Corylus* cinsine ait polen materyalleri, doğal yayılım gösterdikleri bölgelerden toplanmış ve kurutularak kullanılacakları zamana kadar -35°C'de saklanmışlardır. Polenler ışık mikroskobu çalışmalarında kullanılmak üzere, %1 sükröz (w/v), %0.1 agar (w/v) ve lugol içeren çimlenme ortamına ekilmiş ve üç saat inkübe edilmiştir^[12]. Ayrıca, polenlerin bir kısmı içerisindeki nişasta tanelerinin dışarı çıkmasını engellemek için önceden %85 etanol, %5 asetik asit ve %10 formalin karışımında tespit edilmiştir. Boyanan ve boyanmayan polenler DM1000 ışık mikroskobuyla görüntülenmiştir (Resim 1).

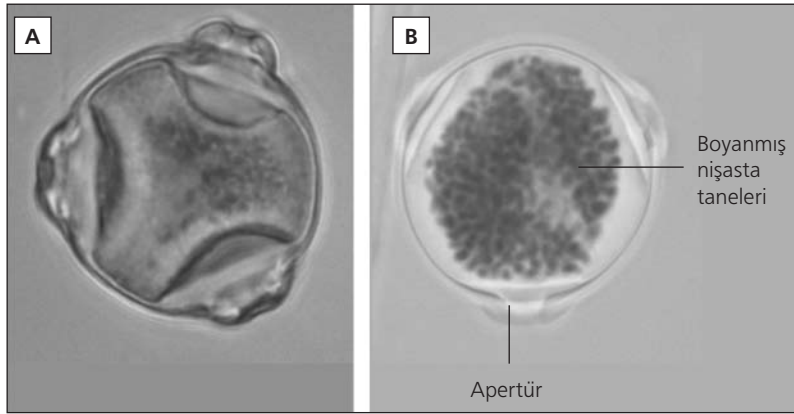
Elektron mikroskobu incelemeleri için polenler, %2'lik agar içerisine gömülmüştür. Osmium tetraoksitle ve uranil asetatla boyanan örnekler, epon rezin içerisine gömülerek bloklanmıştır. Bu bloklardan ultramikrotomla alınan ince kesitler, JEM-100CXII marka transmisyon elektron mikroskobunda incelenmiş ve mikrofotografı çekilmiştir (Resim 2).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Knox ve arkadaşları (1970), polen allerjenlerinin ekzin ve intinde yer aldığını söylemişlerdir^[13]. Belin ve Rowley (1971) ise *Betula* polenlerinde protoplazma da yer aldığını ve çimlenme sırasında apertürlere hareket ettiğinden bahsetmişlerdir. Staff ve arkadaşları (1990), Taylor ve arkadaşları (1994) ile Knox ve Suphi-oğlu (1996), grass polenlerinde allerjenlerin, nişasta ve sitosolde bulunduğunu gözlemlemişlerdir^[14,15]. El-Ghazaly (1996), Bet v 1 allerjeninin büyük bölümünün nişasta tanelerinde, az kısmının ise ekzin ve intin tabakalarında



Resim 1. *Betula* (A) ve *Corylus* (B-C) polenlerinde yer alan nişasta tanelerinin (N) ve polen duvar yapılarının (ekzin, intin) transmisyon elektron mikroskobunda görüntüsü.



Resim 2. (A) Tespit edilmeyen polendeki nişasta taneleri, (B) tespit edilmiş polen tanesindeki nişasta taneleri.

bulduğunu saptamışlardır^[7]. Araştırmamızda, rüzgarla tozlaşan ve ülkemizde de önemli allerjik reaksiyonlara neden olan *Betula* ve *Corylus* polenlerinde de çok sayıda nişasta tanelerine rastlanmıştır (Resim 1,2). *Betula* ve *Corylus* polenlerinde 60-100 adet, prolat-elipsoid şeklinde ve 0.5-2 µm çapında Bet v 1 allerjenlerini taşıyan nişasta taneleri saptanmıştır (Resim 1). Aynı zamanda transmisyon elektron mikroskobunda çekilmiş mikrofotografılarda nişasta tanelerinin yanı sıra, allerjenlerin bulunduğu ekzin ve intin tabakaları da ayrıntılı olarak gözlemlenmiştir.

Işık mikroskobunda sulu tespit yöntemi kullanılmasına rağmen, polenler agar içerisine gömülerek nişasta tanelerinin hareketleri sınırlan-

dırılmış ve nişasta taneleri görüntülenmiştir (Resim 2). Aynı zamanda tespit işlemi uygulanmayan polenlerin, besiyerindeki nem nedeniyle lugol içeren besiyerinde nişasta tanelerinin büyük bir kısmını kaybettiği görülmektedir. Buna karşın tespit işlemi uygulanan polenlerde yoğun bir şekilde nişasta taneleri belirlenmiştir (Resim 2).

Ülkemizde 1989 yılından beri sürdürülen atmosferik çalışmalarda, polen ve sporlarla beraber diğer birçok partikül belirlenmiş ve birçoğunun sayımları yapılmıştır^[4,8,16,17]. Buna karşın yapılan çalışmalarda, nişasta tanelerinin sayımı hakkında bir veri bulunmamaktadır. Yapılan araştırmalar, polenlerin astım ataklarını tetikleyemeyecek kadar büyük olduğunu ve 5 µm'den

daha küçük mikronik partiküllerin bu ataklardan sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır^[5]. Bununla birlikte sulu ortamlarda polenlerin parçalanarak allerjen yüklü nişasta granüllerini ortama bıraktığı gösterilmiştir^[11]. Ayrıca, bu partiküllerin çaplarının küçüklüğü ve yapılarında allerjen protein taşıyabilme özellikleri astımı tetikleyebilecek yetenekte olduklarını göstermiştir^[5]. Bu nedenle atmosferik nişasta tanelerinin doğrudan ya da üzerlerinde taşıdıkları allerjen proteinler ile belirlenmesi astım hastalarının önceden uyarılabilmesine ve krizlerin önlenmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, polen sayımları ile hasta skorları arasındaki bağlantının araştırıldığı çalışmalarda, polen sayımlarının yapıldığı lam ya da teyplerin aynı zamanda nişasta sayımları için lugol ile boyanması da allerjen özellikleri hakkında daha geniş bilgi edinmemize katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Baker HG, Baker I. Starch in angiosperms pollen grains and its evolutionary significance. *Am J Bot* 1979;66:591-600.
2. Behrendt H, Becker WM. Localization, release and bioavailability of pollen allergens: the influence of environmental factors. *Curr Opin Immunol* 2001;13: 709-15.
3. Wang YQ, Zhang DX, Chen ZY. Pollen histochemistry and pollen: ovule ratios in zingiberaceae. *Annals of Botany* 2004;94:583-91.
4. Sin BA, Pınar MN, Mısırlıgil Z, Çeter T, Yıldız A, Alan Ş. Polen Allerjisi: Türkiye Allerjik Bitkilerine Genel Bir Bakış. Ankara: Engin Yayınevi, 2007.
5. Suphioglu C. Thunderstorm asthma due to grass pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;116:253-60.
6. Schappi GF, Taylor PE, Staff IA, Rolland JM, Suphioglu C. Immunologic significance of respirable atmospheric starch granules containing major birch allergen Bet v 1. *Allergy* 1999;54:478-83.
7. El-Ghazaly G, Nakamura S, Takahashi Y, Cresti M, Walles B, Milanesi C. Localization of the major allergen Bet v 1 in Betula pollen using monoclonal antibody labelling. *Grana* 1996;35:369-74.
8. İnceoğlu Ö, Pınar NM, Şaykıyan N, Sorkun K. Airborne pollen concentration in Ankara, Turkey 1990-1993. *Grana* 1994;33:158-61.
9. Mc Donald MS. Correlation of air borne grass pollen levels with meteorological data. *Grana* 1980;19:53-6.
10. Packe GE, Ayres JG. Asthma outbreak during a thunderstorm. *Lancet* 1985;2:199-203.
11. Grote M, Dolecek C, Ree RV, Valenta R. Immunogold electron microscopic localization of timothy grass (*Phleum pratense*) pollen major allergens Phl p I and Phl p V after anhydrous fixation in acrolein vapor. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1994;42:427-31.
12. Iwanami Y, Sasakuma T, Yamada Y. Pollen: Illustrations and Scanning Electromicrographs. Tokyo: Kodansha, 1987.
13. Knox RB, Heslop-Harrison J, Reed C. Localization of antigens associated with the pollen wall by immunofluorescence. *Nature* 1970;225:1066.
14. Staff IA, Taylor PE, Smith P, Singh MB, Knox RB. Cellular localization of water soluble allergenic proteins in rye-grass (*Lolium perene*) pollen using monoclonal and specific IgE antibodies with immunogold probes. *Histochemical Journal* 1990;22:276-90.
15. Knox B, Suphioglu C. Environmental and molecular biology of pollen allergens. *Elsevier Trends Journals* 1996;1:156-64.
16. Çeter T, Pınar NM, Alan Ş, Yıldırım Ö. Polen ve sporların haricinde atmosferde bulunan allerjen biyolojik partiküller. *Asthma Allergy Immunol* 2008;6:5-10.
17. Bıçakçı A, Aştunoğlu MK, Bilişik A, Çelenk S, Canitez Y, Malyer H ve ark. Türkiye'nin atmosferik polenleri. *Asthma Allergy Immunol* 2009;7:11-7.